

# Regulation und Diagnostik von Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst

Christine Aurich<sup>1</sup>, Tanja Gerlach<sup>3</sup> und J. E. Aurich<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Tierzucht und Genetik, <sup>2</sup>Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie, Veterinärmedizinische Universität, A-Wien

<sup>3</sup>Institut für Tierzucht und Tierverhalten (FAL), D-Neustadt-Mariensee

## Zusammenfassung

Die Steuerung der Fortpflanzungsfunktionen erfolgt über ein komplexes Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden sowie intragonadaler Regulationsmechanismen. Reproduktionsrelevante Hormone beim Hengst sind Gonadotropin Releasing Hormon aus dem Hypothalamus, Luteinisierendes Hormon, Follikelstimulierendes Hormon und Prolaktin aus dem Hypophysenvorderlappen, die Steroidhormone Testosteron und Östrogene sowie das gonadale Proteohormon Inhibin. Zahlreiche endogene und exogene Faktoren wie Jahreszeit, Alter, Reproduktionsaktivität, Sozialverhalten und Stresssituationen können die Funktion der Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse beeinflussen und so die Freisetzung der verschiedenen Hormone verändern. Nichtinfektiöse Fertilitätsstörungen, die sich in einer Imbalanz der endokrinen Regulationsmechanismen äußern, gehen nach neuesten Erkenntnissen vor allem von Defekten in den Hoden aus. Die Funktion der endokrinen Regulation der Fortpflanzung kann durch Stimulationstests mit GnRH- oder LH-Analoga überprüft werden.

**Schlüsselwörter:** Hengst, Fortpflanzung, Hodenfunktion, Stimulationstest

## Endocrine regulation and evaluation of reproductive function in the stallion

Reproductive function is regulated by hypothalamic, pituitary and gonadal mechanisms. In the stallion, gonadotrophin releasing hormone from the hypothalamus, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and prolactin of pituitary origin as well as gonadal steroids (testosterone, oestrogens) and inhibin are hormones of relevance for reproduction. Endogenous and exogenous factors as season, age, reproductive activity of the animal, social status and stressful situations may modulate reproductive function and hormone release. In the stallion, sub- and infertility of non-infectious origin are most likely caused by a primary defect at the level of the testes. Endocrine regulation of reproductive function can be evaluated by stimulation tests with GnRH or LH analogs.

**keywords:** stallion, reproduction, testicular function, stimulation test

## Einleitung

Fertilitätsstörungen von Hengsten tragen zu den vergleichsweise niedrigen Konzeptionsraten bei, die in der Pferdezucht erreicht werden. Seit die Besamung in der Pferdezucht eine relativ weite Verbreitung erfahren hat, fallen sub- und infertile Hengste bereits häufig durch eine mangelhafte Spermaqualität auf, bevor niedrige Befruchtungsraten bei den belegten Stuten manifest werden. Die Ursachen, die der mangelnden Spermaqualität eines Hengstes zugrunde liegen, können vielfältiger Natur sein. Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, daß nichtinfektiöse Fertilitätsstörungen von Hengsten zu Dysfunktionen der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse führen, deren Primärdefekt vermutlich in den Hoden selbst liegt (Roser 1995a).

## Endokrine Steuerung der Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst

Die Steuerung der Fortpflanzungsfunktionen erfolgt über endokrine Regelkreise. Der im zentralen Nervensystem

gelegene Hypothalamus setzt Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) frei, das die Sekretion von Luteinisierendem Hormon (LH) und Follikelstimulierendem Hormon (FSH) aus dem Hypophysenvorderlappen bewirkt. Die Sekretion dieser Hormone erfolgt pulsatil. Etwa alle 30 bis 120 Minuten wird ein GnRH-Puls freigesetzt, dem fast immer ein LH- und FSH-Puls folgt (Irvine und Alexander 1988). LH stimuliert in den Leydigzellen des Hodens die Synthese von Steroidhormonen (Eisenhauer et al. 1994; Eisenhauer und Roser 1995), FSH reguliert die Funktion der Sertolizellen, die für die Bildung und Reifung der Spermien in den Hodentubuli verantwortlich sind (Niklowitz et al. 1989; Weinbauer und Nieschlag 1990). Außerdem wird vom Hypophysenvorderlappen das Hormon Prolaktin sezerniert, für das bei verschiedenen Tierarten bereits eine Bedeutung für die Hodenfunktion nachgewiesen werden konnte (Eisenhauer und Roser 1995).

Die bekanntesten von den Hoden produzierten und in den Blutkreislauf sezernierten Hormone sind die Andro-

gene, vor allem Testosteron. Beim Hengst werden von den Leydigzellen darüberhinaus auch Östrogene in hohen Konzentrationen produziert (Zondek 1934; Raeside 1969). Androgene und Östrogene zusammen haben beim Hengst sowohl intratestikulär als auch in zahlreichen anderen Organsystemen vielfältige Wirkungen. Die im Hoden erreichten und benötigten Konzentrationen sind dabei um ein vielfaches höher als die Konzentrationen im Blutplasma (Amann und Ganjam 1981; Berndtson et al. 1983; Johnson und Thompson 1987). Beim männlichen Individuum sind Spermatogenese und die Reifung der Spermien im Nebenhoden von der Anwesenheit testikulärer Steroidhormone abhängig (Weinbauer und Nieschlag 1990). In der Pubertät stimulieren Androgene die Ausbildung der männlichen Geschlechtsorgane, deren Funktion und Morphologie beim adulten Tier durch den Einfluß der männlichen Geschlechtshormone erhalten wird. Darüberhinaus sind Androgene und zu einem gewissen Grade auch Östrogene beim Hengst für die Ausprägung von Fortpflanzungsverhalten und Libido verantwortlich. Dabei ist für das Vorhandensein der Libido sexualis zwar eine ausreichende Androgenproduktion notwendig, es bestehen aber keine direkten Zusammenhänge zwischen der Ausprägung des Fortpflanzungstriebes und der Androgenkonzentration im Blutkreislauf (Berndtson und Jones 1989; Naden et al. 1990; Lerchl et al. 1993).

Die testikulären Steroidhormone beeinflussen ihre eigene Synthese, indem hohe Androgenkonzentrationen im Blut die GnRH-Freisetzung aus dem Hypothalamus hemmen und so zu einer Abnahme der hypophysären LH- und FSH-Freisetzung führen (negative Rückkoppelung). Dieser Regelkreis verhindert eine übermäßige Stimulation der Hoden (Thompson et al. 1979; Aurich et al. 1994).

Leydigzellen und Sertolizellen produzieren Faktoren, die eine Kommunikation zwischen den Zellen des Hodens ermöglichen und so für die Steuerung der Hodenfunktion von großer Bedeutung sind (Skinner 1991). Solche für die Kommunikation zwischen den Zellen eines Organs verantwortliche Substanzen werden als parakrine und autokrine Faktoren bezeichnet. Einige dieser Botenstoffe, wie z.B. das von den Sertolizellen produzierte Inhibin gelangen als Hormone auch in den Blutkreislauf. Inhibin kann an der Hypophyse selektiv die Freisetzung von FSH hemmen (DeJong 1988) und hat so eine wichtige Rolle bei der Regulation der Sertolizellfunktion und Spermatogenese. Hohe FSH-Konzentrationen im Blut führen zu einer Stimulation der Inhibin-Synthese. Inhibin verhindert damit wie Testosteron über den Mechanismus der negativen Rückkoppelung eine überschießende Hodenfunktion.

Verschiedene Gehirnzentren modulieren die Freisetzung von GnRH aus dem Hypothalamus und damit die Regulation der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. Innere und äußere Faktoren wie z. B. Tageslichtlänge,

Klima, Nahrungsangebot oder Streß können die Aktivität dieser Gehirnzentren verändern und so auch indirekt die Regulation der Fortpflanzung beeinflussen. Das erklärt, weshalb so viele äußere Einflüsse eine Bedeutung für die Reproduktion haben (Clay und Clay 1992; DeKloet und Voorhuis 1992). Im Folgenden soll der Bedeutung verschiedener Faktoren für die Steuerung der Fortpflanzung beim Hengst nachgegangen werden.

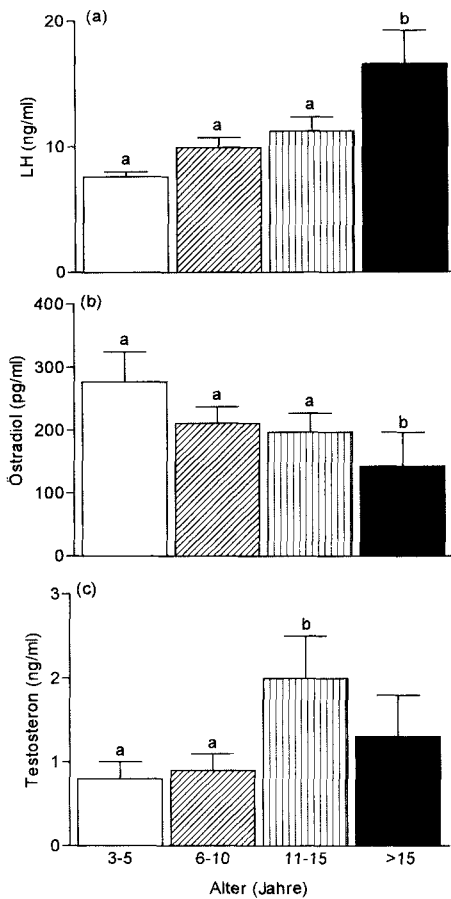
### **Beeinflussung der Fortpflanzungsfunktion des Hengstes durch verschiedene endogene und exogene Faktoren**

Pferde gehören zu den Tierarten mit einem saisonalen Fortpflanzungsverhalten, wobei eine zunehmende Tageslichtlänge sich stimulierend auf die Fortpflanzungsfunktionen auswirkt und die natürliche Paarungssaison im Frühjahr und Sommer stattfindet. Die Ausprägung der saisonalen Fortpflanzungsaktivität ist bei Stuten deutlicher als bei Hengsten. Während ein nicht unbeträchtlicher Teil der Stuten im Winter eine anovulatorische Phase zeigt und damit über mehrere Wochen infertil ist, bleibt bei Hengsten die Spermienproduktion auch außerhalb der Zuchtsaison erhalten und sie sind das ganze Jahr über fruchtbar. In den Herbst- und Wintermonaten ist bei Hengsten aber eine deutlich verminderte Sekretion der fortpflanzungsrelevanten Hormone LH, Prolaktin, Testosteron und Östradiol und der Gonadenaktivität festzustellen (Berndtson et al. 1974; Johnson und Thompson 1983; Clay et al. 1991; Aurich et al. 1994, 1995a). Auch in einigen Ejakulatparametern liegen beim Pferd deutliche jahreszeitliche Veränderungen vor, so daß zum Beispiel in der Zuchtsaison häufig ein höheres Ejakulatvolumen bei geringerer Spermiedichte zu finden ist (Pickett 1993).

Bezüglich der Ausprägung der saisonalen Fortpflanzungsaktivität sind bei Stuten Rassenunterschiede festzustellen. So sind Stuten der weniger domestizierten Ponyrassen im Winter zu fast 100% anovulatorisch, während bei Warmblutstuten ein gewisser Anteil der Stuten auch im Winter fertile Zyklen zeigt (Ginther 1992). Bei Hengsten sind ähnliche Unterschiede zu erwarten, sind bisher jedoch nicht umfassend untersucht worden.

Die fortpflanzungsrelevanten Hormone beim Hengst zeigen eine deutliche Beeinflussung durch das Lebensalter. Die Pubertät beim Hengst wird mit Abhängigkeit von der Rasse im Alter von 12 bis 24 Monaten erreicht, die Größe der Hoden und ihre Kapazität bezüglich der täglichen Produktion von Spermien nehmen aber bis zum Alter von etwa 5 Jahren beständig zu (Johnson und Thompson 1983; Johnson et al. 1991). In Untersuchungen der eigenen Arbeitsgruppe konnte in einer Gruppe von insgesamt 28 Hengsten mit zunehmendem Alter eine signifikante Zunahme der LH- und Abnahme der

Östradiolfreisetzung beobachtet werden (Abbildung 1; Aurich et al. 1997). Bezüglich der Testosteronkonzentration

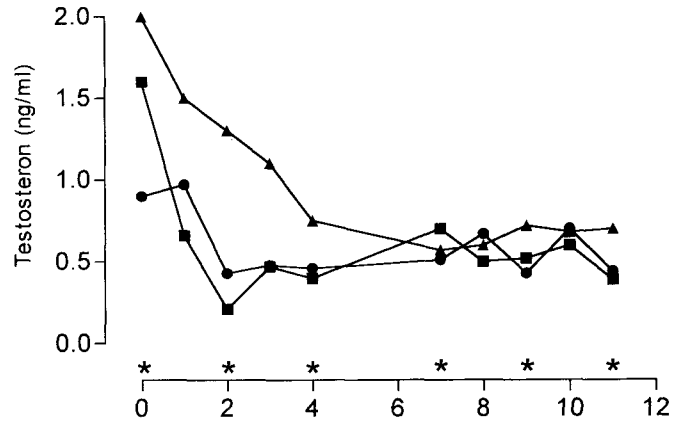


**Abb. 1:** Konzentrationen von (a) LH (ng/ml), (b) Östradiol (pg/ml) und (c) Testosteron (ng/ml) im Plasma von Warmbluthengsten der Altersgruppen 3 bis 5 Jahre (n=5), 6 bis 10 Jahre (n=9), 11 bis 15 Jahre (n=10) und älter als 15 Jahre (n=4) im Mai. Zwischen den Altersgruppen mit unterschiedlichen Indizes bestehen signifikante Unterschiede ( $P < 0,05$ ) für das jeweilige Hormon (nach Aurich et al. 1997)

Concentration of (a) LH (ng/ml), (b) estradiol (pg/ml) and (c) testosterone (ng/ml) in plasma of warmblood stallions aged 3 to 5 years (n=5), 6 to 10 years (n=9), 11 to 15 years (n=10) or more than 15 years (n=4) in May. Different indices indicate significant differences between groups ( $P < 0.05$ ) for the respective hormone (Aurich et al. 1997)

waren nicht so deutliche Gesetzmäßigkeiten abzuleiten, was aber dadurch zu begründen ist, daß die Plasmatestosteronkonzentration neben dem Alter noch durch zahlreiche andere Faktoren moduliert wird. Die sexuelle Aktivität eines Hengstes beeinflusst die Konzentration reproduktionsrelevanter Hormone im Blutplasma. So lagen bei Hengsten, von denen während einer Zuchtsaison drei- bis sechsmal wöchentlich Ejakulate gewonnen wurden, die Konzentrationen von LH, Testosteron und teilweise auch Östradiol signifikant niedriger

als bei nicht zuchtaktiven Hengsten, die unter identischen Bedingungen gehalten wurden. Die nicht zuchtaktiven Hengste wurden während dieser Zuchtsaison aus züchterischen Gründen nicht zur Zucht eingesetzt, hatten aber in vorhergehenden Jahren gedeckt und gute Trächtigkeitsraten erreicht. Trotz der niedrigen LH-, Testosteron-, und Östradiolkonzentrationen lagen die spermatologischen Parameter und die Befruchtungsraten der zuchtaktiven Hengste im Normbereich. Einen



**Abb. 2:** Konzentration von Testosteron im Blutplasma von 3 Schleswiger Kaltbluthengsten (Alter: ▲: 12 Jahre, ■: 5 Jahre, ●: 4 Jahre) bei wiederholter regelmäßiger Samenentnahme (\*: Samenentnahme). Vor Tag 0 hatten die Tiere eine Deckruhe von mindestens 2 Wochen (Aurich et al., zur Veröffentlichung eingereicht).

Concentration of testosterone in plasma of 3 draught horse stallions (Schleswig draught horse breed, ▲: 12, ■: 5, and ●: 4 years of age) during a period of regular semen collection (\*: days with semen collection). Stallions had not been used for semen collection for a time period of at least 3 weeks before the experiment started on day 0 (Aurich et al., submitted for publication).

deutlichen Abfall der Testosteronkonzentration konnten wir auch bei Hengsten beobachten, die nach einer längeren Deckruhe einer regelmäßigen Samenentnahme unterzogen wurden (Abbildung 2; Aurich et al. 1997; Aurich et al., zur Veröffentlichung eingereicht). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen deuten darauf hin, daß die sexuelle Aktivität von Hengsten die Hodenfunktion moduliert und zu einer verminderten Testosteronsekretion führt. Über welche Mechanismen die Leydigzellfunktion durch sexuelle Aktivität beeinflusst wird, bedarf weiterer Untersuchungen.

Im Gegensatz zur sexuellen Aktivität, die eine hemmende Wirkung auf die Testosteronfreisetzung zeigt, scheint die Gegenwart von Stuten und ein dadurch angeregtes spezifisches Sozialverhalten die Testosteronsekretion beim Hengst zu stimulieren. So konnten bei Hengsten, die als sogenannte Haremshengste neben (aber nicht in) einer Herde aus freilaufenden Stuten und Fohlen gehalten wurden, das ganze Jahr über signifikant höhere

Testosteronkonzentrationen im Plasma gefunden werden als bei Tieren, die sich innerhalb einer größeren Hengstgruppe befanden und keinerlei Sozialkontakt zu Stuten hatten. Die Probanden beider Gruppen hatten in dieser Studie keine Möglichkeit, Stuten zu decken (*McDonnell und Murray 1995*), so daß kein gleichzeitiger Einfluß der sexuellen Aktivität der Hengste auf die Testosteronfreisetzung vorlag. Ähnliche Verhältnisse könnten auch bei Hengsten vorliegen, die gemeinsam in einem Stall ohne visuelle und olfaktorische Kontaktmöglichkeit zu Stuten gehalten werden. Es wird vermutet, daß die heute allgemein übliche Art, eine Gruppe von Hengsten in einem Stall ohne Kontaktmöglichkeit zu Stuten zu halten, nicht nur die Testosteronfreisetzung, sondern darüberhinaus auch die Fertilität und das Geschlechterverhalten der Tiere negativ beeinflussen könnte (*McDonnell und Murray 1995*).

Die Faktoren, die bei den Haremshengsten zu einer höheren Testosteronfreisetzung als bei den in einer Gruppe gehaltenen Hengsten führen, sind unbekannt. Insgesamt zeigen die Haremshengste in ihrem Verhalten deutliche Unterschiede zu den in einer Gruppe von männlichen Individuen gehaltenen Hengsten. So war das Verhalten der Haremshengste wesentlich unruhiger und durch ständiges Kontrollieren des Zauns zu der benachbarten Stutenherde sowie einen wesentlich geringeren Zeitaufwand für die Futtermittelaufnahme gekennzeichnet als bei den in einer Gruppe gehaltenen Hengsten (*McDonnell und Murray 1995*). Allein die vermehrte Unruhe könnte bei den Haremshengsten zu einer vermehrten Testosteronfreisetzung führen. Ähnliche Veränderungen der Testosteronfreisetzung konnten wir bei Zuchthengsten beobachten, die neben einem Zuchteinsatz sporadisch im Turniersport vorgestellt wurden. Diese Tiere wurden etwa alle 3 bis 4 Wochen auf Turnieren eingesetzt. Neben einer körperlichen Leistung bedeutet ein Turniereinsatz für einen Hengst große Veränderungen im sozialen Umfeld durch Transport, zeitweise Einstellung in einen fremden Stall und Kontakt zu zahlreichen anderen Pferden auf dem Turnier. Als Vergleichsgruppen dienten zum einen Zuchthengste, die überhaupt nicht auf Turnieren vorgestellt wurden, andererseits eine Gruppe von in der Zucht aktiven Hengsten, die regelmäßig jedes Wochenende zum Turnier fahren und sich an diese Vorgänge daher wesentlich besser adaptieren konnten. Die beiden Vergleichsgruppen zeigten während der 6monatigen Versuchsphase eine signifikant niedrigere Freisetzung von Testosteron als die unregelmäßig auf Turnieren eingesetzten Hengste. Die gleichzeitige Erhöhung der Konzentration des Stresshormons Cortisol im Blut deutet an, daß der unregelmäßige Einsatz auf Leistungsschauen als eine Stresssituation empfunden wird und impliziert eine dadurch bedingte vermehrte Testosteronfreisetzung. Die Östradiol- und LH-Konzentration wurde durch den unterschiedlichen Turniereinsatz der Pferde nicht beeinflusst (*Lange et al. 1997*).

Die beschriebenen Studien zeigen, daß alle reproduktionsrelevanten Hormone, aber insbesondere Testosteron beim Hengst in ihren Konzentrationen sehr starken Schwankungen unterliegen. Der Normalbereich für die Testosteronkonzentration beim Hengst ist dadurch nur sehr schwer einzugrenzen (*Berndtson et al. 1974*), während die Östradiolkonzentration in wesentlich engeren Grenzen reguliert wird und nach neuesten Erkenntnissen als ein besserer Parameter zur Beurteilung der Fertilität beim Hengst angesehen werden muß (*Roser 1995a*). Insgesamt ist die Evaluierung des Fertilitätsstatus von Hengsten aus einzelnen Blutproben nur sehr vorsichtig möglich und sollte generell durch die Durchführung von Stimulationstests unterstützt werden.

### **Veränderungen der endokrinen Regulation der Fortpflanzungsfunktionen bei Hengsten mit Fertilitätsstörungen**

Bei Hengsten mit endokrin bedingten Fertilitätsstörungen treten häufig Mängel in der Spermatogenese auf, bevor sich hormonelle Störungen wie ein Anstieg der FSH-Freisetzung sowie abfallende Konzentrationen von Östrogenen und Inhibin im Blutplasma bemerkbar machen. Ein deutlicher Anstieg der LH- und Abfall der Testosteronsekretion stellt sich in der Regel erst ein, wenn auch Hodengröße und Spermienproduktion stark zurückgehen (*Roser 1995a*). Ein therapeutischer Einsatz von GnRH und Gonadotropinen wie LH und FSH führt zu keinen deutlichen Verbesserungen des Zustandes (*Evans und Finley 1990; Blue et al. 1991; Roser und Hughes 1994*). Das ist dadurch zu erklären, daß bei sub- und infertilen Hengsten die Ansprechbarkeit der Hoden für LH und seine Analoga vermindert ist (*Roser und Hughes 1992; Roser 1995b*). In den Hoden solcher Tiere konnte jedoch weder eine geringere Zahl der Rezeptoren für LH noch eine verminderte Bindungsfähigkeit dieser Rezeptoren nachgewiesen werden (*Motton und Roser 1995*). Es wird daher angenommen, daß nicht ein Defekt der Rezeptoren, sondern der nachgeordneten parakrinen und autokrinen Faktoren, die die Steroidbiosynthese und Spermatogenese regulieren, vorliegt (*Roser 1995a; Stewart und Roser 1995*). Hier hofft man, solche Veränderungen durch diagnostische Maßnahmen wie die Entnahme von Hodenbiopsien, an denen mit modernen molekularbiologischen Techniken die Funktion der Leydig- und Sertolizellen untersucht werden soll, in Zukunft frühzeitig erkennen und therapieren zu können.

### **Diagnostische Evaluierung der Fortpflanzungsfunktionen beim Hengst: Durchführung von Stimulationstests**

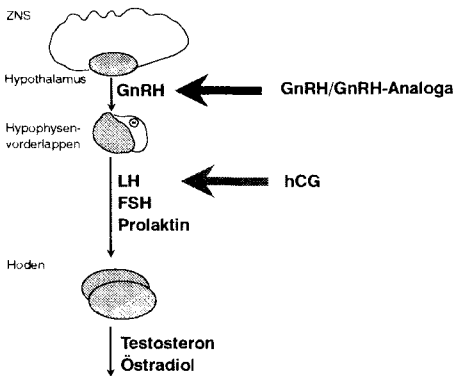
Durch die Durchführung von Stimulationstests mit GnRH- und LH-Analoga kann die Funktionsfähigkeit der

Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse überprüft werden. Dabei wird durch Applikation von GnRH und seinen Analoga (z.B. Gonavet®, Veyx Pharma; Receptal®, Hoechst) die Ansprechbarkeit des Hypophysenvorderlappens überprüft. Bei vorhandener Funktionsfähigkeit der Hypophyse reagiert diese mit der Freisetzung von LH und FSH. Für eine diagnostische Überprüfung ist es jedoch ausreichend, die Freisetzung von LH zu bestimmen. Reagiert die Hypophyse auf die GnRH-Applikation mit einer vermehrten Sekretion von LH, bedingt diese eine vermehrte Synthese und Sekretion von Androgenen und Östrogenen in den Hoden, so daß deren

zung, die der Injektion des Medikamentes folgt, zu beurteilen. Die Blutprobenentnahme sollte nach Applikation von GnRH für etwa 3 Stunden in 15- oder 30minütigen Intervallen fortgesetzt werden. Danach wird die Verweilkanüle entfernt. Eine weitere Probe sollte 24 Stunden nach Applikation von GnRH durch Punktion der Vene entnommen werden.

Bezüglich der Dosierung der für einen Stimulationstest zu verwendenden Medikamente findet man in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben. So wird zum Beispiel für das GnRH-Analogon Buserelin (Receptal®, Hoechst) zur Durchführung eines Stimulationstestes als ergänzende Maßnahme der Zuchttauglichkeitsuntersuchung beim Hengst zum Teil eine Dosierung von 80 µg (20ml) vorgeschlagen. Eine solche Dosierung dieses sehr potenten GnRH-Analogons liegt weit über der Dimension eines endogenen physiologischen GnRH-Stimulus. Dies kann dazu führen, daß trotz einer tatsächlich verminderten Ansprechbarkeit der Hypophyse für einen physiologischen GnRH-Stimulus Buserelin in dieser Dosierung noch eine vermehrte LH-Freisetzung bewirkt. Diese wird dann fälschlicherweise als normale Ansprechbarkeit der Hypophyse interpretiert. Auch stimuliert eine solch hohe Dosierung die Freisetzung von LH in Mengen, die jenseits einer normalen LH-Ausschüttung aus dem Hypophysenvorderlappen liegen. Es wird also keine differenzierte hypophysäre Antwort mehr ermöglicht. Appliziert man GnRH-Analoga in relativ niedrigen, mehr im physiologischen Bereich liegenden Dosierungen, kann man beobachten, daß fertile Hengste außerhalb der Zuchtsaison eine bessere Ansprechbarkeit der Hypophyse für GnRH besitzen als in der Zuchtsaison und deshalb in den Wintermonaten nach GnRH-Applikation mehr LH freisetzen. Dagegen reagieren Hengste mit Fertilitätsstörungen zu allen Jahreszeiten mit einer einheitlich geringen Zunahme der LH-Sekretion (Roser 1995a). In eigenen Untersuchungen konnten wir mit Dosierungen von 20 µg Buserelin/Tier bei Warmbluthengsten und mit 5 µg Buserelin/Tier bei Shetlandponyhengsten ausgeprägte Zunahmen der LH-Sekretion stimulieren und dabei die beschriebenen saisonalen Unterschiede in der LH-Freisetzung beobachten (Abbildung 4). Es empfiehlt sich daher, bei Durchführung von GnRH-Stimulationstests eine Dosierung in diesem Bereich zu wählen.

Eine wertvolle Maßnahme zur Evaluierung der testikulären Steroidhormonsynthesekapazität und der Ansprechbarkeit der Hoden für LH ist die Durchführung eines hCG-Stimulationstests. Eine einmalige Applikation von hCG in einer Dosierung von 10 000 IU induziert bei intakter Hodenfunktion eine deutliche Freisetzung von Testosteron und Östrogenen (Cox und Redhead 1990, Roser 1995b). Dabei zeigen diese Hormone ein typisches zweiphasiges Sekretionsprofil mit einem ersten Peak nach 2 Stunden, der etwa 48 Stunden später von einem zweiten, ausgeprägterem Sekretionsgipfel gefolgt wird (Cox et al. 1973, Cox und Redhead 1990, Roser

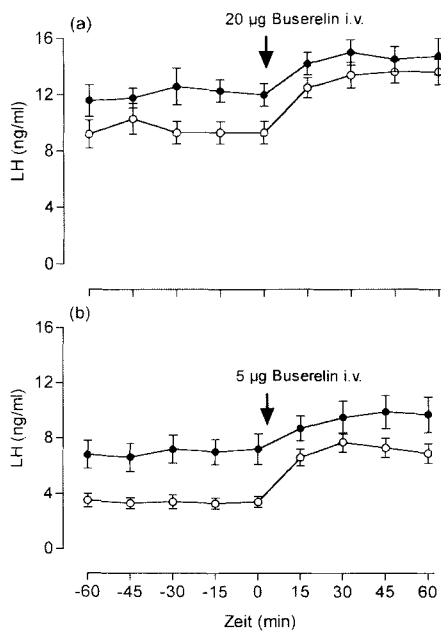


**Blutprobenentnahme:** -30, -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180min, 48h  
**Injektion von GnRH/hCG:** nach Entnahme der Probe 0 intravenöse Injektion von z.B. 20 µg Buserelin/10 000 IE hCG  
**zu bestimmende Parameter:** LH (nur GnRH-Stimulationstest)  
 Östradiol  
 Testosteron

**Abb. 3:** Schematische Darstellung der Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse beim männlichen Tier und der Durchführung von GnRH- und hCG-Stimulationstests.

The evaluation of hypothalamic-pituitary-gonadal function in the male by stimulation tests utilizing GnRH or LH analogs (hCG).

Konzentrationen im Plasma ansteigen. Bei der Durchführung von LH-Stimulationstests wird nur die Ansprechbarkeit der Hoden auf dieses Hormon überprüft. Hier verwendet man das LH-Analogon Humanes Choriongonadotropin als Medikament (z.B. Choriolutin®, Veyx-Pharma; Ovogest®, Intervet; Abbildung 3). Bei der Durchführung von GnRH- und hCG-Stimulationstests ist es sinnvoll, die Entnahme der Blutproben über eine intravenöse Verweilkanüle durchzuführen. Eine wiederholte Punktion der Vene sollte nur in Ausnahmefällen bei leicht zu handhabenden Hengsten durchgeführt werden, da auch eine Streßsituation, wie sie mit einer wiederholten Venenpunktion und Fixation von unruhigen oder ängstlichen Tieren verbunden ist, zur Beeinflussung der Testosteronsekretion führen kann (Pluschke 1994). Es ist wichtig, daß vor Applikation des Medikamentes mindestens 2, besser 3 Blutproben im Abstand von jeweils 15 Minuten zur Bestimmung der basalen Hormonkonzentration entnommen werden. Es ist sonst schwierig, die Veränderung der Hormonfreiset-



**Abb. 4:** Konzentrationen von LH (ng/ml) im Blutplasma von (a) fertilen Warmbluthengsten (Alter 5 bis 16 Jahre) vor und nach Applikation von 20 µg Buserelin i.v. im Juni (●; n=5) und Dezember (○; n=8) sowie (b) bei drei- und vierjährigen fertilen Shetlandponyhengsten vor und nach Applikation von 5 µg Buserelin i.v. im Juni (●; n=8) und Dezember (○; n=8). Deutlich sind die saisonalen Unterschiede in der basalen LH-Freisetzung vor Applikation von Buserelin zu erkennen. Bei beiden Gruppen führt die Applikation von Buserelin im Dezember zu einer signifikant stärkeren Zunahme der LH-Sekretion als im Juni ( $P < 0,05$ ) (nach Pluschke (1992) und Gerlach (1998))

Concentration of LH (ng/ml) in plasma of (a) fertile warmblood stallions (aged 5 to 16 years) before and after injection of the GnRH analog buserelin (20 µg/animal) in June (●; n=5) and December (○; n=8) and in (b) 3 to 4 year old Shetland pony stallions before and after injection of buserelin (5 µg/animal) in June (●; n=8) and December (○; n=8). In both groups, seasonal differences were found and administration of buserelin in December stimulated a significantly more pronounced release of LH than in June (Data adapted from Pluschke (1992) und Gerlach (1998))

1995b). Die Blutprobenentnahme bei einem hCG-Stimulationstest sollte wie bei einem GnRH-Stimulationstest durchgeführt werden, nur daß es aufgrund des zweiphasigen Sekretionsmusters wichtig ist, etwa 48 Stunden nach Applikation noch eine weitere Blutprobe zur Bestimmung der Steroidhormonkonzentrationen zu entnehmen, um den vollen Umfang des Testergebnisses beurteilen zu können. Diese Probe kann dann selbstverständlich durch Punktion der V. jugularis entnommen werden, eine Verweilkanüle sollte nicht länger als für die dreieinhalbstündige Blutprobenentnahme belassen werden. Bei GnRH-Stimulationstests ist diese zweiphasige Antwort nicht so ausgeprägt.

Infertile Hengste zeigen bei Durchführung eines hCG-Stimulationstestes keine Zunahme der Östrogen- und

Testosteronsekretion im Plasma, die Ansprechbarkeit der Leydigzellen für LH ist hier offensichtlich herabgesetzt bzw. die Kapazität der Hoden für die Steroidhormonsynthese ist reduziert (Roser 1995b). Die Durchführung eines hCG-Stimulationstestes ist auch eine wertvolle Methode zur Überprüfung des Verdachts auf Kryptorchismus bei einem Wallach. Kryptorchiden bzw. Wallache mit Resten von Hodengewebe reagieren auch bei niedriger basaler Testosteronsekretion auf die Applikation von hCG mit einer Zunahme der Androgen- und Östrogenkonzentration im Plasma (Cox et al. 1973; Aurich et al. 1995b).

Insgesamt sind die Ergebnisse eines hCG-Stimulationstestes sicherer zu interpretieren als die eines GnRH-Stimulationstestes. Nach Applikation von GnRH und seinen Analoga ist die hypophysäre LH-Antwort bereits physiologischerweise nicht konstant und wie beschrieben von der Jahreszeit und auch von anderen Einflüssen abhängig. Es kann daher schwierig sein, die LH-Reaktion eines GnRH-Stimulationstestes richtig einzuordnen. Darüberhinaus wird die gemessene LH-Antwort sehr deutlich durch die Labormethode zur Bestimmung des equinen LH beeinflusst, was die Interpretation zusätzlich erschwert. Ergebnisse eines Labors können nicht ohne weiteres auf ein anderes übertragen werden. Die Steroidhormone Testosteron und Östrogene sind in ihrem Aufbau bei allen Spezies identisch, tierartspezifische Unterschiede sind daher nicht so ausgeprägt wie bei den Gonadotropinen. Auch wenn sich unterschiedliche Hormonlabors in den absolut gemessenen Konzentrationen von Testosteron und Östrogenen im Blut eines Hengstes unterscheiden, kann die relative Änderung in der Hormonsekretion nach Durchführung eines hCG-Stimulationstestes prinzipiell von jedem Labor bestimmt werden, das ein Verfahren zur Bestimmung dieser Steroidhormone besitzt, auch wenn dieses Labor üblicherweise nur z.B. humane Hormone bestimmt. Eine genaue Messung der Hormonkonzentrationen ist allerdings nur möglich, wenn das Labor über pferdespezifische Standardwerte und Kontrollplasma verfügt.

Große Schwierigkeiten bereitet auch die Einordnung der Veränderungen der Testosteron- und Östrogenkonzentration nach Applikation von GnRH, weil diese sehr stark von der zunächst induzierten LH-Antwort abhängt. Ist die durch Applikation von GnRH stimulierte LH-Freisetzung nur schwach, wird auch nur eine undeutliche Zunahme der Testosteron- und Östrogenkonzentration eintreten, die man nicht als mangelhafte Ansprechbarkeit der Hoden für LH fehlinterpretieren darf. Zur Überprüfung der Hodenfunktion beim Hengst sollte daher der hCG-Stimulationstest dem GnRH-Stimulationstest vorgezogen werden. Ein Ausbleiben der testikulären Steroidhormonsynthese nach Applikation von hCG kann zweifelsfrei als eine mangelhafte Funktion der Hoden interpretiert werden.

## Literatur

- Amann, R. P. und Ganjam, V. K. (1981): Effects of hemicastration or hCG-treatment on steroids in testicular vein and jugular vein blood of stallions. *J. Androl.* 2, 132–139.
- Aurich, C., Sieme, H., Hoppe, H. und Schlote, S. (1994): Involvement of endogenous opioids in the regulation of LH and testosterone release in the male horse. *J. Reprod. Fert.* 102, 327–336
- Aurich, C., Burgmann, F., Hoppen, H.-O., Wuttke, W. und Aurich, J. E. (1995a): Plasma prolactin concentrations in the horse - response to opioid receptor blockade with naloxone and comparison of two prolactin assay systems. *Reprod. Domestic Anim.* 30, 279–287.
- Aurich, C., Bader, H. und Töpfer-Petersen, E. (1995b): Diagnostik von Fertilitätsstörungen beim männlichen Pferd. *Prakt. Tierarzt* 76, 905–918.
- Aurich, C., Lange, J., Gerlach, T., Hoppen, H.-O. und Aurich, J. E. (1997): Endokrine Diagnostik von Fortpflanzungsfunktionen des Hengstes. Bericht des 22. Kongresses der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Bad Nauheim, 8. –11.4.1997, Teil 1: Vorträge, 254–258
- Aurich, C., Gerlach, T., Hoppen, H.-O. und Aurich, J. E.: Sexual activity influences secretion of reproductive hormones in the stallion (zur Veröffentlichung eingereicht).
- Berndtson, W. E. und Jones, L. S. (1989): Relationship of intratesticular testosterone content of stallions to age, spermatogenesis, Sertoli cell distribution and germ cell-Sertoli cell ratio. *J. Reprod. Fert.* 85, 511–518.
- Berndtson, W. E., Pickett, B. W. und Nett, T. M. (1974): Reproductive physiology of the stallion. IV. Seasonal changes in the testosterone concentration of peripheral plasma. *J. Reprod. Fert.* 39, 115–118.
- Berndtson, W. E., Squires, E. L. und Thompson, D. L., Jr. (1983): Spermatogenesis, testicular composition and the concentration of testosterone in the equine testis as influenced by season. *Theriogenology* 20, 449–457
- Blue, B. J., Pickett, B. W., Squires, E. L., McKinnon, A. O., Nett, T. M., Amann, R. P. und Shiner, K. A. (1991): Effect of pulsatile or continuous administration of GnRH on reproductive function in stallions. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 44, 145–154.
- Clay, C. M. und Clay, J. N. (1992): Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod, and the peripubertal period in stallions. *Vet. Clin. North Am., Equine Prac.* 8, 31–56
- Clay, C. M., Squires, E. L., Amann, R. P., Clay, J. N. und Pickett, B. W. (1991): Influence of season on the temporal association between concentrations of LH and FSH in frequent blood samples from stallions. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 44, 668–669.
- Cox, J. E., Williams, J. H., Rowe, P. H. und Smith, J. A. (1973): Testosterone in normal cryptorchid and castrated horses. *Equine Vet. J.* 5, 85–90.
- Cox, J. E. und Redhead, P. H. (1990): Prolonged effect of a single injection of human chorionic gonadotropin on plasma testosterone and oestrone sulphate concentrations in mature stallions. *Equine Vet. J.* 22, 36–38.
- DeJong, F. H. (1988): Inhibin. *Physiol. Rev.* 68, 595–607.
- DeKloet, E. R. und Voorhuis, T. A. M. (1992): Neuropeptides, steroid hormones, stress and reproduction. *J. Controlled Release* 21, 105–116
- Eisenhauer, K. M., McCue, P. M., Nayden, D. K., Osawa, Y. und Roser, J. F. (1994): Localization of aromatase in equine leydig cells. *Domestic Anim. Endocrinol.* 11, 291–298.
- Eisenhauer, K. M. und Roser, J. F. (1995): Effects of lipoproteins, eLH, eFSH and ePRL on equine testicular steroidogenesis in vitro. *J. Androl.* 16, 18–27.
- Evans, J. W. und Finley, M. (1990): GnRH therapy in a stallion with low fertility. *J. Equine Vet. Sci.* 10, 182–186.
- Gerlach, T. (1998): Dopaminerge und opioiderge Regulation der Gonadotropin- und Prolaktinsekretion beim männlichen Pferd und Schaf. Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.
- Ginther, O. J. (1992): Reproductive biology of the mare. Basic and applied aspects. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA, 2. Auflage
- Irvine, C. H. G. und Alexander, S. L. (1988): Secretion rates and short-term patterns of gonadotrophin releasing-hormone, FSH and LH in the normal stallion in the breeding season. *J. Endocrinol.* 117, 197–206
- Johnson, L. und Thompson, D. L., Jr. (1983): Age-related and seasonal variation in the sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of FSH, LH and testosterone in stallions. *Biol. Reprod.* 29, 777–789.
- Johnson, L. und Thompson, D. L., Jr. (1987): Effect of seasonal changes in leydig cell number on the volume of smooth endoplasmic reticulum in leydig cells and intratesticular testosterone content in stallions. *J. Reprod. Fert.* 81, 227–232
- Johnson, L., Varner, D. D. und Thompson, D. L., Jr. (1991): Effect of age and season on the establishment of spermatogenesis in the horse. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 44, 87–97
- Lange, J., Matheja, S., Klug, E., Aurich, C. und Aurich, J. E. (1997): Influence of training and competition on the endocrine regulation of testicular function and on semen parameters in stallions. *Reprod. Domestic Anim.* 32, 297–302
- Lerchl, A., Sotiridou, S., Behre, H. M., Pierce, J., Weinbauer, G. F., Kliesch, S. und Nieschlag, E. (1993): Restoration of spermatogenesis by follicle-stimulating hormone despite low intratesticular testosterone in photoinhibited hypogonadotrophic Djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Biol. Reprod.* 49, 1108–1116.
- McDonnell, S. M. und Murray, S. C. (1995): Bachelor and harem stallion behavior and endocrinology. *Biol. Reprod. Monograph Series* 1, 577–590.
- Motton, D. D. und Roser, J. F. (1995): hCG binding to the LH/hCG testicular receptors in fertile, subfertile and infertile stallions. *Proc. 14th Equine Nutrition and Physiology*
- Naden, J., Amann, R. P. und Squires, E. L. (1990): Testicular growth, hormone concentrations, seminal characteristics and sexual behaviour in stallions. *J. Reprod. Fert.* 88, 167–176.
- Niklowitz, P., Khan, S., Bergmann, M., Hoffmann, K. und Nieschlag, E. (1989): Differential effects of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on Leydig cell function and restoration of spermatogenesis in hypophysectomized and photoinhibited djungarian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Biol. Reprod.* 41, 871–880.
- Pickett, B. W. (1993): Factors affecting sperm production and output. in: McKinnon, A. O. und Voss, J. L. (Hrsg): Equine reproduction. Lea and Febiger, Philadelphia, London, 1993, 689–704
- Pluschke, A.-Chr. (1994): Zur Endokrinologie der Fortpflanzung des Hengstes: Beteiligung endogener Opiode an der Regulation der LH- und Testosteronfreisetzung. Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

- Raeside, J. I.* (1969): The isolation of estrone sulphate and estradiol sulphate from the stallion testes. *Can. J. Biochem.* 47, 811–815.
- Roser, J. F.* (1995a): Endocrine regulation of reproductive function in fertile, subfertile and infertile stallions. *Reprod. Domestic Anim.* 30, 245–250
- Roser, J. F.* (1995b): Endocrine profiles in fertile, subfertile, and infertile stallions: testicular response to human chorionic gonadotropin in infertile stallions. *Biol. Reprod. Monograph Series* 1, 661–669.
- Roser, J. F. und Hughes, J. P.* (1992): Dose-response effects of GnRH on gonadotropins and testicular steroids in fertile and subfertile stallions. *J. Androl.* 13, 543–550
- Roser, J. F. und Hughes, J. P.* (1994): Use of GnRH in stallions with poor fertility: a review. *Proc. 40th Ann. Conf. Am. Ass. Equine Pract.*, 23–25
- Skinner, M. K.* (1991): Cell-cell interactions in the testis. *Endocr. Rev.* 12, 45–77.
- Stewart, B. L. und Roser, J. F.* (1995): Effects of age, season and fertility on plasma and testicular inhibin concentrations in the stallion. *Biol. Reprod.* 52, Suppl. 1, 86.
- Thompson, D. L., Pickett, B. W., Squires, E. L. und Nett, T. M.* (1979): Effect of testosterone and estradiol $17\beta$  alone and in combination on LH and FSH concentration in blood serum and pituitary of geldings and in serum after administration of GnRH. *Biol. Reprod.* 21, 1231–1237.
- Weinbauer, G. F. und Nieschlag, E.* (1990): The role of testosterone in spermatogenesis. in: *Nieschlag, E. und Behre, H. M.* (Hrsg.): Testosterone - action, deficiency, substitution. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1990, 1. Auflage, 23–50.
- Zondek, B.* (1934): Mass excretion of oestrogenic hormone in the urine of the stallion. *Nature* 133, 209.

Dieser Veröffentlichung zugrundeliegende Untersuchungen der eigenen Arbeitsgruppe wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Mehl-Mülhens-Stiftung und der Stiftung Schleswig-Holsteinische-Landschaft gefördert.

*PD Dr. Christine Aurich*

*Institut für Tierzucht und Genetik  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Veterinärplatz 1  
A-1210 Wien*

*Tel. 0043-1-25077 6108  
Fax: 0043-1-25077 5690*

*Prof. Dr. J. E. Aurich*

*Klinik f. Geburtshilfe, Gynäkologie u. Andrologie  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Veterinärplatz 1  
A-1210 Wien  
Tel. 0043-1-25077 5400*

*TÄ Tanja Gerlach*

*Institut für Tierzucht und Tierverhalten  
Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft  
Mariensee  
D-31535 Neustadt/Rbge.*

## ORTHOPÄDISCHE CHIRURGIE BEIM PFERD – GRUNDKURS

*Simon Turner*

Video-Mitschnitt (180 min) einer Operations-Demonstration in englischer Sprache

### *Themen:*

- ◆ Neurektomie (epineural capping)
- ◆ Desmotomie des Ringbandes
  - ◆ Proximale Gleichbeinfraktur
- ◆ Griffelbein-Amputation, Penrose-Drain
- ◆ Desmotomie des Unterstützungsbandes der tiefen Beugesehne
  - ◆ Locking-loop-Sehennah, Kohlenstoffband-Implantation
    - ◆ Tenotomie der Spatsehne
    - ◆ Chip-Fraktur im Fesselgelenk
    - ◆ Chip-Fraktur im Karpalgelenk
  - ◆ Medialer Zugang zum Sprunggelenk
  - ◆ Lateraler Zugang zum Sprunggelenk
- ◆ Amputation des lat. Griffelbeins an der Hintergliedmaße
  - ◆ Hahnentritt-Operation
- ◆ Arthroskopie des Karpalgelenks (Chip-Fraktur)

*320 DM incl. Mwst.*

**Bestellungen unter Angabe des gewünschten Videosystems an  
Hippiatrika-Verlag, Herrenberger Straße 7, D-72202 Nagold, Fax (0 74 52) 8 13 00**