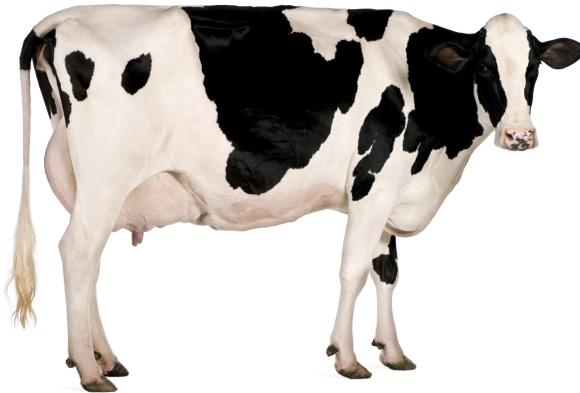


EINSATZ VON  
EQUINEM CHORIONGONADOTROPIN (eCG)  
BEIM RIND POST PARTUM ZUR FÖRDERUNG  
DER OVARAKTIVITÄT

---

Mehrdad Khodadadian Sharifabad



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. biol. animal.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2017

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2017

© 2017 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition linguistique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und  
Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

**EINSATZ VON EQUINEM CHORIONGONADOTROPIN (eCG)  
BEIM RIND POST PARTUM ZUR FÖRDERUNG  
DER OVARAKTIVITÄT**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines  
Dr. biol. animal.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Mehrdad Khodadadian Sharifabad**

aus Teheran

Gießen 2017

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

---

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. Martin Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend  
Prof. Dr. Joachim Roth

Tag der Disputation: 23.12.2016

Meiner Mutter



## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2.1	Anlaufen der Ovaraktivität post partum .....	2
2.2	Equines Choriongonadotropin (eCG) .....	5
2.3	Einsatz von eCG im Puerperium .....	6
2.4	Einsatz von eCG außerhalb des Puerperium .....	7
2.5	Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) .....	8
2.6	Einsatz von GnRH im Puerperium .....	9
2.7	Einsatz von GnRH außerhalb des Puerperium .....	11
3	Material und Methoden .....	14
3.1	Versuchsziel .....	14
3.2	Tiere .....	14
3.3	Betriebe .....	15
3.4	Gruppeneinteilung .....	15
3.5	Präparate .....	18
3.6	Blutentnahme .....	18
3.7	Aufbereitung und Lagerung der Proben .....	19
3.8	Labordiagnostische Methoden .....	19
3.8.1	Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)-Aktivitätsbestimmung .....	19
3.8.2	Estradiol-17 $\beta$ -Bestimmung .....	19
3.9	Statistische Auswertung .....	20
4	Ergebnis .....	21
4.1	Estradiol-17 $\beta$ .....	21
4.2	GLDH-Aktivität .....	28
4.3	Statistische Analyse .....	31
5	Diskussion .....	32

6	Zusammenfassung .....	36
7	Summary.....	37
8	Literaturverzeichnis.....	38

## Abkürzungsverzeichnis

BCS	Body Condition Score
bzw.	beziehungsweise
CL	Corpus luteum
cm	Zentimeter
eCG	equines Choriongonadotropin
et al.	et alii (und andere)
ev.	eventuell
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
hCG	humanes Choriongonadotropin
HF	Holstein Friesian
I. E.	Internationale Einheit
i. m.	intramuskulär
kg	Kilogramm
LH	Luteinisierendes Hormon
mg	Milligramm
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
ng	Nanogramm
n	Nummer
p. p.	post partum
PAG	Pregnancy associated glycoproteins
PGF2α	Prostaglandin F2α

pg	Picogramm
PG	Prostaglandin
pmol	Picomol
PRID	Progesterone Releasing Intravaginal Device
RIA	Radio-Immuno-Assay
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
St.	Stunde
TSH	Thyroid-Stimulating-Hormon
U/L	Unit pro Liter

## 1 Einleitung

Involutionsstörungen der Gebärmutter nach der Geburt spielen beim Rind eine große Rolle und führen in vielen Fällen zu Fruchtbarkeitsstörungen. Eine Möglichkeit die Selbstreinigung der Gebärmutter im Puerperium zu fördern ist die Anregung der Ovarfunktion, da sich steigende Estrogenkonzentrationen positiv auf die Uteruskontraktilität und die intrauterine Abwehr auswirken. Die Strategie, zu diesem Zweck GnRH einzusetzen, führt vor dem 14. Tag in der Regel nicht zum Erfolg, da der Hypophysenvorderlappen nach dieser Stimulation nur geringe Mengen Gonadotropine ausschüttet. Neuere Untersuchungen konnten zeigen, dass durch die Verabreichung von eCG im Frühpuerperium die Involutionsdauer der Gebärmutter und die Fruchtbarkeit von Kühen verbessert werden kann. Es wurde jedoch bisher nicht gezeigt, ob das Ovar nach einer Stimulation mit eCG im frühen Puerperium mit einer Synthese von Estrogenen antwortet. Ziel der eigenen Untersuchungen war es daher folgende Frage zu beantworten:

Lässt sich das Ovar durch die Gabe von eCG am 6. Tag post partum beim Rind stimulieren?

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Anlaufen der Ovaraktivität post partum

Das Puerperium ist abgeschlossen, wenn alle graviditätsbedingten Veränderungen an den Geschlechtsorganen zurückgebildet sind. Am Ende des Puerperiums sind die trächtigkeitssassoziierten morphologischen Veränderungen am Uterus nicht mehr nachweisbar (Hoffmann, 1982) und das Hormonprofil des Rindes macht eine normale Brunst, Ovulation, Konzeption und Implantation des Embryos und die Bildung und Erhaltung eines Gelbkörpers möglich. Eine gute Brunstsymptomatik und ein guter Allgemeinzustand der Kuh sind dabei wichtig (Zaleha et al., 2013).

Vor der Geburt kommt es zu Luteolyse, die von einem Abfall der Progesteronkonzentration begleitet wird. Es schließt sich nach der Kalbung eine Phase der ovariellen Inaktivität an, die als physiologisch zu werten ist (Hoffmann, 1993). Obwohl der Hypothalamus direkt post partum Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) ausschüttet, kann noch keine entsprechende Freisetzung von Luteinisierendem Hormon (LH) und Follikelstimulierendem Hormon aus dem Hypophysenvorderlappen nachgewiesen werden (Peters und Lamming, 1986). Erst ab dem vierten Tag nach Geburt setzt eine pulsatile Ausschüttung von LH aus der Adenohypophyse und FSH ein (Schallenberger et al., 1982). Dies führt zu einer Anregung der Follikelbildung bzw. des Follikelwachstums auf dem Eierstock. Im Blut können dann steigende Estrogenkonzentrationen gemessen werden (Sheldon et al., 2002a; Sheldon et al., 2002b). Die steigenden Estrogenkonzentrationen führen über einen positiven Rückkopplungsmechanismus zu einer Anregung der FSH-Freisetzung (Peters und Lamming, 1986). Aus den sich rekrutierenden Follikeln erreicht einer die Dominanz. Der dominante Follikel der ersten Follikelreifungswelle erreicht zwischen dem neunten und 11. Tag nach der Kalbung seine maximale Größe (Murphy et al., 1990). Er kann ovulieren, atresieren oder sich durch Persistenz zu einer Zyste entwickeln (Roche, 2006; Savio et al., 1990; Sheldon et al., 2002b). Verschiedene Autoren konnten zeigen, dass die erste Ovulation überwiegend auf dem kontralateralen Ovar des ehemals graviden Uterushorns stattfindet (Bridges et al., 2000; Nation et al., 1999; Sheldon et al., 2000). Die Angaben zur ersten Ovulation post partum schwanken in der Literatur. Einige Angaben sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Zeitpunkt der Ovulation post partum beim Rind. Angaben nach unterschiedlichen Autoren.

Tage post partum	Literaturstelle
Frühestens 10. Tag post partum	Baier und Berchtold, 1984
Um den 14. Tag post partum	Wagner und Hansel, 1969
30 % der Kühe vor dem 15. Tag p. p., 30 % zwischen dem 15. und 20. Tag p. p., Rest später	Eulenberger, 1993
bei etwa 38 % der Kühe bis zum 21. Tag p. p.	Gautam et al., 2010

Die Brunstsymptome der ersten Ovulation sind in der Regel undeutlich ausgeprägt bzw. werden nicht beobachtet (Knickerbocker et al., 1986; Kyle et al., 1992; Noakes, 2009; Wagner und Hansel, 1969). Ein Grund dafür wird darin gesehen, dass den steigenden Estrogenen keine Progesteronphase vorausgegangen ist. Diese wird beim Rind als notwendig angesehen, damit sich Brunstsymptome entwickeln können (Noakes, 2009).

Kommt es zu einer Ovulation ist die Luteinphase verkürzt. Aus den Progesteronprofilen untersuchter Kühe ergibt sich, dass der erste Zyklus nach der Kalbung häufig verkürzt ist. Je früher nach dem Abkalben die Ovarfunktion wieder einsetzt, desto häufiger tritt eine Verkürzung des Zyklus ein (Schams et al. 1978; Kindahl et al. 1982).

Die Größe des ersten Gelbkörpers ist meist vermindert im Vergleich zu den Gelbkörpern der Folgezyklen (Kamimura et al., 1993).

Die Dauer der postpartalen Azyklie ist von vielen Faktoren abhängig.

In Tabelle 2 sind einige Einflussfaktoren aus der Literatur aufgeführt.

Tabelle 2: Einflussfaktoren auf die Länge der postpartalen Azyklie bei der Kuh

Faktor	Literaturstelle
Erkrankungen	Noakes, 2009
Störungen der Uterusinvolution	Hussain und Daniel, 1991
Energiedefizit	El-Din Zain et al., 1995 Patton et al., 2007
Haltungsform	Terqui et al., 1982
Jahreszeit	Peters und Riley, 1982
Rasse	Terqui et al., 1982

In Milchviehherden wird eine schlechte Fruchtbarkeit als eine der bedeutenden Reproduktionsstörungen bezeichnet. Als Hauptfaktoren wurden an 613 Holstein Kühen eine geringere Anzahl an Geburten sowie eine abnorme Ovarfunktion post partum festgestellt (Yusuf et al., 2010).

Roche et al. (2000) fordern für eine gute Reproduktionsfunktion bei Milchkühen eine krankheitsfreie Transitperiode mit möglichst geringem Auftreten von metabolischen Störungen. Eine negative Energiebilanz in der peripartalen Zeit führt zu einer schlechten LH-Pulsfrequenz, einem reduzierten Follikelwachstum und einem höheren Anteil von Kühen ohne Estrus in der Herde (Roche et al., 2000).

Die abnormale Ovarfunktion und das abnorme endokrine Muster bei Kühen über 90 Tage post partum sind ein möglicher Grund für Fruchtbarkeitsprobleme bei Milch- und Fleischrindern. Eine solche abnormale Ovarfunktion konnte anhand von wiederholten Progesteronmessungen an 53 Milch- und Fleischrindern gezeigt werden (Yimer et al., 2010).

Eine Langzeituntersuchung klinischer, leistungs- und haltungsbezogener Parameter an 72 Holstein-Kühen konnte einen großen Einfluss der Uterusinvolution auf die Ovaraktivität zeigen (Zain et al., 1995).

## 2.2 Equines Choriongonadotropin (eCG)

Equines Choriongonadotropin (eCG) wird von der Stute in den endometrial cups der Plazenta zwischen dem 40. und 130. Tag der Trächtigkeit gebildet. Die Gewinnung von eCG erfolgt aus dem Serum trächtiger Stuten, wo es in hohen Konzentrationen vorkommt. Die Produktionsrate beträgt etwa 200000 I. E. pro 24 Stunden (Louwerens 1970).

eCG führt aufgrund seiner Doppelwirkung bei der tragenden Stute zu Ovulationen und zur Bildung von akzessorischen Gelbkörpern während der Trächtigkeit. Vermutet wird, dass es zur Aufrechterhaltung der Trächtigkeit bei dieser Tierart notwendig ist (Grunert und Zerbe, 1999).

Equines Choriongonadotropin (eCG) ist Mitglied der Hormonfamilie der Glykoproteine wie LH, FSH und der TSH. Bei anderen Spezies zeigt eCG eine hohe FSH-Aktivität und eine hohe Affinität für die Rezeptoren von FSH und LH in den Ovarien. Auf den Granulosa- und Thekazellen der Follikel hat eCG eine LH- und FSH vermittelte Langzeitwirkung, welche die Ausschüttung von Estradiol und Progesteron stimuliert. Demnach resultiert die eCG-Wirkung bei Milchkühen in einer Reduktion der Rate atretischer Follikeln, die Entstehung von mehreren kleinen Follikeln mit hoher Teilungsrate, das anhaltende Wachstum von mittleren und großen Follikeln und verbessert die Entwicklung und Qualität von dominanten und präovulatorischen Follikeln. Die Folge ist, dass die Qualität des folgenden Gelbkörpers (Corpus luteum) verbessert ist und dadurch die Progesteronsekretion gesteigert wird. Auf Grund dieser Eigenschaften bestehen für eCG folgende Indikationen für die Behandlung bzw. Applikation beim Rind (De Rensis und Lopez-Gatius, 2014):

- Anregung der Ovaraktivität im Puerperium
- Steigerung der Ovulations- und Trächtigkeitsraten bei azyklischen Kühen
- Verbesserung der Befruchtungsrate bei Kühen mit verspäteter Ovulation
- Superovulation

Eine eCG-Behandlung ist gegenwärtig Bestandteil einer Vielzahl von Protokollen für die terminorientierte instrumentelle Besamung nach einer Brunstsynchronisation mit

Progesteron-freisetzenden Präparaten. In diesen Protokollen hat eCG sehr gute Effekte auf die Entwicklung und das Überleben des Embryos, das heißt der Einsatz führt zu einer Reduktion der embryonalen Mortalität. Diese Effekte treten insbesondere bei Kühen mit reduzierter LH-Sekretion und Eierstockaktivität während der frühen nachgeburtlichen Phase, bei Hitzestress, bei anöstrischen Tieren oder bei Kühen mit niedrigem Body-Condition-Score zu Tage (De Renesis und Lopez-Gatius, 2014).

Die Halbwertszeit von eCG beträgt 6 Tage und ist damit relativ lang. Dies wird auf dem relativ hohen Anteil von Sialinsäure zurückgeführt. eCG kann noch 10 Tage nach der Anwendung im Blut nachgewiesen werden. Eine Wartezeit ist nach der Behandlung mit eCG nicht notwendig (Schams et al., 1978).

Nach mehrmaligen Injektionen von eCG wurden im Blut von Kühen Antigonadotropine nachgewiesen (Jainudeen et al., 1966). Andere Autoren konnten dies nicht bestätigen (Schams et al., 1978).

Neure Untersuchungen konnten zeigen, dass durch die Gabe von eCG die Mikrovaskularisation des Gelbkörpers (Moura et al., 2015) und der Gebärmutter verbessert (Mona e Pinta et al., 2014).

### 2.3 Einsatz von eCG im Puerperium

Bei sieben Kühen führte die Injektion eines eCG-Präparates (500 I. E.) am Tag 6 des Puerperiums zu einem schnelleren Beginn der Ovaraktivität und zu einer früheren Ovulation als in der Kontrollgruppe (Rostami et al., 2011). Eine zusätzliche hCG-Gabe verbesserte hierbei die Ovulationsrate nicht.

Eine ähnliche Beobachtung machten Vojgani und Mitarbeiter (2013). Bei 220 Holstein-Kühen konnte ein positiver Effekt im Sinne eines früheren Besamungszeitpunktes und einer früheren Konzeption erreicht werden, wenn am 6. Tag post partum ein eCG-Präparat injiziert wurde.

Bezüglich der Verbesserung der Ovulationsrate zeigte eCG (600 I. E.) gegenüber dem Einsatz von Estradiolbenzoat (0.75mg) einen besseren Effekt zur

Brunstinduktion bei 28 Fleischrindern mit Saugkälbern in Estrus. Die FSH- (Follikel Stimulierendes Hormon) und Estradiol (E<sub>2</sub>)-Spiegel der behandelten Kühe wurden täglich überprüft und die Ovulation per Sonographie überwacht (Duffy et al., 2003).

Die Verabreichung von eCG (250 und 750 I. E.) am 14. Tag post partum zeigte einen positiven Effekt im Sinne eines verbesserten Follikelwachstums und einer erhöhten Estradiolproduktion, hatte jedoch keinen Einfluss auf den Ablauf der Uterusinvolution (Sheldon et al., 2000). Die Involutionvorgänge wurden mittels transrektaler Sonographie untersucht und die PGF- sowie Estradiolkonzentrationen im Blut wurden gemessen.

#### 2.4 Einsatz von eCG außerhalb des Puerperium

Dias et al. (2009) stellten fest, dass bei Färsen im Rahmen der terminierten Besamung signifikant höhere Progesteronkonzentrationen erreicht werden konnten, wenn ein eCG-Präparat im Vorbereitungsprotokoll eingesetzt wurde.

Sowohl Ovulationsrate als auch Lutealfunktion konnten verbessert werden, wenn in einem progesteron- und estradiolbasierten Vorbereitungsprotokoll für die terminierte Besamung zusätzlich eCG (400 I. E.) zum Einsatz kamen. Dieses wurde durch sonographische Untersuchungen und Blutuntersuchungen an 46 Kühen festgestellt (Nunez et al., 2014).

Anöstrische Kühe konnten mittels des Einsatzes von eCG im Rahmen eines Protokolls zur Steuerung der saisonalen Abkalbung hinsichtlich ihrer Reproduktionsleistung positiv beeinflusst werden (Bryan et al., 2012).

Bezüglich des Follikelwachstums und der Ovulationsrate berichteten Bergamaschi und Mitarbeiter (2004) von positiven Effekten des eCG-Einsatzes bei Nelore-Kühen.

Im Rahmen der Brunstinduktion mittels Intravaginalspange konnte sowohl bei 782 Holstein-Kühen nach Ovulationsinduktion mit GnRH-Präparaten als auch bei schlecht ernährten Tieren eine Verbesserung der Konzeptionsrate erreicht werden, wenn zum Zeitpunkt der Entnahme der Intravaginalspange eine Injektion eines eCG-Präparates (400 I. E.) erfolgte (Souza et al., 2008).

Im Rahmen des Embryotransfers bei 93 HF x Brahman-Kreuzungskühen stellten Sumretprasong und Mitarbeiter (2010) fest, dass ein Synchronisationsprotokoll mit einem eCG-Präparat (200 I. E.) den Zeitraum zwischen Progesteronentzug und Auftreten von Estrusanzeichen verkürzte, die Corpus-luteum-Qualität verbesserte und mehr Tiere dieses Protokolls als Embryonenempfänger selektiert wurden.

Die Rekrutierungsrate und das Wachstum von Sekundärfollikeln konnte durch den Einsatz von eCG-Präparaten (4 I. E./kg) dosisabhängig verbessert werden, während die Population von Primärfollikeln in Estrus unbeeinflusst blieb. In dieser Studie wurden die Plasmaestradiol-Konzentrationen von insgesamt 100 chinesischen Holsteinkühen mittels RIA untersucht (Shu-Bin Fu et al., 2014).

Bei Applikation 22 Tage post inseminationem konnte eCG (400 I. E.) die Fertilität verbessern und die Trächtigkeitsverluste bei 450 laktierenden Milchkühen der Rasse Holstein Frisian vermindern - insbesondere bei Tieren in schlechtem Ernährungszustand - sowie den Effekt einer hCG (2500 I. E.) Administration am Tag 29 post inseminationem verbessern (Bartolome et al., 2012).

Bei 24 Holsteinkühen erwies sich eCG (3000 I. E.) gegenüber der Applikation von FSH im Vorbereitungsprotokoll zur Punktion von Follikeln auf den Ovarien bezüglich der Ovaransprechbarkeit, der Follikelanzahl und der Oozytenqualität als nachteilig (Sendag et al., 2008).

Bei der Vorbereitung von 270 Fleischrindern zur terminierten Besamung erwies sich die Applikation eines eCG-Präparates (400 I. E.) 2 Tage vor Beendigung des Progesteroneinflusses gegenüber der Injektion von eCG am Tage des Progesteronentzuges als vorteilhaft bezüglich des Follikeldurchmessers, des Volumens des Corpus luteum, der Progesteronkonzentration und der Trächtigkeitsrate (Tortorella et al., 2013).

## 2.5 Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH)

Gonadorelin ist ein Dekapeptid. Die Substanz ist in Wasser gut löslich. Daneben ist ein Nonapeptid (Buserelin) auf dem Markt. Die höhere und längere endokrine Aktivität von Buserelin gegenüber Gonadrolin (bis zu 100fach stärkere Wirkung), die

eine niedrigere Dosierung ermöglicht, ist die Folge einer längeren Haftung des Nonapeptides an den entsprechenden Rezeptoren der Hypophyse (Grunert und Zerbe, 1999).

## 2.6 Einsatz von GnRH im Puerperium

Hussein et al. (1992) konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen einer GnRH-Behandlungsgruppe und der Kontrollgruppe (insgesamt 47 Kühe) finden für die Tage bis zum ersten Estrus nach der Kalbung oder für die Tage, an denen die Kühe nicht tragend waren (sogenannte Günstzeit). Die Behandlungsgruppe erhielt zwei Injektionen eines GnRH-Analogons im Abstand von einer Stunde. Die Behandlung wurde zweimal wöchentlich in 3 - 4 tägigen Abständen wiederholt. Die Kontrollgruppe erhielt 0,9%ige Kochsalzlösung in dem gleichen Rhythmus wie die Behandlungsgruppe. Es wurden die Plasmaprogesteron-Werte der Kühe bestimmt und die Zeit bis zum Erreichen des Schwellenwertes von 1 ng/ml verzeichnet.

In einer anderen Studie konnte die Anzahl der Tage, an denen die 60 Studien-Kühe leer blieben, und die Anzahl an Besamungen reduziert werden, wenn die Kühe 100 µg GnRH am 7. oder 15. Tag nach der Kalbung empfangen hatten. Der maximale Effekt war an Tag 15 nach der Kalbung festzustellen (Aboul-ela et al., 1986).

Der Einsatz eines GnRH Agonisten am 23. Tag nach der Besamung hat die Fruchtbarkeitsleistung bei Kühen mit Präsynch-Ovsynch-Protokoll nicht verbessert, sondern eher verschlechtert (Afsari Akbarabadi et al., 2014).

Bei der Gabe von GnRH bis zum sechsten Tag post partum ist nur eine sehr geringe LH-Ausschüttung als Folge erkennbar (Fernandes et al., 1978; Kesler et al., 1978; Seidel 2007).

Foster et al. (1980) konnten einen signifikanten LH-Anstieg nach GnRH-Gabe bereits ab dem vierten Tag post partum erreichen. Jedoch war dieser Anstieg bei Anwendung am vierten oder fünften Tag post partum signifikant geringer als bei Applikation ab dem siebenten Tag post partum. Zwei Stunden nach ihrer Injektion erreicht diese induzierte LH-Serumkonzentration ihr Maximum (Bosu et al., 1988; Britt et al., 1974; Fernandes, 1978; Gümen und Seguin, 2003).

Boiti et al. (1982) stellen fest, dass verglichen zu Kontrolltieren mithilfe einer GnRH-Gabe am 14. Tag post partum mehr Ovulationen bis zum 85. Laktationstag beobachtet werden konnten.

Bei Tieren, deren erste Ovulation nach dem 15. Tag post partum feststellbar wurde, konnte die Anzahl der Ovulationen im Zeitraum zwischen Kalbung und 60. Laktationstag erhöht werden. Nach einer GnRH-Applikation am 15. Tag post partum sind verglichen zu Kontrolltieren bei sieben von acht Tieren mehr als drei Ovulationen beobachtet worden, wohingegen bei allen 14 Tieren der Kontrollgruppe nur zwei Ovulationen bis zum 60. Laktationstag festzustellen waren (Peter und Bosu, 1988).

In der Studie von Bostedt et al. (1980) konnte mittels einer Gabe des GnRH-Analogons Buserelin im Vergleich zu Kontrolltieren die Zeit zwischen Kalbung und erster Brunst um zehn Tage verkürzt werden.

Von den meisten Autoren wird der 14. bis 18. Tag post partum als Zeitraum für eine ovulationsauslösende GnRH-Behandlung vorgeschlagen (Britt, 1975; Seguin et al., 1977; Nash, 1980; Stevenson und Call, 1988).

Eine oft verwendete Dosierung besteht aus 100 µg Gonadorelin intramuskulär. Diese Behandlung führte zur Förderung der Zyklizität. Auf das First-Service-Intervall bei Gabe zwischen dem 10. und 16. Tag post partum konnte jedoch kein Einfluss verzeichnet werden (Richardson et al., 1983). Stevenson und Call (1988) sowie Stevenson et al. (1988) konnten in ihren Untersuchungen keinen deutlichen reproduktionsfördernden Einfluss nach einer Gonadorelininjektion zwischen dem 11. und 25. Tag post partum nachweisen. Eine Ausnahme hierbei bildete eine Verkürzung der Zeit bis zum 1. Estrus. Jubb et al. (1990) konnten mittels GnRH-Gabe zwischen Tag 11 und 13 des Zyklus keine Verbesserung der Trächtigkeitsrate erreichen.

Pinto Andrade et al. (1995) applizierten per peristaltischer Pumpe über eine Dauer von 14 - 18 Tagen post partum 2 µl GnRH in 2 ml Kochsalzlösung alle 2 Stunden intravenös. Sie konnten dabei einen positiven Effekt auf die folliculäre Steroidhormonsynthese sowie die Ovulation darstellen.

Insgesamt sind die Angaben zur Wirkung einer GnRH-Gabe im Puerperium in der Literatur sehr different. Haß (2013) hat die Angaben vieler Autoren dazu zusammengefasst. Sie selbst konnte zeigen, dass sich bei Tieren mit klinisch ungestörtem und mit gestörtem Puerperium bis zum 14 Tag post partum durch die Behandlung mit Dinoprost (Prostaglandin F<sub>2α</sub>) oder einer Kombination von Gonadorelin (GnRH-Analogen) und Dinoprost zwischen dem 11. und 14. Tag post partum kein positiver Effekt auf die Uterusinvolution und die Fruchtbarkeitsleistung von Milchkühen induzieren lässt. Die Tiere der Gonadorelingruppe erhielten 50 µg Gonadorelin und sieben Tage später 25 mg Dinoprost. Einen höheren Einfluss auf die Fruchtbarkeit als die Hormongabe hatten die Veränderungen der Körperkondition während des Beobachtungszeitraumes. Die Untersuchungen wurden an 305 Kühen mit ungestörtem und gestörtem Puerperium bis zum 14. Tag nach der Kalbung durchgeführt.

## 2.7 Einsatz von GnRH außerhalb des Puerperium

Es gibt unzählige Untersuchungen zum Einsatz von GnRH bei der Milchkuh außerhalb des Puerperiums. An dieser Stelle soll nur eine Auswahl von Studien dargestellt werden.

Indikationen zur GnRH-Applikation sind:

- Ovulationsinduktion durch alleinige Gabe oder in Kombination mit anderen Hormonen
- Behandlung von Ovulationsstörungen
- Verminderung der embryonalen Mortalität

Im Interöstrus verabreicht, bedingt Buserelin keine Veränderung der Zykluslänge und des Plasmaprogesteorgehalts, führt aber zu einer signifikanten Reduktion der Plasmaöstrogenkonzentration (Mann und Lamming 1995).

Ein hoher Progesteronspiegel beeinflusst die Wirkung einer GnRH-Gabe negativ. Ein funktionstüchtiger Gelbkörper verhindert meist die Ovulationsauslösung bei Anwendung an GnRH (Berchtold et al. 1978).

Die Behandlung mit GnRH in hoher Dosierung löst die Ovulation eines bereitstehenden Tertiärfollikels mit anschließender Gelbkörperbildung aus. Die Kühe zeigen bis zur Rückbildung des Gelbkörpers keine Brunst (Roche et al., 1996).

Die LH-Ausschüttung als Reaktion auf GnRH steht in Relation zur Blutöstrogenkonzentration (Zolman et al. 1972, 1974). Je höher diese ist, desto mehr LH wird ausgeschüttet.

Eine weit verbreitetes Protokoll ist die Injektion von GnRH, gefolgt im Abstand von 6-7 Tagen die Applikation von PGF2 $\alpha$  und einer weiteren GnRH-Applikation 48 Stunden später. 20 - 24 Stunden später findet die Besamung statt (Thatcher et al., 1993; Pursley et al., 1995, Schmidt et al., 2013).

An 421 tragenden Milchkühen konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit GnRH (100  $\mu$ g) oder hCG (1000 I. E.) keine Prävention für den Verlust der Trächtigkeit bei Kühen bringen konnte (Stevenson et al., 2008).

Die GnRH-Behandlung bei 112 Milchkühen im Estrus hat keine Steigerung der Fruchtbarkeit nach der künstlichen Befruchtung gezeigt (Valenza et al., 2012).

Die Behandlung mit dem Hormon GnRH (100  $\mu$ g) bei 212 Kühen an Tag 5 und 15 Tage nach der künstlichen Besamung führte zu einer Verminderung der Trächtigkeitsrate an Tag 27 nach der künstlichen Besamung (Bartolome et al., 2005).

Das Trennen des Kalbes von der Kuh hat keine Steigerung der Antwort auf eine GnRH-Behandlung gezeigt. Eine Behandlung mit PRID hatte einen positiven Effekt. Bei Kühen 20 Tage nach GnRH-Behandlung wurden deutlichere Brunsten gesehen als bei Kontrollkühen (Fonseca et al., 1979).

Die Applikation von GnRH (50  $\mu$ g) Agonisten 12 Tage nach der Besamung hatte keine positive Wirkung auf die Trächtigkeitsrate von 103 Milchkühen. Die Untersuchungen an diesen Kühen schlossen sowohl die Messung mittels RIA von Progesteron als auch von PAGs (pregnancy associated glycoprotein) ein. Zusätzlich

wurden die Kühe mit Ultraschall auf das Vorliegen einer Gravidität untersucht (Szenci et al., 2006).

Die Vorsynchronisation mit GnRH 7 Tage vor der Brunst Synchronisation mit GnRH und PGF2 $\alpha$  hat den Anteil an Färsen mit Brunstsymptomen nicht positiv beeinflusst. Die Brunst wurde sowohl anhand der Progesteron-Blutwerte als auch mittels Sonographie dokumentiert (Rivera et al., 2006).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Versuchsziel

Ziel des Dissertationsvorhabens ist es, die Hypothese zu überprüfen, dass durch die Gabe von equinem Choriongonadotropin (eCG) am 6. Tag nach der Geburt die Ovaraktivität beim Rind positiv beeinflusst werden kann.

#### 3.2 Tiere

Die Untersuchung erfolgte an 63 Kühen. Die Rasseverteilung der Kühe aus der GnRH bzw. eCG Gruppe wird in Tabelle 3 aufgelistet. Die Tiere der Kontrollgruppe gehören alle der Rasse Deutsch Holstein Schwarzbunt an. Alle Behandlungen und Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Behandlung von puerperalen Kühen zur Anregung der Ovarfunktion bzw. zur Therapiekontrolle. Die Kühe wurden mittels Losverfahren auf zwei Gruppen verteilt (Tabelle 4).

Tabelle 3: Rassenzugehörigkeit der Kühe, die mit eCG oder GnRH behandelt wurden

Nummer	Anzahl	Rassen
1	36	Deutsche Holstein Schwarzbunt
2	16	Deutsche Holstein Rotbunt
3	7	Fleckvieh
4	4	Braunvieh

Tabelle 4: Zuteilung der Kühe zu den Gruppen

Gruppe	Anzahl	Behandlung
1	25	eCG (480 I. E., 2.1 ml)
2	25	GnRH (21µg, 5 ml)
3	13	Kontrolle (keine Behandlung)

### 3.3 Betriebe

Die Kühe für die Studie wurden auf Betrieben gehalten, die von der Tierärztlichen Ambulanz betreut werden. Außerdem wurden Kühe nach gestörter und ungestörter Geburt untersucht, die zwischen April 2015 und April 2016 in die Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Justus-Liebig-Universität eingeliefert wurden.

### 3.4 Gruppeneinteilung

Es gab drei Gruppen, eine Kontroll-Gruppe (keine Behandlung), eine Gruppe mit Kühen, die an Tag 6 post partum eCG (480 I. E. , 2,1 ml) bekommen haben und eine Gruppe mit Kühen, die an Tag 6 post partum GnRH (21 µg, 5 ml) bekommen haben.

Die Verteilung der Kühe auf die verschiedenen Gruppen findet sich in Tabelle 5.

Tabelle 5: Darstellung der Behandlungsgruppen

Tier-Nr.	Tag der Kalbung	6 Tage post partum	10 Tage post partum	Behandlung	Art der Kalbung
1	05. Mai	11. Mai	15. Mai	eCG	Spontan
2	17. Mai	23. Mai	27. Mai	eCG	Kaiserschnitt

3	28. Mai	03. Juni	07. Juni	eCG	Spontan
4	28. Mai	03. Juni	07. Juni	eCG	Spontan
5	29. Mai	04. Juni	08. Juni	eCG	Kaiserschnitt
6	02. Juni	08. Juni	12. Juni	GnRH	Spontan
7	02. Juni	08. Juni	12. Juni	GnRH	Spontan
8	03. Juni	09. Juni	13. Juni	GnRH	Spontan
9	05. Juni	11. Juni	15. Juni	eCG	Kaiserschnitt
10	06. Juni	12. Juni	16. Juni	eCG	Spontan
11	06. Juni	12. Juni	16. Juni	GnRH	Spontan
12	11. Juni	17. Juni	21. Juni	GnRH	Spontan
13	11. Juni	17. Juni	21. Juni	GnRH	Spontan
14	13. Juni	19. Juni	23. Juni	eCG	Kaiserschnitt
15	15. Juni	21. Juni	25. Juni	GnRH	Fetotomie
16	19. Juni	25. Juni	29. Juni	eCG	Spontan
17	21. Juni	27. Juni	01. Juli	GnRH	Spontan
18	27. Juni	03. Juli	07. Juli	eCG	Spontan
19	28. Juni	04. Juli	08. Juli	GnRH	Spontan
20	28. Juni	04. Juli	08. Juli	GnRH	Spontan
21	29. Juni	05. Juli	09. Juli	eCG	Spontan
22	30. Juni	06. Juli	10. Juli	eCG	Spontan
23	02. Juli	08. Juli	12. Juli	eCG	Kaiserschnitt
24	04. Juli	10. Juli	14. Juli	GnRH	Spontan
25	05. Juli	11. Juli	15. Juli	eCG	Spontan

26	08. Juli	14. Juli	18. Juli	GnRH	Spontan
27	19. Juli	25. Juli	29. Juli	eCG	Kaiserschnitt
28	22. Juli	28. Juli	01. August	GnRH	Spontan
29	26. Juli	01. August	05. August	eCG	Kaiserschnitt
30	28. Juli	03. August	07. August	GnRH	Spontan
31	29. Juli	04. August	08. August	GnRH	Spontan
32	29. Juli	04. August	08. August	eCG	Spontan
33	06. August	12. August	16. August	eCG	Spontan
34	06. August	12. August	16. August	eCG	Spontan
35	06. August	12. August	16. August	GnRH	Kaiserschnitt
36	07. August	13. August	17. August	GnRH	Spontan
37	23. August	29. August	02. September	GnRH	Spontan
38	28. August	03. September	07. September	GnRH	Kaiserschnitt
39	29. August	04. September	08. September	GnRH	Fetotomie
40	02. September	08. September	12. September	eCG	Spontan
41	22. Januar	28. Januar	1. Februar	eCG	Kaiserschnitt
42	3. Februar	9. Februar	13. Februar	eCG	Kaiserschnitt
43	12. Februar	18. Februar	22. Februar	GnRH	Spontan
44	25. Februar	2. März	6. März	eCG	Kaiserschnitt
45	28. Februar	5. März	9. März	GnRH	Kaiserschnitt
46	7. März	13. März	17. März	GnRH	Kaiserschnitt
47	12. März	18. März	22. März	GnRH	Kaiserschnitt
48	9. März	15. März	19. März	eCG	Spontan

49	16. März	22. März	26. März	GnRH	Spontan
50	27. März	2. April	6. April	eCG	Spontan

Bei den Kontrolltieren handelte es sich um Kühe, bei denen im Rahmen des Zuchthygienischen Konsultationsdienstes am 10. Tag post partum Blutproben entnommen wurden.

### 3.5 Präparate

Das verwendete eCG- und GnRH-Präparat stammen beide von der Firma MSD Intervet. Das eCG-Präparat (Intergonan) wurde direkt vor der Behandlung der Kühe durch Auflösen des Pulvers mit dem entsprechenden Lösungsmittel hergestellt. Von diesem 5ml angemischten Präparat wurden 480 I. E. (2.1 ml) eCG in einer 3 ml Spritze aufgezogen und den Tieren intramuskulär verabreicht. Die Behandlung mit GnRH erfolgte durch die Gabe von 5 ml. Die Applikation erfolgte ebenfalls intramuskulär. Bei dem GnRH-Präparat handelte es sich um Receptal (MSD, Intervet). Receptal enthält den Wirkstoff Buserelin. 1 ml Receptal enthält 0,004 mg Buserelin. Jedes Tier erhielt 0,02 mg.

### 3.6 Blutentnahme

Am 6. Tag nach der Geburt wurde von allen Kühen, die ein Hormon erhielten, zur Überprüfung der Stoffwechselsituation Blut aus der Schwanzvene entnommen. Eine zweite Blutprobenentnahme erfolgte im Rahmen der Stoffwechselkontrolle am 10. Tag post partum.

Am Tag 10 nach der Geburt wurde bei allen Kühen der dritten Gruppe im Rahmen des Zuchthygienischen Konsultationsdienstes Blut aus der Schwanzvene entnommen.

Alle Blutproben wurden im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie, und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen untersucht.

### 3.7           Aufbereitung und Lagerung der Proben

Zuerst wurden die Proben mit einer Zentrifuge (ROTINA 35 R) abzentrifugiert vier Minuten bei 4000 U/Minute, um feste Blutbestandteile und Plasma zu trennen.

Das Plasma wurde in beschriftete Sarstedt-Röhrchen umgefüllt und bis zur Hormonbestimmung bei -20 °C eingefroren. Die Bestimmung der GLDH-Aktivität erfolgte ohne Zwischenlagerung.

### 3.8           Labordiagnostische Methoden

#### 3.8.1        Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)-Aktivitätsbestimmung

Die Proben wurden in K-Küvetten mit 500 µl GLDH-Reagenz inkubiert (EPAC-TM 5430). Die richtige Temperatur wird durch ein grünes Licht am Gerät angezeigt. Dann können 100 µl der Plasmaprobe in die K-Küvette pipettiert werden. Der Apparat mischt die Probe aus Plasma und GLDH-Reagenz für 2:00 Minuten (erster Schritt). Dann wird 20 µl von GLDH α-Ketoglutarat(3) (zweite Schritt) zugegeben, und das Tube in das Photometer gesetzt (EPAC 6140 Eppendorf) mit der Methode 14 und mit dem Inkubationsprogramm 2. Das dauert 1:30 Minuten. Die Messzeit beträgt 2:30 Minuten und der Drucker (Eppendorf 6547) druckt die Ergebnisse. Der Normalwert für die GLDH-Aktivität bei Kühen ist < 30 U/L (Moritz, 2014).

Für die vorliegende Arbeit wurde die GLDH-Aktivität am 10. Tag post partum bestimmt.

#### 3.8.2        Estradiol-17β -Bestimmung

Die Bestimmung des Estradiol-17β-Gehalts wurde im endokrinologischen Labor der Klinik für Gynäkologie, Andrologie und Geburtshilfe mit tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt. Als Estradiol-17β wurde 1,3,5,(10)-

Estradien-3,17 $\beta$ -diol definiert. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mittels Radio-Immuno-Assay (RIA) aus dem Blutserum der Kühe. Die fettlösliche Phase des Serums wurde zunächst mit Toluol extrahiert. Nach zwei Inkubationsschritten sowie der Zugabe von radioaktiv markiertem Estradiol-17 $\beta$ , dem sogenannten  $^3\text{H}$ -Tracer, wurde das freie Hormon mithilfe einer eiskalten Kohlesuspension abgetrennt. Nach einer Zentrifugation konnte mittels eines Szintillators dann die Konzentration des markierten Hormons in der Probe ermittelt und somit auf den Gehalt des unmarkierten, im Blut der Kuh vorhandenen Estradiol-17 $\beta$  geschlossen werden. Der Intraassaykoeffizient lag bei 7,4. Der Interassaykoeffizient lag bei 9,9.

### 3.9 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe von Herrn Professor Brandt am Fachbereich Agrarwissenschaften der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt. Dafür wurde das Statistikpaket SPSS, Release 22 verwendet. Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit dem Kolmogorow-Smirnow und Shapiro-Wilk Test.

Es wurden folgende Fragestellungen bearbeitet:

- Kommt es innerhalb der Behandlungsgruppen zu einem Anstieg von Estradiol-17 $\beta$  vom 6. bis zum 10. Tag post partum?
- Unterscheiden sich die Estrogenwerte zwischen den Gruppen?
- Gibt es eine Wechselwirkung zwischen Estrogenanstieg und GLDH-Aktivität?

## 4 Ergebnis

### 4.1 Estradiol-17 $\beta$

Die Ergebnisse der Blutkonzentrationen von Estradiol-17 $\beta$  am Tag 6 post partum sind in Tabelle 6 aufgeführt. Die Werte waren normalverteilt. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Abbildung 1 und 2).

Tabelle 6: Estradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen (pmol/l) bei Kühen am Tag 6 post partum vor der Gabe von eCG und GnRH

<b>Parameter</b>	<b>eCG-Gruppe (n = 25)</b>	<b>GnRH-Gruppe (n = 25)</b>
<b>Mittelwert</b>	29.94	30.82
<b>Standardfehler</b>	2.75	1.75
<b>95% Konfidenzintervall</b>	24.25 - 35.64	27.19 - 34.45
<b>Median</b>	29.40	30.10
<b>Varianz</b>	190.42	77.32
<b>Standardabweichung</b>	13.79	8.79
<b>Minimum</b>	7.34	11.30
<b>Maximum</b>	59.00	47.50

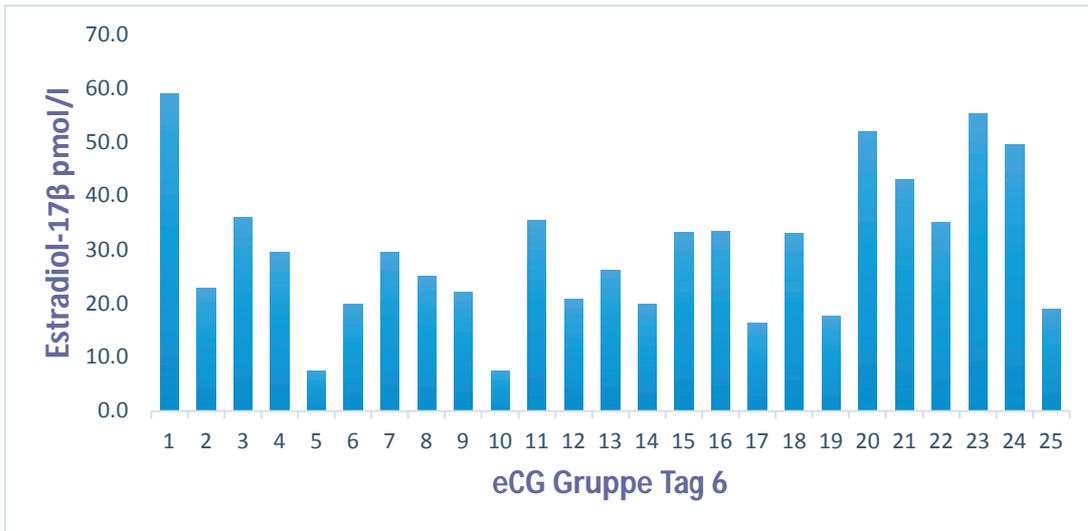


Abbildung 1: Estradiol-17β-Konzentration (pmol / l) bei den Kühen am 6. Tag post partum vor eCG-Behandlung (n = 25)

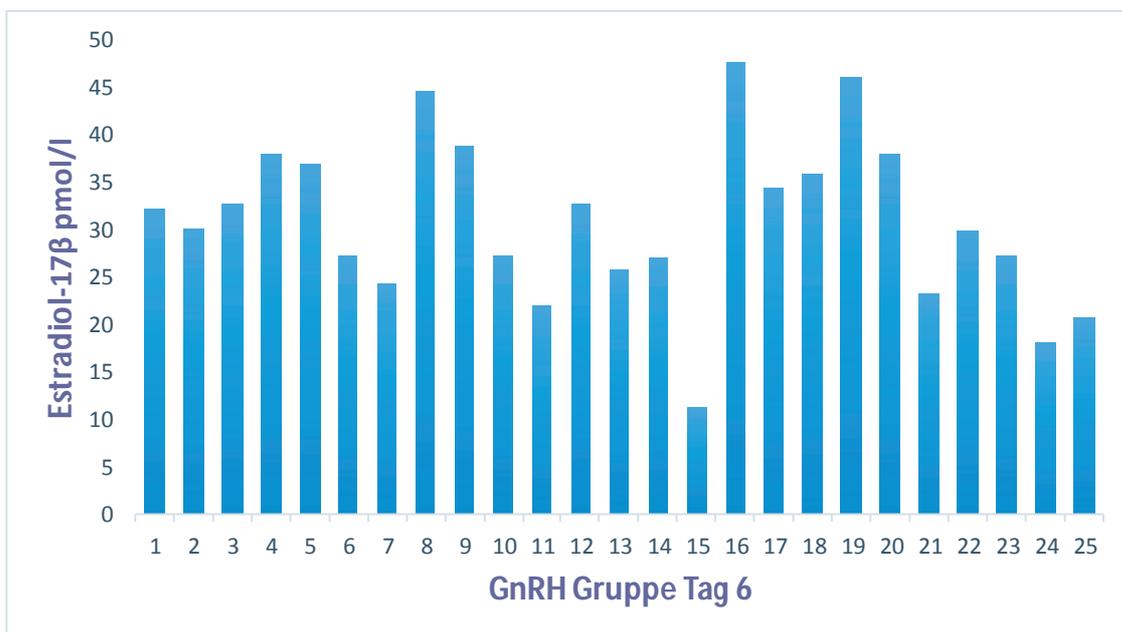


Abbildung 2: Estradiol-17β-Konzentration (pmol / l) bei den Kühen am 6. Tag post partum vor GnRH-Behandlung (n = 25)

Die Ergebnisse der Blutkonzentrationen von Estradiol-17 $\beta$  am Tag 10 sind in Tabelle 7 aufgeführt. Die Werte waren normalverteilt. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Abbildung 3 und 4). Ein Unterschied der Werte der Behandlungsgruppen zur Kontrollgruppe bestand ebenfalls nicht (Abbildung 5).

Tabelle 7: Estradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen (pmol/l) bei Kühen am Tag 10 post partum nach Gabe von eCG oder GnRH

<b>Parameter</b>	<b>eCG-Gruppe (n = 25)</b>	<b>GnRH-Gruppe (n = 25)</b>	<b>Kontrolle (n = 13)</b>
<b>Mittelwert</b>	29.22	29.13	28.95
<b>Standardfehler</b>	3.06	2.52	3.04
<b>95% Konfidenzintervall</b>	22.90 - 35.54	23.91 - 34.34	22.32 - 35.58
<b>Median</b>	27.50	26.60	32.00
<b>Varianz</b>	234.33	159.67	120.39
<b>Standardabweichung</b>	15.30	12.63	10.97
<b>Minimum</b>	9.5	10.9	10.1
<b>Maximum</b>	66.1	61.0	42.07

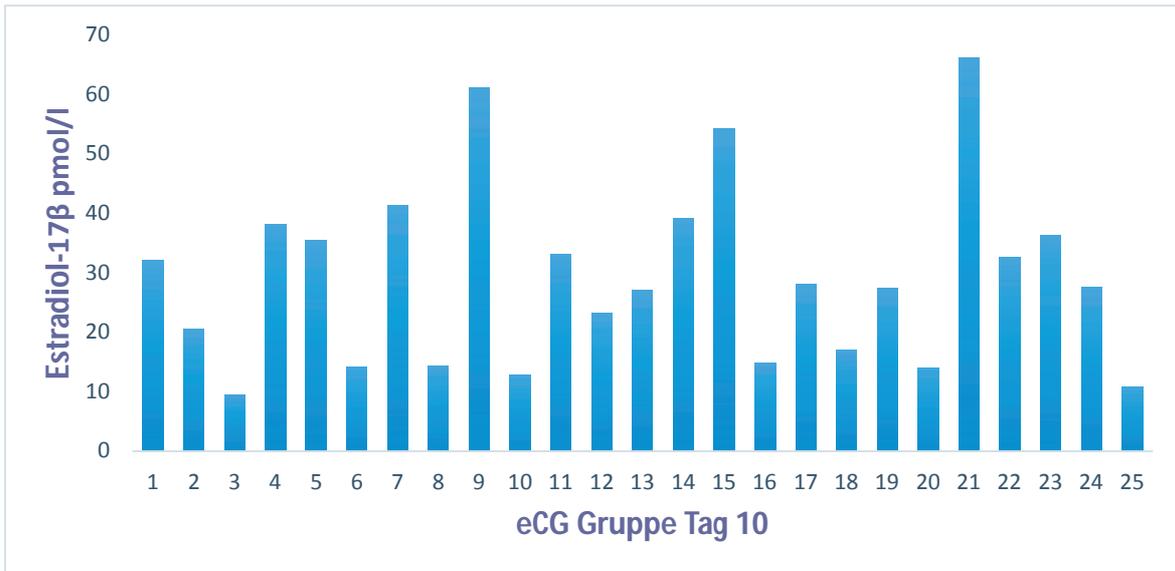


Abbildung 3: Estradiol-17β-Konzentration (pmol / l) bei den Kühen am 10. Tag post partum nach eCG-Behandlung (n = 25)

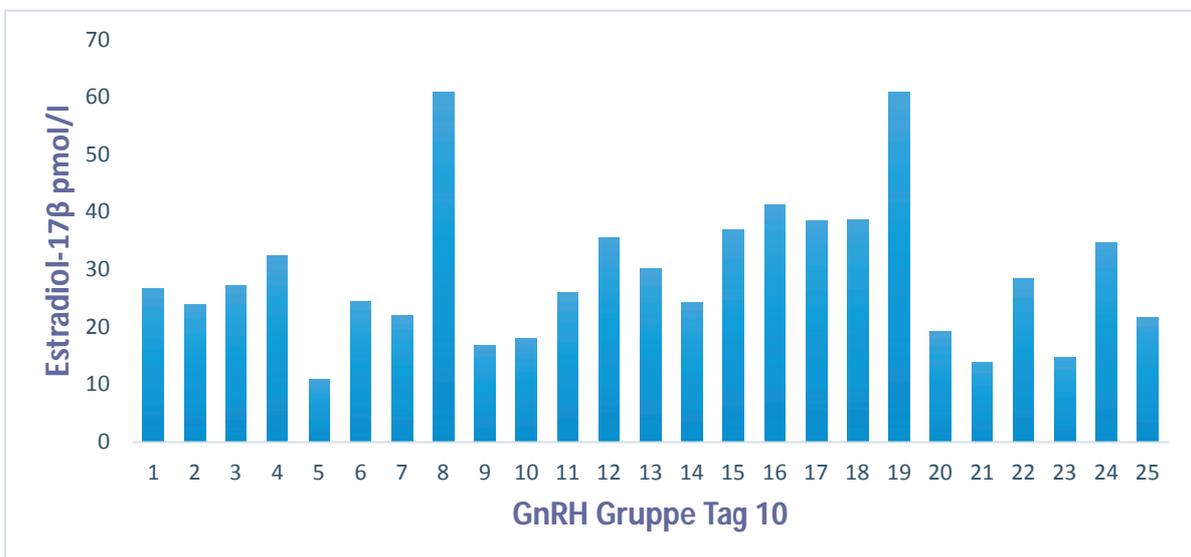


Abbildung 4: Estradiol-17β-Konzentration (pmol / l) bei den Kühen am 10. Tag post partum nach GnRH-Behandlung (n = 25)

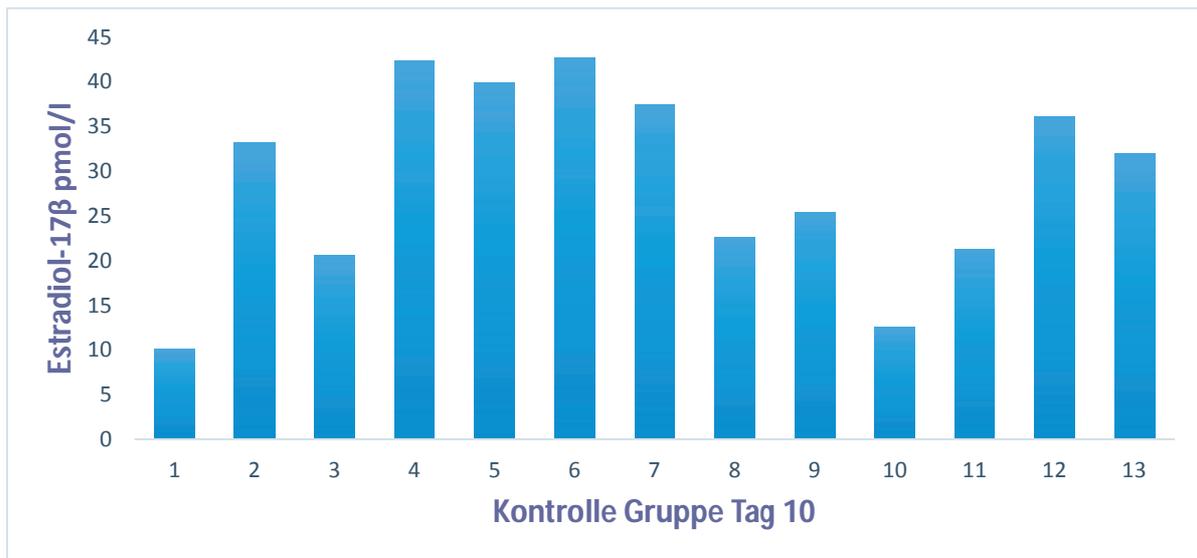


Abbildung 5: Estradiol-17β-Konzentration (pmol / l) bei den Kühen am 10. Tag post partum (n = 13)

Abschließend sind alle Messwerte der Estrogenbestimmung in Tabelle 8 in pg/ml zusammengefasst. Es wird deutlich, dass bei den meisten Kühen nur Basalkonzentrationen vorliegen.

Tabelle 8: Estradiol-17β-Konzentrationen (pg/ml) bei Kühen am 6. und 10. Tag post partum

Tier-Nr.	Behandlung	6 Tage post partum	10 Tage post partum
1	eCG	16.1	8.7
2	eCG	6.2	5.6

3	eCG	9.8	2.6
4	eCG	8.0	10.4
5	eCG	2.0	9.8
6	GnRH	8.8	7.2
7	GnRH	8.2	6.5
8	GnRH	8.9	7.4
9	eCG	5.4	3.8
10	eCG	8.1	11.3
11	GnRH	10.3	8.8
12	GnRH	10.0	3.0
13	GnRH	7.4	6.6
14	eCG	6.8	3.9
15	GnRH	6.6	6.0
16	eCG	6.0	16.7
17	GnRH	12.2	6.6
18	eCG	2.0	3.5
19	GnRH	10.6	4.6
20	GnRH	7.4	4.9
21	eCG	9.6	9.0
22	eCG	5.7	6.3
23	eCG	7.1	7.4
24	GnRH	6.0	7.1
25	eCG	5.4	10

26	GnRH	8.9	9.7
27	eCG	9.1	14.8
28	GnRH	7.0	8.2
29	eCG	9.1	4.1
30	GnRH	7.4	6.6
31	GnRH	3.1	10.1
32	eCG	4.5	7.6
33	eCG	9.0	4.6
34	eCG	4.8	7.5
35	GnRH	12.9	11.2
36	GnRH	9.3	10.5
37	GnRH	9.8	10.6
38	GnRH	12.6	16.6
39	GnRH	10.4	5.2
40	eCG	14.2	3.8
41	eCG	11.7	18.0
42	eCG	9.6	8.9
43	GnRH	6.3	3.8
44	eCG	15.1	9.9
45	GnRH	8.1	7.7
46	GnRH	7.4	4.0
47	GnRH	4.9	9.5
48	eCG	13.5	7.5

49	GnRH	5.6	5.9
50	eCG	5.1	2.9
51	Kontrolle		2.8
52	Kontrolle		9.0
53	Kontrolle		5.6
54	Kontrolle		11.5
55	Kontrolle		10.9
56	Kontrolle		11.6
57	Kontrolle		10.2
58	Kontrolle		6.1
59	Kontrolle		6.9
60	Kontrolle		3.4
61	Kontrolle		5.8
62	Kontrolle		9.8
63	Kontrolle		8.7

#### 4.2 GLDH-Aktivität

Die Ergebnisse der Bestimmung der GLDH-Aktivität am 10. Tag post partum sind in Tabelle 9 aufgeführt. Die Werte waren normalverteilt. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

Tabelle 9: GLDH-Aktivität am 10. Tag post partum bei Kühen nach eCG oder GnRH-Behandlung.

<b>Parameter</b>	<b>eCG-Gruppe (n = 25)</b>	<b>GnRH-Gruppe (n = 25)</b>
<b>Mittelwert</b>	15.28	23.00
<b>Standardfehler</b>	2.92	6.63
<b>95% Konfidenzintervall</b>	9.24 - 21.32	9.30 - 36.70
<b>Median</b>	11.00	9.00
<b>Varianz</b>	213.54	1101.50
<b>Standardabweichung</b>	14.61	33.18
<b>Minimum</b>	2.0	4.0
<b>Maximum</b>	68.0	135.0

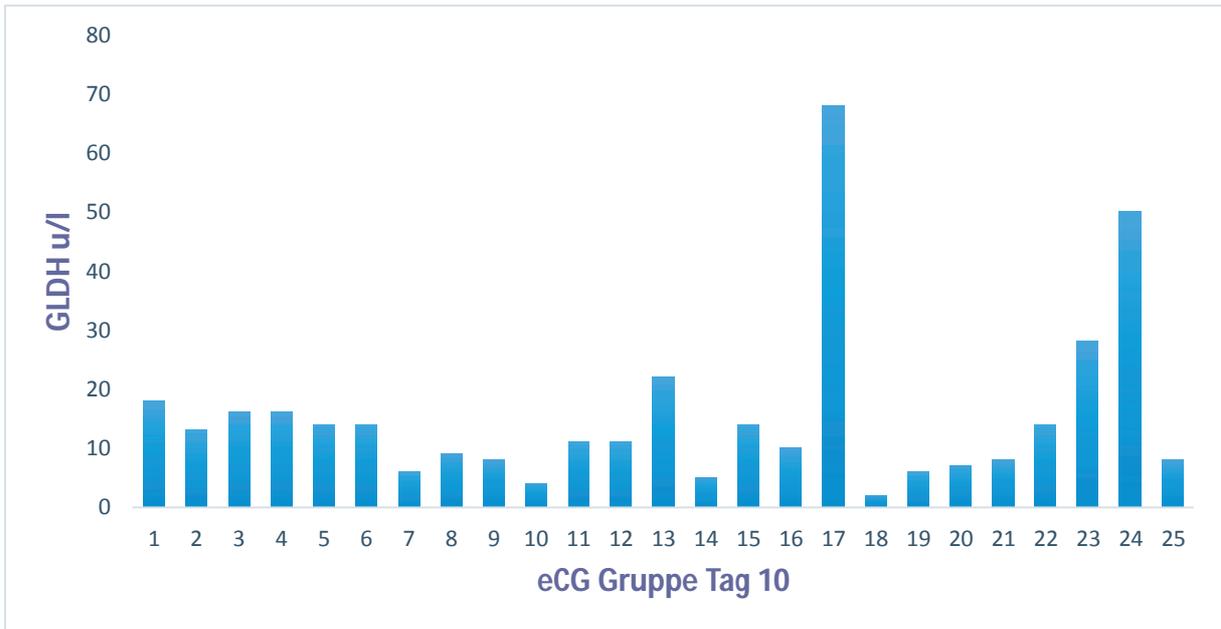


Abbildung 6: GLDH-Aktivität (U/L) bei den Kühen am 10. Tag post partum nach eCG-Behandlung (n = 25)

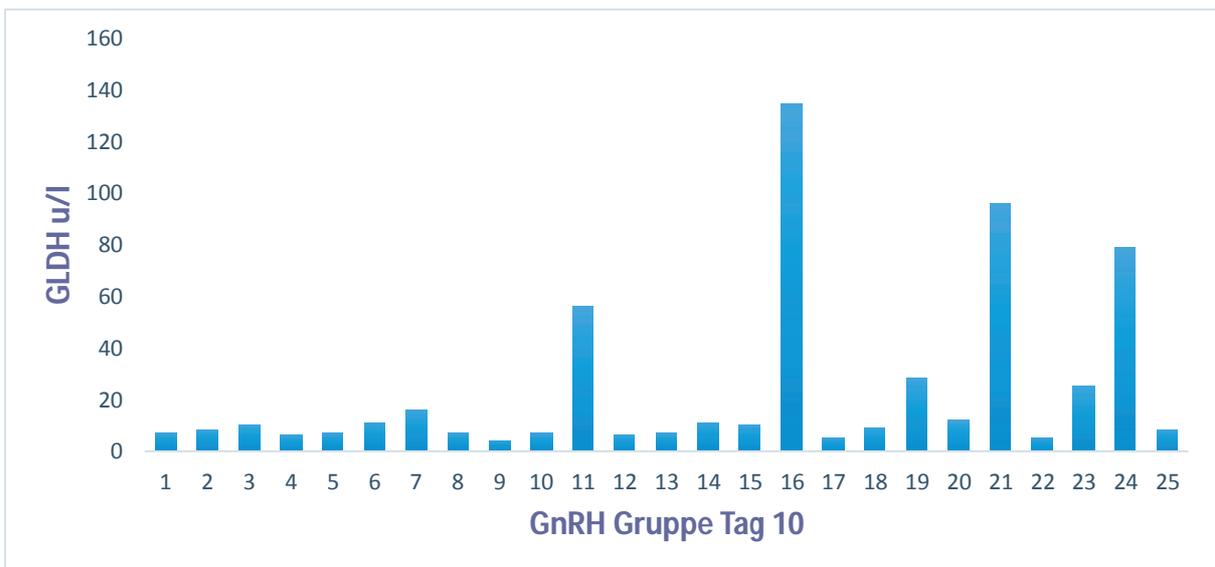


Abbildung 7: GLDH-Aktivität (U/L) bei den Kühen am 10. Tag post partum nach GnRH-Behandlung (n = 25)

#### 4.3 Statistische Analyse

Die univariate Varianzanalyse konnte keinen statistisch signifikanten Einfluss der Gruppe (eCG-Behandlung, GnRH-Behandlung) auf die Estradiol 17 $\beta$ -Konzentration nachweisen (Tabelle 10). Ein Unterschied zur Kontrollgruppe am 10. Tag post partum bestand nicht.

Tabelle 10: Veränderung der Estradiol 17 $\beta$ -Konzentration (pg / ml) bei Kühen nach eCG- und GnRH-Behandlung zwischen Tag 6 und Tag 10 post partum.

<b>Parameter</b>	<b>eCG-Gruppe (n = 25)</b>	<b>GnRH-Gruppe (n = 25)</b>
<b>Mittelwert</b>	-0.72	-1.69
<b>Standardfehler</b>	3.80	2.39
<b>95% Konfidenzintervall</b>	-8.57 - 7.13	-6.62 - 3.24
<b>Median</b>	-2.10	-2.80
<b>Varianz</b>	362.23	142.99
<b>Standardabweichung</b>	19.03	11.95
<b>Minimum</b>	-38.00	-25.90
<b>Maximum</b>	39.00	25.60

Ein Zusammenhang zwischen der GLDH-Aktivität und der Estrogenkonzentration bestand nicht.

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Fragestellung

Gebärmutterinvolutionsstörungen in den ersten zehn Tagen post partum sind ein großes Problem in der Milchviehhaltung. Präventive Maßnahmen umfassen die Vermeidung von Risikofaktoren auf dem Gebiet der Fütterung, Haltung und dem Management. Wenn Gebärmuttererkrankungen auftreten, müssen sie jedoch adäquat behandelt werden. Die antibiotische Therapie ist in ihrer Wirkung umstritten, zudem muss es Ziel sein den Antibiotikumsatz in der Veterinärmedizin zu verringern. In der Vergangenheit wurde häufig Prostaglandin zur Förderung der Uterusinvolutionsstörung und zur Behandlung von puerperalen Uterusinvolutionsstörungen eingesetzt, heute ist bekannt dass diese Stoffgruppe keine Wirkung zeigt, solange kein Gelbkörper auf dem Ovar vorhanden ist (Richterich und Wehrend, 2009).

Es ist bekannt, dass sich eine frühe Ovaraktivität auf die Uterusinvolutionsstörung auswirken kann (Hussein, 1989). Dabei sind es vor allem die steigenden Estrogenkonzentrationen, die sich positiv auswirken. Estrogene führen zu einer Steigerung der intrauterinen Abwehr (Rowson et al., 1953). Aus diesem Grund wurde das Konzept entwickelt, durch die Gabe von GnRH im Puerperium, die Ovaraktivität anzuregen (Bostedt et al. 1979). Es hat sich jedoch gezeigt, dass die Behandlung innerhalb der ersten zehn Tage nach der Geburt in der Regel nicht sicher zu einer Anregung der Ovaraktivität führt (Seidel, 2007). Trotzdem ist die GnRH-Gabe derzeit die einzige Möglichkeit, die Ovaraktivität im frühen Puerperium anzuregen, wenn auch mit geringem klinische Erfolg (Haß, 2013). Es muss an dieser Stelle betont werden, dass bisher eine befriedigende Möglichkeit die Uterusinvolutionsstörung beim Rind im frühen Puerperium anzuregen fehlt.

Durch zwei Veröffentlichungen aus dem Iran konnte gezeigt werden, dass die Gabe von eCG am 6. Tag post partum die Reproduktionsleistung von Milchkühen verbessert werden kann (Rostami et al., 2011; Vojgani et al., 2013). Wenn sich diese Behandlung in weiteren Studien und Beobachtungen als wirkungsvoll erweist, würde mit der eCG-Gabe eine Möglichkeit bestehen im Frühpuerperium die Ovaraktivität positiv anzuregen. Dies hätte positive Auswirkungen auf die Uterusinvolutionsstörung. In beiden Arbeiten wurde jedoch nach der Injektion des eCG kein Estrogen im Blut

gemessen. Das heißt, der Beweis einer Anregung der Ovaraktivität durch die Gabe von eCG am 6. Tag nach der Geburt fehlt. Es wird die Hypothese aufgestellt, dass bei einer Anregung des Follikelwachstums auf dem Ovar durch die eCG-Gabe der Estrogenwert im Blut ansteigen muss. Diese Hypothese sollte in der vorliegenden Arbeit überprüft werden.

## 5.2 Diskussion der Methode

Im Gegensatz zu den Studien von Rostami et al. (2011) und Vojgani et al. (2013) erfolgte keine Beurteilung des klinischen Zustandes der Genitalorgane und der außerhalb des Puerperiums liegenden Fruchtbarkeitskennzahlen, da im Mittelpunkt der Arbeit die Frage stand, ob es durch die Gabe von eCG, welches beim Rind in erster Linie FSH-Wirkung hat, zu einer Anregung der Estrogenbildung kommt. In einer laufenden Studie (Dissertation Hofer) wird unter Feldbedingungen überprüft, ob die Hormonbehandlung klinische Auswirkungen hat.

Zur Hormonbestimmung standen Blutproben zur Verfügung, die im Rahmen der Stoffwechselüberwachung von Kühen entnommen wurden. Dabei wurden die Blutproben von Kühen, die eCG erhalten haben, mit Blutproben von Kühen, die GnRH erhalten haben verglichen. Aus der Tätigkeit des Zuchthygienischen Konsultationsdienstes standen weiterhin Blutproben von unbehandelten Tieren, die am zehnten Tag entnommen wurden, zur Verfügung. Diese wurden zum Vergleich der Estrogenwerte behandelter und unbehandelter Kühe verwendet.

Beide Präparate (eCG und GnRH-Analogen) sind zur Anregung der Ovarfunktion beim Rind im Puerperium zugelassen. Daher erschien es sinnvoll beide Behandlungsoptionen miteinander zu vergleichen.

In die Studien wurde dabei eine Gruppe von sehr unterschiedlichen Kühen eingeschlossen. Dies soll absichtlich die Heterogenität von Kühen in einem tierärztlichen Klientel zeigen. Bei der Gegenüberstellung der Estrogenwerte vom 6. und 10.Tag der individuellen Kühe zeigt sich jedoch, dass es bei keiner Kuh zu einer Steigerung der Estrogenwerte in den präovulatorischen Bereich gekommen ist.

In den beiden iranischen Studien (Rostami et al., 2011; Vojgani et al. 2013) wurden nur klinisch gesunde Kühe aufgenommen. Dies erschien uns nicht sinnvoll, da ein Therapieschema zur Anregung der Ovarfunktion, um dadurch die Uterusinvolution zu fördern, gerade bei Tieren nach Schweregeburt notwendig ist.

Die Wirkung von eCG auf das Rinderovar ist dosisabhängig (De Renis und López-Gatiús, 2014). Dosierung um 1000 I. E. und darüber führen zu multiplen Ovulationen. Dies sollte in der eigenen Arbeit verhindert werden. Deshalb wurde eine Dosierung von 480 I. E. gewählt. Diese ist den 500 I. E. die in den iranischen Arbeiten zum Einsatz kam (Rostami et al., 2011; Vojgani et al. 2013) vergleichbar.

Die Wahl des Tages 6 post partum erfolgte, um eine Vergleichbarkeit mit den Studien von Rostami et al. (2011) und Vojgani et al. (2013) zu erzielen. Nach Beam und Butler (1997) können beim Rind am 5. bis 7. Tag wachsende Tertiärfollikel auf den Eierstöcken nachgewiesen werden. Diese Follikel sollen für FSH ansprechbar sein.

Es ist bekannt, dass Leberschädigungen zu einer Beeinflussung der Fortpflanzungsleistung führen können. Daher wurde die Aktivität der GLDH in die Studie einbezogen. Die GLDH ist beim Wiederkäuer ein leberspezifisches Enzym (Moritz, 2014).

### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

Weder die Behandlung mit GnRH noch die Behandlung mit eCG führte zu einer Steigerung der Estradiol  $17\beta$ -Konzentration –hier verwendet als Marker für eine Ovaraktivitätsanregung bzw. für Follikelwachstum. Während die Ergebnisse für die GnRH-Behandlung nicht verwundern, da Seidel (2007) zu den gleichen Resultaten gekommen ist, waren die Ergebnisse für die eCG-Behandlung nicht zu erwarten gewesen. So konnten Rostami et al. (2011) durch die Gabe von 500 I. E. eCG am gleichen Tag post partum eine Anregung des Follikelwachstums induzieren. Nach der Behandlung konnten am  $10,1 \pm 0,5$  Tag Follikel mit einem Durchmesser von  $\geq 10$  mm sonographisch nachgewiesen werden. Ein derartiger Follikeldurchmesser ist mit erhöhten Estrogenwerten verbunden. Leider haben die Autoren in ihrer Studie keine Estrogene gemessen.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Hormonwerte sprechen gegen jede Anregung des Follikelwachstums. Als Ursache für die differenten Ergebnisse kommen folgende Aspekte in Frage:

- Auswahlkriterien der Kühe: In die eigene Studie sind auch Tiere nach Dystokie aufgenommen worden. Rostami et al. (2011) haben streng gesunde Tiere selektiert.
- Milchleistung der Kühe: Es ist möglich, dass die Milchleistung der Kühe im Durchschnitt höher lag als in der iranischen Studie, die keine Angaben zur Milchleistung der Kühe gibt.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass eCG nicht zur Anregung der Ovarfunktion im Sinne einer Förderung des Follikelwachstums am 6. Tag post partum eingesetzt werden sollte. Es bleibt die Frage offen, ob eine spätere Gabe (z. B. am 10.Tag) zu besseren Ergebnissen führt. Auch ist es möglich die Dosierung zu erhöhen. So sollen Dosierungen zwischen 200 und 1000 I. E. Einzelovulationen induzieren können (De Rensis und Lopez-Gatius, 2014).

## 6 Zusammenfassung

Ziel des Dissertationsvorhabens ist es, die Hypothese zu überprüfen, dass durch die Gabe von equinem Choriongonadotropin (eCG) am 6. Tag post partum die Ovaraktivität bei der Milchkuh positiv beeinflusst werden kann.

Die Untersuchung wurden an 63 Kühen unterschiedlicher Rassen mit ungestörtem und gestörtem Puerperium bis zum 10. Tag post partum durchgeführt.

Es gab drei Gruppen von Tieren: Kontroll-Gruppe (keine Behandlung, n = 13), eine Gruppe mit Kühen, die an Tag 6 post partum eCG (480 I. E.) erhielten (n = 25), eine Gruppe mit Kühen, die an Tag 6 post partum GnRH (21µg) (n = 25) appliziert bekamen.

Am 6. Tag und 10. Tag nach der Geburt wurde von den Kühen der beiden Behandlungsgruppen Blut aus der Schwanzvene entnommen. Am Tag 10 nach der Geburt wurde bei allen Kühen (Behandlungsgruppen und Kontrollgruppen) Blut aus der Schwanzvene entnommen.

Es wurde überprüft, ob die Estradiol-Konzentrationen der Kühe in den Behandlungsgruppen von Tag 6 zu Tag 10 ansteigt und ob am Tag 10 zwischen den Behandlungsgruppen und der Kontrollgruppe Unterschiede vorliegen. Weiterhin wurde überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen der Estrogenkonzentration an Tag 10 und der GLDH-Aktivität vorliegt.

Folgende Ergebnisse konnten erzielt werden:

- In keiner Behandlungsgruppe konnte ein signifikanter Estrogenanstieg ermittelt werden.
- Unterschiede zwischen den drei Gruppen lagen nicht vor.

Es kann geschlussfolgert werden, dass die Gabe von eCG am 6. Tag post partum nicht zu einer Anregung der Ovarfunktion führt.

## 7 Summary

Objective of this study was to examine the hypothesis if a treatment with equine choriongonadotropin (eCG) during the first 6 days after calving may influence the ovarian activity.

The study was performed in 63 post parturient cows of different breeds until day 10 of puerperium.

Animals were divided in 3 groups, a control group (no treatment = 13), a group of cows receiving eCG (480 I. E.) (n = 25) and one group of cows receiving GnRH (21 µg) (n = 25) at day 6 of puerperium respectively.

At day 6 and 10 after calving blood was taken out of the tail veins of both treatment groups. It was examined if a rise of the estrogen concentration could be detected between day 6 and 10 in the treated cows and the result was compared with the control group.

Additionally a correlation between the GLDH-activity and estradiol concentrations was determined in all cows.

Following results were determined:

- The estradiol concentrations were compared between groups at day 10 of puerperium, but no differences could be shown.
- no differences in all three groups could be detected.

It may be concluded that an eCG treatment at day 6 post partum does not stimulate ovarian activity.

## 8 Literaturverzeichnis

Aboul-ela, M. B., El-Keraby, F.E. (1986): The effect of Treatment with a GnRH Analogue on post partum Reproductive Performance in Friesian Cows. *Anim. Rep. Sci.* 12, 99-107.

Afsari Akbarabadi, M., Karami Shabankareh, H., Abdolmohammadi, A., Shabsavari, M.H. (2014): Effect of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH on the reproductive performance of postpartum dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed artificial insemination during the warm or cold periods of the year. *Theriogenology* 82, 509-516.

Andrade, L., Rhind, S.M., Wright, A.I., McMillen, S.R., Goddard, P.J., Bramley, T.A. (1995): Effects of infusion of GnRH pulses and level of body condition on ovarian function in postpartum beef cows. *Anim. Reprod. Sci.* 40, 177-192.

Arteche, A.C. M., Thatcher, W.W., Archbald, L.F. (2005): Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63, 1026-1037.

Baier, W., Berchold, M. (1984): Physiologie des Puerperiums. In: Baier W., Schaetz F. (Hrsg.), *Tierärztliche Geburtskunde*, 5. Auflage, Verlag Fischer, Jena, 214-215.

Barolome, J.A., Perez Wallace, S., de la Sota, R.L., Thatcher, W.W. (2012): The effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 78, 1110-1116.

Bartolome, J.A., Melendez, P., Kelbert, D., Swift, K., McHale, J., Hernandez, J., Silvestre, F., Risco, C.A., Arteché, A.C.M., Thatcher, W.W., Archbald, L.F. (2005): Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63, 1026–1037.

Beam, S.W., Butler, W.R. (1997): Energy balance and ovarian follicle development prior the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56, 132-142.

Beckers, J.F. (2006): Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 66, 1811-1815.

Berchold, M., Küpfer, U., Kupferschmied, H., Müller, R. (1979): Hormone und KB. SVZ Information, Schweiz. Vereinigung Zuchthyg. Besam.

Bergamaschi, M., Vicente, W., Barbosa, R., Machado, R., Baruselli, P., Alencar, M., Binelli, M. (2004): Effects of equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) on ovarian dynamics in Nelore cows. *Anim. Rep. Sci.* 82-83, 479-486.

Bin Fu, S., Riaz, H., Kasib Khan, M., Lin Zhang, H., Gua Chen, J., Guo Yang, L. (2014): Influence of Different Doses of Equine Chorionic Gonadotropin on Follicular Population and Plasma Estradiol Concentration in Chinese Holstein Dairy Cows. *Int. J. Agric. Biol.* 16, 427-430.

Bondurant, R.H. (1999): Information in the Bovine Female Reproductive Tract. *J. Anim. Sci.* 77, 101-110.

Bostedt, H., Peche, E., Strobl, K. (1979): Zur Auswirkung frühzeitig post partum verabreichter GnRH-Gaben auf Puerperalverlauf und Konzeptionsergebnis bei Kühen nach Retentio secundinarum. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 184-188.

Bostedt, H., Schels, H., Günzler, D. (1979): Klinische und bakteriologische Befunde am Genitaltrakt von Rindern nach gestörten Geburten in den ersten drei Wochen des Puerperiums. Zbl. Vet. Med. B. 26, 397-412.

Bosu, W.T.K., Peter, A.T., De Decker, R.J. (1988): Short-term Changes in Serum Luteinizing Hormone, Ovarian Response and Reproductive Performance Following Gonadotrophin Releasing Hormone Treatment in Postpartum Dairy Cows with Retained Placenta. Can. Vet. Res. 52, 165-171.

Bridges, J.P., Taft, R., Lewis, P.E., Wagner, W.R., Inskeep, E.K. (2000): Effect of the previously gravid uterine horn and postpartum interval on follicular diameter and conception rate in beef cows treated with estradiol benzoate and progesterone. J. Anim. Sci. 78, 2172-2176.

Britt, J.H. (1975): Gonadotropin-releasing-hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in early postpartum dairy cows. Proc. AABP, W. Lafayette, Ind., 72-75.

Britt, J.H., Kittok, R.J., Harrison, D.S. (1974): Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early post partum cows. J. Anim. Sci. 39, 915-919.

Bryan, M.A., Bo, G., Mapletoft, R.J., Emslie, F.R. (2012): The use of equine chorionic gonadotropin in the treatment of anestrus dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. J. Dairy Sci. 96, 122-131.

De Rensis, F., López-Gatiús, F. (2014): Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reprod. Domest. Anim.* 49(2), 177-182.

Dias, C.C., Wechsler, F.S., Day, M.L., Vasconcelos, J.L.M. (2009): Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology* 72, 378-385.

Döcke, F. (1994): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*. Jena/Stuttgart: Gustav Fischer-Verlag, Kapitel 6, 167-176.

Duffy, P., Crowe, M.A., Autin, E.J., Mihm, M., Boland, M.P., Roche, J.F. (2004): The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early postpartum beef cows nursing calves. *Theriogenology* 61, 725-734.

Eulenberger, K. (1993): Puerperium. In: Busch W., Schulz J. (Hrsg.), *Geburtshilfe bei Haustieren*, Gustav-Fischer-Verlag Jena und Stuttgart, 239-251.

Fernandes, L.C., Thatcher, W.W., Wilcox, C.J., Call, E.P. (1978): LH release in response to GnRH during the post partum period of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 46, 443-448.

Fonseca, F.A., Britt, J.H., Kosugiyama, M., Ritchie, H.D., Dillard, E.U. (1979): Ovulation, Ovarian Function, And Reproductive Performance after Treatment with GnRH in postpartum Suckled Cows. *Theriogenology* 13,171-181.

Foote, R.H. and Riek, P.M. (1999): Gonadotropin-releasing hormone improves reproductive performance of dairy cows with slow involution of the reproductive tract. *J. Anim. Sci.* 77, 12-16.

Foster, J.P., Lamming, G.E., Peters, A.R. (1980): Short-term relationships between plasma LH, FSH and progesterone concentrations in post partum dairy cows and effect of GnRH injection. *J. Reprod. Fert.* 59, 321-327.

Gautam, G., Nakao, T., Yamada, K., Yoshida, C. (2010a): Defining delayed resumption of ovarian activity postpartum and its impact on subsequent reproductive performance in Holstein cows. *Theriogenology* 73, 180-189.

Gong, J.G., Bramley, T.A., Gutierrez, C.G., Peters, A.R., Webb, R. (1995): Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentration of FSH and LH, and ovarian function in heifers. *J. Reprod. Fert.* 105, 263-270.

Grunert, E. and Zerbe, H. (1999): Grundlagen der Hormontherapie. Regulation der Sexualfunktionen. Im: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Herausgegeben von E. Grunert und A. de Kruif, Parey-Verlag, Berlin, 165-167.

Gümen, A. and Seguin, B. (2003): Ovulation rate after GnRH or PGF2 $\alpha$  administration in early post partum dairy cows. *Theriogenology* 60, 341-348.

Haß, S. (2013): Auswirkung zweier verschiedener Hormonbehandlungen im Frühpuerperium auf den weiteren Puerperalverlauf und die Fruchtbarkeit des Milchrindes. Dissertationsschrift, VVB Lauferweiler Verlag, Giessen.

Hemeida, N.A., Gustafsson, B.K., Whitmore, H.L. (1986): Therapy of uterine infections: Alternatives to antibiotics. In: Morrow D.A. (Hrsg.), Current therapy in *Theriogenology* 2 – Diagnosis, treatment and prevention of reproductive disease in small and large animals, WB Saunders Company, Philadelphia, 45-47.

Hoffman, B. and Karg, H. (1978): Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology* 10, 453-468.

Hoffmann, B. (1982): Regulation der Sexualfunktionen. Im: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Herausgegeben von Eberhard Grunert und Aart de Kruif, Parey-Verlag, Berlin, 23-26.

Hoffmann, B. (1993): Hormonale Kontrolle der Geburt. In: Richter J., Götze R. (Hrsg.), Tiergeburtshilfe, 4. Auflage, Parey-Verlag, Hamburg und Berlin, 116-120.

Hussein, A. M. (1989): Bovine uterine defense mechanisms: a review. *J. Vet. Med.* 36, 641-651.

Hussein, F.M., Eilts, B.E., Paccamonti, D.L., Younis, M.Y. (1992): Effect of repeated injections of GnRH on reproductive parameters in postpartum anestrous dairy cows. *Theriogenology* 37, 605-617.

Jainudeen, M.R., Hafez, E.S.E., Gollnick, P.D., Moustafa, L.A. (1966): Antigonadotropins in the serum of cows following repeated therapeutic pregnant mare serum injections. *Am. J. Vet. Res.* 27, 669-675.

Jubb, T.F., Abhayratne, D., Malmo, J., Anderson, G.A. (1990): Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotrophin-releasing-hormone 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. *Austr. Vet. J.* 67, 359-361.

Kamimura, S., Ohgi, T., Takahashi, M., Tsukamoto, T. (1993): Postpartum Resumption of Ovarian Activity and Uterine Involution Monitored by Ultrasonography in Holstein Cows. *J. Vet. Med. Sci.* 55 (4), 643-647.

Kessler, D.J., Garverick, H.A., Youngquist, R.S., Elmore, R.G., Bierschwal, C.J. (1978): Ovarian and endocrine responses and reproductive performance following GnRH treatment in early post partum dairy cows. *Theriogenology* 78, 363-369.

Kindahl, H., Edqvist, L.E., Larsson, K., Malmqvist, A. (1982): Influence of prostaglandins on ovarian function postpartum. In: Karg H. and E. Schallenberger (Eds.): *Factors Influencing the Postpartum Cow*. The Hague/Boston: Martinus Nijhoff, 173-196.

Knickerbocker, J.J., Drost, M., Thatcher, W.W. (1986): Endocrine patterns during the initiation of puberty, the estrus cycle, pregnancy and parturition in cattle. In: Morrow D. A. (Hrsg.), *Current therapy in theriogenology 2 - Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals*, WB Saunders Company, Philadelphia, 117-125.

Kyle, S.D., Callahan, C.J., Allrich, R.D. (1992): Effect of Progesterone on the Expression of Estrus at First Postpartum Ovulation in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 75, 1456-1460.

Louwerens, B. (1970): Einige Bemerkungen zur Pharmakologie der gonadotropen Hormone. *Acta Endocrinol., Suppl.* 148, 46-51.

Mann, G. and Lamming, G. (1995): Effects of treatment with buserelin on plasma concentrations of oestradiol and progesterone and cycle length in the cow. *Br. Vet. J.* 151(4):427-432.

Mona e Pinto, J., Pavanelo, V. Jr., Alves de Fátima, L., Medeiros de Carvalho Sousa, L.M., Pacheco Mendes, G., Machado Ferreira, R., Ayres, H., Sampaio Baruselli, P., Palma Rennó, F., de Carvalho Papa, P. (2014): Treatment with eCG decreases the vascular density and increases the glandular density of the bovine uterus. *Reprod. Domest. Anim.* 49 (3):453-462.

Moritz, A. (2013): *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer-Verlag, München, 761.

Moura, C.E., Rigoglio, N. N. , Braz, J. K. , Machado, M., Baruselli, P. S., de Carvalho Papa, P. (2015): Microvascularization of corpus luteum of bovine treated with equine chorionic gonadotropin. *Microsc. Res Tech.* 78 (9), 747-753.

Murphy, M.G., Boland, M.P. Roche, J.F. (1990): Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *J. Reprod. Fert.* 90, 523-533.

Nash, J.G. (1980): Effects on reproductive performance of administration of GnRH to early postpartum dairy cows. *J. Anim. Sci.* 50, 1017-1021.

Nation, D.P., Burke, C.R., Rhodes, F.M., Macmillan, K.L. (1999): The interovarian distribution of dominant follicles is influenced by the location of the corpus luteum of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 56, 169-176.

Noakes, D. E. (2009): Involution. In: Noakes D.E., Parkinson T.J., England C.W. (Hrsg.), *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 9th Edition, Saunders, 194-205.

Nunez-Olivera, R., De Castro, T., Garcia-Pintos, C., Bo, G., Piaggio, J., Menchaca, A. (2014): Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol based treatment in postpartum anestrous beef cattle. *Anim. Rep. Sci.* 146, 111-116.

Padula, A.M. and Macmillan, K.L. (2005): Observations on the reproductive effects of once or twice weekly injections for 6 weeks of the GnRH agonist deslorelin in the cow. *Anim. Rep. Sci.* 85, 223-230.

Peter, A.T. and Bosu, W.T.K. (1988): Influence of intrauterine infections and follicular development on the response to GnRH administration in post partum dairy cows. *Theriogenology* 29, 1163-1175.

Peters, A.R. (2005): Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy. *Anim. Rep. Sci.* 88, 155-167.

Peters, A.R., Lamming, G.E. (1986): Regulation of ovarian function in the postpartum cow: an endocrine model. *Vet. Rec.* 118, 236-239.

Peters, A.R., Riley, G.M. (1982): Pulsatile LH secretion and its induction in postpartum beef cows. In: Karg H., Schallenberger E. (Hrsg.), *Factors Influencing Fertility in the Post-Partum Cow*, The Hague, Boston/London, 225-228.

Pursley, J. R., Mee, M.O., Witbank, M.C. (1995): Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology* 44, 915-923.

Richardson, G.F., Arichbald, L.F., Galton, D.M., Godke, R.A. (1983): Effect of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  on reproduction in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 19, 763-770.

Richterich, P. and A. Wehrend (2009): Einsatz von Prostaglandinen bei Färsen und Kühen – eine Literaturübersicht. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2009 37 2: 81-90.

Rivera, H., Sterry, R.A., Fricke, P.M. (2006): Presynchronization with Gonadotropin-Releasing Hormone Does Not Improve Fertility in Holstein Heifers. *J. Dairy Sci.* 89, 3810-3816.

Roche, J.F. (2006): The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 96, 282-296.

Roche, J.F., Mackey, D., Diskin, M.D. (2000): Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Rep. Sci.* 60-61, 703-712.

Roche, J.F., Mihm, M., Diskin, M.D. (1996): Physiology and practice of induction and control of oestrus in cattle. 19. World Buiatrics Congr., Edinburg, Proc., Vol. 1, 157-163.

Rostami, B., Niasari-Naslaji, A., Vojgani, M., Nikjou, D., Amanlou, H., Gerami, A. (2011): Effect of eCG on early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 128, 100-106.

Rowson, L.A.E., Lamming, G.E., Fry, R.M. (1953): The relationship between ovarian hormones and uterine infection. *Vet. Rec.* 7, 335-340.

Savio, J.D., Boland, M.P., Hynes, N., Roche, J.F. (1990): Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 88, 569-579.

Schallenberger, E. (1990): Charakterisierung von Sekretionsrhythmen der Gonadotropine und Ovarsteroiden während des Brunstzyklus, der Gravidität und post partum beim Rind. Berlin/Hamburg: Paul Parey (Fortschr. Veterinärmed. 1990, Nr. 40).

Schallenberger, E. and Prokopp, S. (1985): Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. IV. Re-establishment of the stimulatory feedback action of oestradiol-17 $\beta$  on LH and FSH. *Acta Endocrinol (Copenh)*.109, 44-49.

Schallenberger, E., Oerterer, U., Hutterer, G. (1982): Neuroendocrine regulation of postpartum function. In: Karg H., Schallenberger E. (Hrsg.), Factors Influencing Fertility in the Post-Partum Cow, The Hague, Boston/London, 123-147.

Schams, D., Menzer, C., Schallenberger, E., Hoffmann, B., Hahn, J., Hahn, R. (1978): Some studies on pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle. In: Sreenen, J.M. (Ed): Control of reproduction in the Cow. The Hague/Boston: Martinus Nijhoff, P. 122-143 (Current topics in veterinary medicine, Vol. 1).

Schams, D.E., Schallenberger, C., Menzer, J., Stangl, K., Zottmeier, B., Scheldon, I.M., Dobson, H. (1993): Effect of gonadotrophin-Releasing-hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. Vet. Rec. 14, 160-163.

Schlanger. E. and Prokopp, S. (1985): Gonadotrophin and ovarian steroids in cattle. IV. Re-establishment of the stimulatory feedback action of estradiol 17- $\beta$  on LH and FSH. Acta Endocrinol.109, 44-49.

Schmidt, C., Gajewski, Z., Wehrend, A. (2013): Strategische hormonelle Fruchtbarkeitsprogramme bei Kühen. Teil 1: Übersicht, Ovsynch und seine Modifikationen. Tierärztliche Praxis Großtiere 41: 45-54.

Schmitt, E.J., Sota, R.L., Morris, G.R. (1993): New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. Anim. Reprod. Sci. 33, 27-49.

Schöndorfer, A.M., and Walters, D.L. (1985): Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. Acta Endocrinol. 108, 312-321.

Seguin, B.E. (1977): Effect of human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone on corpus luteum function and estrous cycle duration in dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.* 38, 1153-1156.

Seidel, R. (2007): Messung der LH-Konzentration nach exogen verabreichten Gonadotropin-Releasing-Hormon-Gabe in den ersten 10 Tagen post partum beim Rind unter Berücksichtigung des Schweregrades der Geburt. Dissertationsschrift, VVB Lauferweiler Verlag, Giessen.

Sendag, S., Cetin, Y., Alan, M., Hadel, K.G. (2008): Effect of eCG and FSH on ovarian response, recovery rate and number and quality of oocytes obtained by ovum pick-up in Holstein cows. *Anim. Rep. Sci.* 106, 208-214.

Sheldon I.M., Noakes D.E., Dobson H. (2002a): Effect of the regressing corpus luteum of pregnancy on ovarian folliculogenesis after parturition in cattle. *Biol. Reprod.* 66, 266-271.

Sheldon I.M., Noakes D.E., Rycroft A.N., Dobson H. (2002b): Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 123, 837-845.

Sheldon, I.M. and Dobson, H. (2000): Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to the previously gravid uterine horn and uterine involution. *J. Rep. Fert.* 119, 157-163.

Silvestre, F.T., Bartolome, J.A., Kamimura, S., Arteché, A.C. Pancarci, S.M., Trigg, T., Thatcher, W.W. (2009a): post partum suppression of ovarian activity with a Deslorelin implant enhanced uterine involution in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 110, 79-95.

Silvestre, F.T., Risco, C.A., Lopez, M., De Sa, M.J.S., Bilby, T.R., Thatcher, W.W. (2009 b): Use of increasing doses of a degradable Deslorelin implant to enhance uterine involution in post partum lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 116, 196-212.

Souza, A.H., Viechnieski, S., Lima, F.A., Silva, F.F., Arujo, R., Bo, G.A., Wiltbank, M.C., Baruselli, P.S. (2008): Effect of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology* 10941, 1-12.

Stevenson, J.S. and CALL, E.P. (1988): Fertility of postpartum dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub> α: A field trial. *J. Dairy. Sci.* 71, 1926-1933.

Stevenson, J.S., Frantz, M.D., Call, E.P. (1988): Conception rates in repeat breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin F<sub>2</sub>α and gonadotropin-releasing hormone. *Theriogenology* 29, 451-460.

Stevenson, J.S., Tiffany, S.M., Inskip, E.K. (2008): Maintenance of Pregnancy in Dairy Cattle after Treatment with Human Chorionic Gonadotropin or Gonadotropin-Releasing Hormone. *J. Dairy Sci.* 91, 3092-3101.

Sumretprasong, J., Thuangsanthia, A., Leangcharuen, N., Thijae, K., Thawinprawat, S. (2010): Effect of Equine Chorionic Gonadotropin on Progesterone-based Estrus Synchronizatuin in Holstein Friesian x Brahman Recioient Cows. *Nat. Sci.* 44, 196-210.

Szenci, O., Takacs, E., Sulon, J., Sousa, N., Beckers, J. (2006): Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 66, 1811-1815.

Szenci, O., Takas, E., Sulon, J., Souza, N., Beckers, J. (2006): Evaluation of GnRH treatment 12 days after AI in the reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 66, 1811–1815.

Tanabe, T.Y., Deaver, D.R., Hawk, H.W. (1993): Effect of gonadotropin-releasing hormone on estrus, ovulation and ovum cleavage rates of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 72, 719-724.

Tororella, R., Ferreira, R., Santos, J., Neto, O., Barreta, M., Oliveria, J., Goncalves, P., Neves, J. (2013): The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology* 79, 1204-1209.

Valenza, A., Giordano, J.O., Lopes, G., Vincenti, L., Amundson, M.C., Fricke, P.M. (2012): Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and treatment with gonadotropin-releasing hormone at the time of insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95, 7115-7127.

Vasconcelos, J.L.M., Sa Filho, O.G., Justolin, P.L.T., Morelli, P., Aragon, F.L., Veras, M.B., Soriano, S. (2011): Effects of postbreeding gonadotropin treatments on conception rates of lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination or embryo transfer in a tropical environment. *J. Dairy Sci.* 94, 223-234.

Vojgani, M., Akbarinejad, V., Niasari-Naslaji, A. (2013): Administration of eCG on day 6 postpartum could enhance reproductive performance of Holstein dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 138, 159-162.

Wagner, W.C., and Hansel, W. (1969): Reproductive physiology of the post partum cow. *J. Reprod. Fert.* 18, 493-500.

Yimer, N., Rosnina, Y., Wahid, H., Saharee, A.A., Yap, K.C., Ganesamuthi, P. (2010): Ovarian activity in beef and dairy cows with prolonged postpartum period and heifers that fail to conceive. *Trop. Animal. Health. Prod.* 42, 607-615.

Yusuf, M., Nakao, T., Ranasinghe, R., Gautam, G., Long, S., Yoshida, C., Koike, K., Hayashi, A. (2010): Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology* 73, 1220-1229.

Zain, A., Nakao, T., Abdel Raoul, M., Moriyoshi, M., Kawata, K., Moritsu, Y. (1995): Factors in resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Anim. Rep. Sci.* 38, 203-214.

Zaleha, P., Vargova, M., Kadasi, M., Smitka, P., Smarzik, M., Kovac, G. (2013): Effect of postpartum uterine involution on folliculogenesis, oesterus and conception in cows. *Roc. Nau. Pol. Tow. Zoo, t. 9, nr 1*, 57-65.

Zolman, J., Convey E.M., Hafs, D. (1972): Gonadotropin releasing hormone: Bovine LH-relase. *J. Anim. Sci.* 35, 253-258.

Zolman, J., Convey E.M., Hafs, D. (1974): Relationships between the luteinizing hormone response to gonadotropin releasing hormone and endogenous steroids. *J. Anim. Sci.* 39, 355-359.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Axel Wehrend für das interessante Thema, die immer so schnell beantworteten Fragen und erfolgten Korrekturen sowie die konstruktiven Ratschläge.

Weiterhin gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Gerald Reiner mein herzlicher Dank. Ohne seine Hilfe wäre es mir nicht möglich gewesen, in Giessen eine Promotionsstelle zu finden. Ich bedanke mich herzlich bei Frau Dr. Sickinger und PD. Dr. Hospes, die mir viel geholfen haben und von denen ich viel gelernt habe.

Außerdem danke ich meinem ehemaligen Iranischen Meister Herrn Dr. Oschidari.

Mein ganz privater und persönlicher Dank gilt meiner Mutter, die mein ganzes Leben lang immer für mich da war.

Ich erkläre:

Ich erkläre, die hier vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Mehrdad Khodadadian Sharifabad



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6526-3



9 17 8 3 8 3 5 19 6 5 2 6 3 1