**Aus dem Institut für Reproduktionsmedizin
der Tierärztlichen Hochschule Hannover, dem Veterinär-
Physiologisch-Chemischen Institut und dem Institut für Veterinär-
Pathologie der Universität Leipzig**

Endokrinologische, dopplersonographische, histologische und immunhistologische Untersuchungen zur Physiologie und Pathophysiologie der Gelbkörperfunktion der graviden Hündin

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von
TATJANA HÖFTMANN
geb. Sywak
aus Hannover**

Hannover 2004

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. A.-R. Günzel-Apel

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. A.-R. Günzel-Apel

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. M. Hewicker-Trautwein

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2004

Meiner Mutter und Michael

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 11

2 SCHRIFTTUM 12

2.1. Aufbau des Hundeovars 12
2.1.1. Anatomie, Histologie und (arterielle) Gefäßversorgung des Hundeovars 12
2.1.2. Ovarialfollikel 13
2.1.3. Gelbkörper (Corpus luteum) 15

2.2. Steuerung der caninen Lutealphase und Trächtigkeit 17
2.2.1. Progesteron 18
2.2.2. Estradiol-17β 19
2.2.3. Luteinisierendes Hormon (LH) 20
2.2.4. Prolaktin 20
2.2.5. Relaxin 21
2.2.6. Luteotrope und luteolytische Faktoren im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression 22
2.2.6.1. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ – Struktur und Wirkungsweise 25
2.2.6.2. Apoptose/Nekrose 28

2.3. Störungen der caninen Trächtigkeit / Gelbkörperinsuffizienz 31

2.4. Methoden des Trächtigkeitsabbruchs bei der Hündin 32
2.4.1. Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ und –Analoga auf die Lutealfunktion der graviden Hündin 33
2.4.1.1. Natürliches $PGF_{2\alpha}$ 33
2.4.1.2. Nebenwirkungen von natürlichem $PGF_{2\alpha}$ 35
2.4.1.3. Einfluss der $PGF_{2\alpha}$-Behandlung auf die Zyklusdauer 35
2.4.1.4. Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Analoga 36
2.4.1.5. Cloprostenol 37

2.4.2. Prolaktinantagonisten 37
2.4.2.1. Cabergolin 38
2.4.3. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ in Kombination mit Prolaktinantagonisten 39
2.4.4. Antiprogestine 40
2.4.4.1. RU 38486 (Mifepristone) 40
2.4.4.2. RU 46534 (Aglepristone) 42

2.5. Vaskularisation des Ovars in der Gelbkörperphase 43
2.5.1. Regulation und medikamentöse Beeinflussung der ovarialen Perfusion 45

2.6. Sonographische Untersuchungen am Hundeovar 47

2.7. Dopplersonographie 49
2.7.1 Duplex- und Triplexsonographie 49
2.7.2 Physikalisch-technische Grundlagen 49
2.7.2.1. Der Dopplereffekt 49
2.7.2.2 PW-Dopplersysteme 50
2.7.2.3. Farbkodierte Dopplersonographie 51
2.7.2.4. Dopplersonographische Geschwindigkeitsprofile 51
2.7.2.5. Messparameter 52
2.7.2.6. Indikation und Anwendung der Dopplersonographie in der Ovardiagnostik bei Mensch und Tier 53

2.8. Histologische und immunhistologische Parameter am Ovar 55
2.8.1. Progesteronrezeptor 55
2.8.2. 3-β-Hydroxysteroiddehydrogenase (3-β-HSD) 56
2.8.3. Relaxin 59

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN 62

3.1. Material und Methoden 62

3.1.1. Tiere 62
3.1.2. Einteilung in Gruppen 62
3.1.3. Versuchsdurchführung 63
3.1.3.1. Zielsetzung 63
3.1.3.2. Klinisch-gynäkologische Untersuchung vor der Ovulation 63
3.1.3.3. Medikation und Ovariohysterektomie 65
3.1.4. Endokrinologische Untersuchungen 66

3.1.5. Sonographische Untersuchungen 67
3.1.5.1. Apparative Ausrüstung 67
3.1.5.2. Vorbereitung und Handhabung der Tiere 67
3.1.5.3. Untersuchungsfrequenz 68
3.1.5.4. Untersuchungsablauf 68
3.1.5.5. Messparameter 69
3.1.6. Histologische, immunhistologische und biochemische Untersuchungen 70
3.1.6.1. Anatomische Präparation und pathologisch-anatomische Untersuchungen 70
3.1.6.2. Histologische Präparation 70
3.1.6.3. Licht- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen 71
3.1.6.4. Immunhistologische und biochemische Methoden 71
3.1.6.5. Auswertung der immunhistologischen Parameter 74
3.1.6.6. Dokumentation 75
3.1.7. Auswertung der Ergebnisse 75

3.2. Ergebnisse 76

3.2.1. Klinische Befunde 76
3.2.1.1. Nebenwirkungen der Behandlungen 76
3.2.1.2. Läufigkeitsintervalle 76
3.2.1.3. Auftreten von Fruchtresorptionen 77
3.2.2. Endokrinologische Befunde 79
3.2.2.1. Estradiol-17β 79
3.2.2.2. Progesteron 81
3.2.2.3. Relaxin 85
3.2.3. Sonographische Befunde 88
3.2.4. Dopplersonographische Befunde 89
3.2.4.1. Farbkodierte Dopplersonographie der stromalen Ovararterien 89
3.2.4.2. Flussmuster der stromalen Ovararterien 93
3.2.5. Makroskopische Ovarbefunde 104
3.2.6. Histologische Ovarbefunde 106
3.2.7. Befunde der immunhistologischen und biochemischen Untersuchungen 113
3.2.7.1. 3-β-HSD 113
3.2.7.2. Relaxin 116
3.2.7.3. Progesteronrezeptor 119
3.2.7.4. Apoptose/Nekrose 119

4 DISKUSSION 123

4.1. Ziel der Arbeit 123
4.2. Untersuchungsmaterial, klinische, endokrinologische und sonographische Untersuchungsverfahren 123
4.3. Histologische, immunhistologische und biochemische Untersuchungsverfahren 124
4.4. Behandlungsverfahren 125
4.5. Ovarfunktion in den medikamentös unbeeinflussten Trächtigkeiten 128
4.6. Ovarfunktion in den durch Aglepristone gestörten Trächtigkeiten 130
4.7. Ovarfunktion in den durch Cloprostenol/Cabergolin gestörten Trächtigkeiten 137
4.8. Zusammenfassende Schlussbetrachtung des aktuellen Kenntnisstandes über die canine Luteolyse 141

5 ZUSAMMENFASSUNG 147

6 SUMMARY 150

7 LITERATURVERZEICHNIS 153

8 ANHANG 191

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

3-β-HSD	3-β-Hydroxy-Δ^5-steroiddehydrogenase/isomerase
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
bidest	bidestillata
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
C.l.	Corpus luteum
d	Tag
dest.	destillata
d. h.	das heißt
DPV	diastolic peak velocity = diastolische Maximalgeschwindigkeit
EDV	enddiastolic velocity = enddiastolische Geschwindigkeit
F	Frucht/Fruchtkammer
Fa.	Firma
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
h	Stunde
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
hCG	humanes Choriongonadotropin
H.-E.	Hämalaun-Eosin
IgG	Immunglobulin G
INSL-3	Leydig cell-derived insulin-like factor
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
LGR	Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor
LH	Luteinisierendes Hormon
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
Max	Maximum
MHz	Megahertz
Min	Minimum
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MMPs	Matrix-Metalloproteinasen
n	Anzahl
ng	Nanogramm
o.	oder
o.g.	oben genannte
OVH	Ovariohysterektomie
P_4	Progesteron

P450 scc	P450 side chain cleavage enzyme
PBS	Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PC	Personal Computer
p.coit.	post coitum
pers.	persönlich
PGE_2	Prostaglandin E_2
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin $F_{2\ alpha}$
PGI_2	Prostaglandin I_2; Prostazyklin
PI	pulsatility index = Pulsatilitätsindex
pg	Pikogramm
p.os.	per os
p.ov.	post ovulationem
PR	Progesteronrezeptor
PRF	Pulsrepetitionsfrequenz
PS	Phosphatidylserin
PWD	pulsed wave Doppler
Res.	Resorption
RI	resistance index = Widerstandsindex
RIA	Radioimmunoassay
RLF	Relaxin-like factor
RLX	Relaxin
RU 486	RU 38486; Mifepristone
RU 534	RU 46534; Aglepristone
s.c.	subkutan
sec	Sekunde
SD	Standardabweichung
SPV	systolic peak velocity = systolische Maximalgeschwindigkeit
Tab.	Tabelle
TAMAX	time average maximum velocity = amplitudengewichtete mittlere Maximalgeschwindigkeit
TIMPs	tissue inhibitors of metalloproteinases
TUNEL	terminal deoxy-nucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end-labeling
u. a.	unter anderem
V.	Vena
Vmax	Maximalgeschwindigkeit
Vmin	Minimalgeschwindigkeit
$\bar{x}$	Mittelwert
z. B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

Die endokrine Aktivität der Gelbkörper wird durch die peripheren Blutserumkonzentrationen von Progesteron charakterisiert. Progesteron ist für die Aufrechterhaltung einer Trächtigkeit essentiell. Während die Gelbkörper bei der Hündin in der ersten Hälfte der Gravidität (bis ca. Tag 30 post ovulationem) weitgehend autonom funktionieren, trägt in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit das im Hypophysenvorderlappen gebildete Hormon Prolaktin entscheidend zur Aufrechterhaltung der Lutealfunktion bei (ONCLIN et al. 1993).

Bei einer Gelbkörperinsuffizienz nimmt die Gelbkörperaktivität vorzeitig ab. Damit einhergehend kommt es zu einem unphysiologisch frühen Abfall der Progesteronkonzentration, meist zwischen dem 20. und 35. Tag nach der Ovulation, der im Falle einer Trächtigkeit zum Absterben und zur Resorption einzelner oder aller Früchte führt. Auffällig ist, dass sowohl im Zusammenhang mit einer Lutealinsuffizienz als auch bei medikamentös eingeleitetem Trächtigkeitsabbruch nicht immer sämtliche Embryonen/Feten gleichzeitig absterben. Relativ häufig überleben eine oder zwei Früchte den Progesteronmangel und werden dann meist lebensschwach geboren (GÜNZEL-APEL et al. 2003).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde bei tragenden Hündinnen die physiologische Lutealfunktion einerseits und medikamentös in ihrer Funktion gestörte Gelbkörper andererseits mit Hilfe klinischer, endokrinologischer, histologischer, immunhistochemischer und biochemischer Verfahren untersucht. Durch Anwendung der farbkodierten und gepulsten Dopplersonographie der stromalen ovarialen Arterien sowie durch begleitende Hormonanalysen wurden die Einflüsse der Medikationen auf die Durchblutung und die endokrine Funktion charakterisiert.

Nach Ovariohysterektomie erfolgten histologische, immunhistochemische und biochemische Untersuchungen an den Ovarien, um auch gewebliche Kriterien der physiologischen und medikamentös beeinflussten Gelbkörperregression bzw. -suppression zu erfassen.

In einer zeitgleich erfolgten Studie am selben Tiermaterial wurden ähnliche Untersuchungen am tragenden Uterus bzw. an den Früchten vorgenommen, deren Ergebnisse (POLITT, E., pers. Mitteilung vom 15.05.2004) teilweise in der hier vorliegenden Arbeit im Hinblick auf mögliche Interaktionen zwischen den medikationsbedingten ovarialen und endometrialen bzw. plazentären Veränderungen dargestellt wurden.

2 SCHRIFTTUM

2.1. Aufbau des Hundeovars

2.1.1. Anatomie, Histologie und (arterielle) Gefäßversorgung des Hundeovars

Die Eierstöcke der Hündin sind von länglicher, abgeplatteter Form und befinden sich, am Mesovarium hängend und vollständig von der Bursa ovarica eingehüllt, kaudal der Nieren in Höhe des dritten bis vierten Lendenwirbels (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS 1987). Wegen der geringgradig asymmetrischen Lage der Nieren liegt das linke Ovar geringfügig weiter kaudal als das rechte.

Die Oberfläche des Ovars wird durch zyklische Funktionsgebilde, wie z. B. Vorwölbungen durch ovulationsreife Follikel oder Gelbkörper und narbige Einziehungen, unregelmäßig gestaltet. Entsprechend passt sich das Oberflächenepithel den funktionellen Besonderheiten an. Die Ovarien werden in Abhängigkeit vom Oberflächenprofil von einem abgeplatteten bis isoprismatischen, einschichtigen Deckepithel überzogen, das sich in das Serosaepithel der Bauchdecke fortsetzt (LIEBICH 1999). Beim Hund faltet sich das Oberflächenepithel tubulusartig in das Innere der Rinde, teilweise auch bis ins Mark, hinein (ANDERSEN u. SIMPSON 1973). Dem Oberflächenepithel ist eine bindegewebige, gefäßarme Tunica albuginea unterlagert, die mit dem Stroma der Rindenzone in Verbindung steht. Man unterscheidet am Ovar eine äußere Rindenzone (Cortex ovarii, Zona parenchymatosa) und eine innere Markzone (Medulla ovarii, Zona vasculosa). Strukturelle Grundlage der Rindenzone sind stoffwechselaktive Stromazellen, die in einem lockeren Raumgitter angeordnet sind (spinozelluläres Bindegewebe). Diese Stromazellen sind fibrozytenähnlich und weisen eine hohe Regenerationsfähigkeit, die Neigung zur vermehrten Teilung und die Fähigkeit zur Phagozytose auf. Die Zona parenchymatosa geschlechtsreifer Haussäugetiere schließt primäre Oozyten und deren Hüllzellen (Follikelzellen) sowie deren Entwicklungsstadien (primäre, sekundäre, tertiäre und Graaf-Follikel) und Funktionsgebilde (z. B. Gelbkörper) ein (LIEBICH 1999).

Des Weiteren findet man im Hundeovar regelmäßig so genannte Granulosazell-Stränge, die sich untereinander verzweigend von der Rinde bis ins Mark fortpflanzen. Ihr Ursprung liegt vermutlich in strangartig angeordneten Oozyten, welche eine gemeinsame Hülle aus Granulo-

sa- und Bindegewebszellen ausgebildet haben. Beim Untergang dieser Oozyten bleiben die Granulosazellen erhalten und können proliferieren (ANDERSEN u. SIMPSON 1973).
Die Zona vasculosa ist die zentrale gefäß- und nervenführende Schicht des Ovars (LIEBICH 1999). Die Blutversorgung des Ovars übernimmt die in der Regel in Höhe des dritten bis vierten Lendenwirbels beidseitig aus der Aorta abdominalis entspringende A. ovarica. Sie zieht von der dorsalen Bauchwand in das Mesovarium und verläuft in zunehmenden Windungen eierstockswärts. Die Endäste der A. ovarica bilden unter besonders starker Schlängelung ein kegelförmiges Gefäßkonvolut, dessen Basis an das Ovar grenzt, und treten am Gekröseansatz in die Zona vasculosa ein (WILKENS 1984). Die am Hilus ovarii eintretenden Arterien verlaufen vorwiegend geschlängelt und bilden am Übergang zur Rindenzone ein Netzwerk, durch das die außen liegende Zona parenchymatosa versorgt wird. Das Stromabindegewebe ist von einem feinen Kapillarnetz durchsetzt, das insbesondere der Versorgung der Keimzellen während ihrer Reifung dient und nach der Ovulation der Oozyte an der Umwandlung der Follikelhöhle in den Gelbkörper beteiligt ist. Diese Kapillargeflechte unterliegen ständigen zyklusabhängigen Umbauvorgängen, die funktionsbedingt zusätzlich durch Sperrarterien und arteriovenöse Anastomosen gesteuert werden. In der Markzone des Ovars sammeln sich außerdem Lymphgefäße, die zusammen mit den Venen am Hilus aus dem Organ austreten (LIEBICH 1999). Im Übergangsgebiet des Marks zum Mesovarium ist häufig das Rudiment des Rete ovarii (Homologon des Rete testis der Gonadenanlage) in Form netzartiger Epithelstränge oder eines epithelausgekleideten Kanallabyrinths anzutreffen (SMOLLICH 1992).

2.1.2. Ovarialfollikel

Beim geschlechtsreifen Tier liegt die weibliche Keimzelle in der Zona parenchymatosa des Ovars bis zur Ovulation im Ruhestadium als primäre Oozyte vor und wird von Follikelzellen umgeben, wobei diese zusammen eine strukturelle und funktionelle Einheit darstellen und als Ovarialfollikel bezeichnet werden. Der Primordialfollikel liegt subkapsulär und besteht aus der primären Oozyte, die von einer Schicht sehr flacher, undifferenzierter Follikelepithelzellen umgeben wird. Außen wird der Follikel von lockerem, spinozellulärem Bindegewebe umgeben. Primordialfollikel sind Ruhestadien, die aktiviert werden und sich zu Primärfollikeln wandeln. Der Primärfollikel wird von einer einschichtigen, iso- bis hochprismatischen Schicht von Follikelzellen umgeben, das Zytoplasma der Oozyte nimmt gegenüber dem Primordial-

follikel an Volumen geringgradig zu. Aus einem Primärfollikel entsteht durch mitotische Teilungen der Follikelzellen der Sekundärfollikel, der strukturell gekennzeichnet ist durch die Volumenzunahme der Oozyte, die Bildung der Zona pellucida, die Schichtung der Follikelzellen und die Differenzierung der Stromazellen zur Theca follicularis (LIEBICH 1999).
Jenseits der Basallamina setzt mit Beginn der Sekundärfollikelphase eine fortschreitende Differenzierung des dem Follikel unmittelbar benachbarten Rindenstromas ein. Sie führt zur Ausbildung der gefäßreichen, mit trophischen Aufgaben gegenüber dem Follikel betrauten Theca folliculi, die gleichzeitig in die Hormonproduktion des Follikels involviert ist. Die dem Follikelepithel bzw. seiner Basalmembran unmittelbar benachbarte Thecaschicht wird zur Theca interna, die außen anschließende Schicht zur Theca externa. Die teilweise epitheloiden Zellen der Theca interna stehen im Rahmen der Estrogensynthese in engen Kooperationsbeziehungen mit dem Follikelepithel. Sie synthetisieren unter den stimulierenden Einfluss des adenohypophysären LH Androgene, die durch den Interzellularraum und die Basallamina in die Follikelepithelzellen gelangen, wo sie auf enzymatischem Weg zu Estrogenen umgewandelt werden (SMOLLICH 1992).
Der Tertiärfollikel ist gekennzeichnet durch die Ausbildung eines flüssigkeitsgefüllten Hohlraums (Antrum folliculare), die Differenzierung der Follikelzellen innerhalb der Follikelwand, die Bildung des Eihügels (Cumulus oophorus) und die Schichtung der Theca follicularis in eine Theca follicularis interna und externa.
Der Graaf-Follikel ist der präovulatorische, reife Follikel, der beim Hund eine Größe von bis zu 2 cm erreicht. Die Oozyte, umgeben von der Zona pellucida, den Zellen der Corona radiata und einzelnen Follikelzellen, verliert die Verbindung zur Follikelwand und schwimmt frei in der Flüssigkeit.
Die Mehrzahl der Primordial- und Primärfollikel, aber auch spätere Follikelstadien unterliegen während ihrer Entwicklung einer Rückbildung (Atresie) (LIEBICH 1999). Die ersten Anzeichen von Atresie sind beim Primordialfollikel nicht eindeutig. Fortschreitende atretische Veränderungen äußern sich in unregelmäßiger Form der Oozyte, Schrumpfung und vermehrter Anfärbbarkeit des Zytoplasmas und des Kerns bis zum völligen Abbau sämtlicher Strukturen (ANDERSEN u. SIMPSON 1973).
Primärfollikel degenerieren nicht einheitlich. Die ersten Anzeichen von Atresie sind entweder in der Oozyte oder dem umgebenden Follikelepithel zu finden. Das Zytoplasma der Oozyte färbt sich unregelmäßig an, wird vakuolisiert und flockig, die Oozytenmembran wird unre-

gelmäßig und weist auf einen Schrumpfungsprozess hin. Nukleäre Zeichen des Zelltodes sind exzentrische Kernposition, Chromatolyse und Chromatinverklumpung sowie Einfältelung der Kernmembran. Die Formation der Follikelzellen wird aufgelöst, die Zellen degenerieren in unterschiedlicher Geschwindigkeit, bis nur einige pyknotische Kerne oder Chromatinfragmente über bleiben (ANDERSEN u. SIMPSON 1973). Durch Makrophagen werden sämtliche Anteile der Follikel abgebaut.

In Sekundärfollikeln verlaufen atretische Rückbildungen ähnlich. Die Zona pellucida verhindert jedoch eine schnelle und vollständige Lysis. Bei Tertiärfollikeln setzen Veränderungen zuerst in der Follikelwand ein. Follikelzellen vergrößern sich und lösen sich aus dem Zellverband, die Follikelflüssigkeit ist angereichert mit degenerierten Zellen. Die Oozyte degeneriert sekundär. Morphologisch sind atretische Follikel durch eine Kernschrumpfung und Verdickung mit folgender Hyalinisierung der Basalmembran (Glashaut) gekennzeichnet (LIEBICH 1999).

2.1.3. Gelbkörper (Corpus luteum)

Der Gelbkörper bildet sich nach der Ovulation aus den verbliebenen Zellen der Follikelwand und den Stromazellen der Theca follicularis. Die strukturellen Entwicklungsstufen des Gelbkörpers der graviden Hündin können entsprechend den Abschnitten in der Gravidität in drei Phasen unterteilt werden: Anbildung im ersten Trimester der Trächtigkeit (Tag 0 – 21 post coitum), Blüte (Tag 22 – 43 p. coit.) und Regression (Tag 44 – 63 p. coit.) (ANDERSEN u. SIMPSON 1973).

Nach dem Riss des Graaf'schen Follikels und dem Entlassen der Oozyte in den Fimbrientrichter des Eileiters kollabiert die Follikelwand, legt sich in Falten und schließt die Riss-Stelle unvollständig. Kapillaren sprossen zusammen mit den haarnadelförmig angeordneten Arteriolen der Theca externa in die vormals gefäßfreie Follikelwand ein und geben dem Gelbkörper ein läppchenartiges Aussehen. Mit den Gefäßen gelangen Stromazellen, Fibroblasten und Makrophagen in großer Zahl in die ehemalige Follikelhöhle und beginnen innerhalb der ersten Tage nach der Ovulation mit der Organisation des jungen Gelbkörpers. Schon während der späten präovulatorischen Phase haben erste Veränderungen der Follikelzellen (Granulosazellen) und der Stromazellen der Theca interna eingesetzt, die nach der Ovulation weiter an Intensität zunehmen. Durch Vergrößerung des Zytoplasmas (funktionelle Hy-

pertrophie) und durch Zellerneuerung (Hyperplasie) transformieren sich diese Zellen zu Luteinzellen. Nach Herkunft der Luteinzellen unterscheidet man Granulosa- und Thecaluteinzellen. Granulosaluteinzellen entwickeln sich aus den Wandzellen des Follikels. Sie sind von polyedrischer Form und weisen einen großen, ovalen, euchromatinreichen Zellkern, sowie einen das Zytoplasmabild beherrschenden Steroidsyntheseapparat auf, der vorzugsweise der Bildung von Progesteron, aber auch Estrogen, dient. Daneben sind auch Einrichtungen der Peptidsynthese vorhanden, die im Dienst der Produktion von Relaxin und anderen Wirkstoffen stehen. Diese werden in 200-400 nm großen membranumhüllten Sekretgranula auf Abruf gespeichert, gelangen via Exozytose zur Extrusion und ähneln den primären Lysosomen und Peroxisomen, die ebenfalls im Zytoplasma anzutreffen sind (SMOLLICH 1992). Des Weiteren sind verschieden große exoplasmatische Vesikel in unterschiedlicher Anzahl zu finden (ANDERSEN u. SIMPSON 1973).

Thecaluteinzellen transformieren sich aus Stromazellen der Theca interna. Sie sind kleiner und seltener als Granulosaluteinzellen, ähneln diesen aber in Struktur und Funktion (LIEBICH 1999). Größe und Anzahl von Follikeln und Gelbkörpern sind bei der tragenden und nicht tragenden Hündin grundsätzlich gleich (SOKOLOWSKI et al. 1973). Die Gliederung des Corpus luteum durch bindegewebige Septen erfolgt insbesondere durch das lockere, faserige Bindegewebe der Theca externa, zum Teil auch durch Reste der Theca interna. Im Stadium der Gelbkörperblüte stehen die Kapillarschlingen in engem Kontakt zu den Luteinzellen und nehmen Progesteron in das zirkulierende Blut auf (LIEBICH 1999). Das Zentrum des Gelbkörpers wird von einem unterschiedlich stark ausgeprägten Bindegewebskörper gebildet. Im Anbildungs- und Blütegelbkörper trifft man auf unregelmäßig radiär angeordnete Spalten, die von flachen Fibroblasten ausgekleidet sind und deren Funktion bislang noch nicht geklärt ist, die aber wahrscheinlich Sekret oder ehemalige Follikelflüssigkeit enthalten (ANDERSEN u. SIMPSON 1973).

Die Luteinzelle des voll ausgebildeten caninen Gelbkörpers hat eine Größe von 30-40 µm und enthält einen ovalen Kern von 10-12 µm Durchmesser. Die perinukleäre Region (Endoplasma) enthält Granula verschiedener Größe und zarte filamentöse Strukturen. Das daran angrenzende Exoplasma färbt sich heller an und enthält Vesikel von unterschiedlicher Zahl und Größe, welche die Sekretionsleistung der Zellen charakterisieren. Die Zahl der Vesikel erhöht sich mit fortschreitender Ausbildung des Gelbkörpers.

Während des dritten Trimesters der Gravidität lässt die funktionale Aktivität des Gelbkörpers allmählich nach und der Gelbkörper verliert an Größe (ANDERSEN u. SIMPSON 1973). Durch Anschwellen (Hypertrophie) der Gefäßwände tritt eine Einengung und letztlich der Verschluss der Gefäßlumina mit nachfolgender Degeneration des Kapillargebiets ein, die Luteinzellen unterliegen im Weiteren einer fettigen Degeneration und werden durch Makrophagen abgebaut (LIEBICH 1999). Bei beginnender Gelbkörperregression färben sich die Kerne der Luteinzellen in der H.-E.-Färbung dunkler an, die Kernmembran wird zunehmend unregelmäßig, der Kern schrumpft, wird pyknotisch, lytisch oder zerfällt in Einzelteile. Die Grenze zwischen Endo- und Exoplasma wird undeutlich, die Anzahl lipoider Vakuolen erhöht sich, diese Vakuolen fließen zusammen und werden größer. Die Anfärbbarkeit (Eosinophilie) des Zytoplasmas sinkt.
Im Gesamtbild des Corpus luteum beobachtet man eine Vermehrung des Bindegewebes im Zentrum und Interstitium durch die Zunahme von Retikulin- und Kollagenfasern, die Spalträume im Gelbkörper füllen sich zunächst mit Detritus und Erythrozyten und kollabieren mit fortschreitender Regression vollständig. Im Endstadium der Degeneration finden sich gehäuft leere Lokalisationen, an denen sich vormals Luteinzellen befanden. Die restlichen Zellen sind stark vakuolisiert, die zellulare Dichte erhöht. Die Veränderungen schreiten im physiologisch regressiven Gelbkörper von zentral nach peripher fort und sind nicht in allen Gelbkörpern gleich stark ausgeprägt (ANDERSEN u. SIMPSON 1973). Der vollständige Abbau des Gelbkörpers bis zur Narbenbildung (Corpus albicans) erstreckt sich, beginnend in der Mitte der Lutealphase, über ca. sieben Monate (DORE 1989). Im Ovar liegen dann neben einem aufblühenden Gelbkörper auch Stadien aus früheren Ovarzyklen (LIEBICH 1999).

2.2. Steuerung der caninen Lutealphase und Trächtigkeit

Das endokrine System unterliegt einer hierarchischen Struktur. Umwelteinflüsse und Sinneswahrnehmungen werden vom Zentralnervensystem an den Hypothalamus weitergeleitet, der in pulsatilem Rhythmus GnRH (Gonadotropin Releasinghormon) sezerniert. GnRH induziert an der Adenohypophyse die Freisetzung der gonadotropen Hormone Follikelstimulierendes Hormon (FSH) und Luteinisierendes Hormon (LH), deren Zielorgane die Ovarien sind. Für die differenzierte Freisetzung sind Rückkopplungsmechanismen durch ovariale Hormone zuständig (WATSON 1996).

2.2.1. Progesteron

Die Ovarien sind mit ihren funktionstüchtigen Corpora lutea essentiell für die Aufrechterhaltung der Trächtigkeit (SOKOLOWSKI 1971; FELDMAN u. NELSON 1987), obwohl es Hinweise darauf gibt, dass die Plazenta der tragenden Hündin ebenfalls in der Lage ist, geringe Mengen an Progesteron de novo zu synthetisieren (KISO u. YAMAUCHI 1984).
Die Hündin ovuliert bei Blutserum-Progesteronwerten von ca. 5-8 ng/ml. Danach steigt der Progesteronwert bis zum Tag 10-30 p.ov. auf meist über 25 ng/ml (15-85 ng/ml) an. Während des letzten Drittels der Gravidität fallen die Progesteronwerte im Zuge der Gelbkörperregression langsam bis zu einem Plateau von 4-16 ng/ml ab, das für ein bis zwei Wochen bestehen bleibt (SMITH u. McDONALD 1974; CONCANNON 1984, 1986). Die Lutealphase tragender und nicht tragender Hündinnen verläuft bis ca. Tag 60 nach dem LH-Gipfel annähernd identisch, jedoch erfolgt bei der tragenden Hündin kurz vor der Geburt ein drastischer Abfall der Progesteronkonzentration auf weniger als 2 ng/ml, während sich das Absinken der Progesteronwerte bei der nicht graviden Hündin bis etwa zum 90. Tag (JEFFCOATE u. LINDSAY 1989) bzw. 120.-150. Tag (CONCANNON 1986) nach LH-Gipfel hinziehen kann. $PGF_{2\alpha}$, das nur bei der tragenden Hündin wenige Tage vor der Geburt aus den fetoplazentären Uterusbereichen ausgeschüttet wird, bewirkt durch Luteolyse einen abrupten Progesteronabfall auf Basalwerte (FELDMANN u. NELSON 1987; CONCANNON et al. 1989; LINDE-FORSBERG u. ENEROTH 1998).
Progesteron ist verantwortlich für die Entwicklung der endometrialen Drüsen, Sekretion des Uterindrüsensekrets, endometriales Wachstum, Aufrechterhaltung der plazentaren Verbindungen und Hemmung der uterinen Motilität (FELDMAN u. NELSON 1987). Die zur Ruhigstellung der glatten Muskulatur des Myometriums führende Wirkung wird darin gesehen, dass Progesteron die Verfügbarkeit von intrazellulärem Kalzium verringert, womit die Bildung des Kalzium-Calmodulin-Komplexes und somit letztlich die Phosphorylierung von Myosin durch Actin weitgehend unterbunden wird. Dieser progesteronvermittelte, die Gravidität sichernde Effekt bewirkt jedoch keine totale, sondern nur eine weitgehende Ruhigstellung des Myometriums (HOFFMANN 1994).
OKKENS et al. (1985) haben bewiesen, dass der Uterus der zyklischen Hündin keinen Einfluss auf die Lebensspanne des Corpus luteum hat, jedoch vermuten SMITH und McDONALD (1974), dass ein plazentäres Luteotropin bei der tragenden Hündin die Aufrechterhal-

tung der Corpus-luteum-Funktion zusätzlich gewährleistet. Bei dem Weißbüschelaffen Callithrix jacchus handelt es sich bei diesem plazentären Luteotropin laut BEINDORFF et al. (2001) und VERHAGEN (2002) um Relaxin.
Verschiedene Autoren vertreten die Ansicht, dass Progesteron bei einigen Spezies während der Gelbkörperphase seine eigene Sekretion stimuliert (ROTHCHILD 1981, 1996; VANDEVOORT et al. 2000) und vermuten eine endokrine, parakrine und autokrine Rolle für die Ovarfunktion in den verschiedenen Zyklusphasen (CURRY u. NOTHNICK 1996). Auch beim Hund scheint der Gelbkörper in der ersten Zeit nach der Ovulation autonom zu funktionieren (OKKENS et al. 1986). Steigende Progesteronwerte bewirken am Hypothalamus eine Reduzierung der GnRH-Pulsfrequenz ohne Beeinflussung der Pulsamplitude, wobei die Pulsfrequenz für die Qualität der sezernierten Gonadotropine (LH oder FSH) verantwortlich zu sein scheint (HOPPEN 1990). Inwiefern beim Hund Progesteron als autokriner Faktor eine Rolle spielt, ist derzeit noch nicht erforscht.

2.2.2. Estradiol-17β

Die Estradiol-17β-Konzentration im peripheren Blut bleibt während der frühen Lutealphase nicht tragender Hündinnen zumeist auf basalem Niveau unter 10 pg/ml (OLSON et al. 1982; CONCANNON 1986). CONCANNON et al. (1975) beobachteten bei tragenden Hündinnen einen leichten Anstieg des Estradiols um den Tag 36 nach LH-Gipfel, andere Autoren berichten von einem Ansteigen auf 20 bis 30 pg/ml lediglich zum Ende der Gravidität (CHAKRABORTY 1987; FELDMAN u. NELSON 1987). In beiden Fällen bleiben die Estradiolwerte jedoch bis zur Geburt auf leicht erhöhtem Niveau und fallen dann, ebenso wie Progesteron, rapide ab. Dagegen weisen nach NETT et al. (1975) und REIMERS et al. (1978) die Estradiol-17β- und Gesamtestrogenkonzentrationen nicht tragender und tragender Tiere in der zweiten Hälfte der Lutealphase keine Unterschiede auf. Für beide Gruppen beschreiben EDQUIST et al. (1975) und AUSTAD et al. (1976) in dieser Phase gleichbleibend niedrige Estradiolkonzentrationen von 10 bis 15 pg/ml. Die aus dem Schrifttum zitierten Angaben weisen somit eine hohe Variabilität auf, die wahrscheinlich auf dem Einsatz unterschiedlicher Analyseverfahren und erheblichen individuellen Schwankungen beruhen (JÖCHLE u. ANDERSEN 1977).

Estradiol-17β ist vermutlich für die Ausbildung der Milchdrüsen mitverantwortlich und unterstützt die Relaxation der Zervix (FELDMAN u. NELSON 1987). HOFFMANN et al. (2004) vermuten eine parakrine und/oder autokrine Funktion des Estradiol-17β, jedoch ist die genaue Rolle des Hormons im Hinblick auf luteale Steuerungsmechanismen derzeit noch unklar.

2.2.3. Luteinisierendes Hormon (LH)

Die der Ovulation folgende Phase der Gelbkörperanbildung ist durch einen steilen Progesteronanstieg gekennzeichnet, der über einen negativen Rückkopplungsmechanismus der Hypophysen-Gonaden-Achse ein Absinken der LH-Werte auf Basisniveau bewirkt, das bis zur Mitte der Gelbkörperphase beibehalten wird (WILDT et al. 1979).
In der frühen Lutealphase kommt es lediglich zu geringen wellenförmigen Konzentrationsanstiegen von LH (HEGSTAD et al. 1993). In der zweiten Hälfte der Gelbkörperphase tritt als Reaktion auf die im Zuge der Gelbkörperregression einsetzende Abnahme der peripheren Progesteronkonzentration eine Frequenzzunahme der LH-Peaks auf (HOFFMANN u. SCHNEIDER 1993). Das hypophysäre LH ist luteotrop und bewirkt bei der tragenden wie bei der nicht tragenden Hündin in basalen Konzentrationen von 2,0 bis 5,0 ng/ml die Sicherstellung der Progesteronsekretion (SMITH u. McDONALD 1974; REIMERS et al. 1978; CONCANNON 1980, 1986).

2.2.4. Prolaktin

Das ebenfalls aus der Hypophyse stammende Prolaktin steigt bei der tragenden Hündin ab Tag 30 p.ov. bis zur Geburt auf Werte von ca. 40 bis 50 ng/ml und übernimmt ab der Mitte der Lutealphase eine wichtige Aufgabe in der Aufrechterhaltung der Trächtigkeit (ONCLIN u. VERSTEGEN 1997a), indem es das Weiterbestehen und die Funktion der Corpora lutea unterstützt (OKKENS et al. 1985, 1990; FELDMAN u. NELSON 1987), während die Plasmaprolaktinkonzentration in der Lutealphase der nicht tragenden Hündin einen weitaus geringeren Anstieg auf im Durchschnitt 5 ng/ml erfährt (ONCLIN u. VERSTEGEN 1997a; KOOISTRA u. OKKENS 2001).

2.2.5. Relaxin

Relaxin ist ein insulinähnliches Peptidhormon (STEWART et al. 1992), dessen Bedeutung unter anderem vermutlich in der Vorbereitung des Geburtskanales auf die Geburt liegt (I-VELL u. EINSPANIER 2002). Das canine Relaxinmolekül zeigt relativ wenig Homologie mit den Relaxinmolekülen anderer Spezies und ist größer als die porzinen und equinen Relaxinmoleküle (STEWART et al. 1992).

Die Serumrelaxinkonzentration steigt nur bei tragenden Hündinnen während der zweiten Hälfte der Gravidität an (STEINETZ et al. 1987, 1989, 1990, 1996). Relaxin wird beim Hund im Gegensatz zum Menschen und anderen Spezies nur in geringerem Maße in den Corpora lutea der Ovarien, hauptsächlich aber in der Plazenta produziert, wobei der Synzythiotrophoblast als primäre Produktionsstätte anzusehen ist (STEINETZ et al. 1989; STEWART et al. 1992; KLONISCH et al. 1999). Zirkulierendes Relaxin kann daher, anders als beim Menschen und anderen Tierspezies, aufgrund seiner Hauptbildungsstätte im graviden Uterus beim Hund Angaben über den plazentären/uterinen Status der Trächtigkeit liefern (EINSPANIER et al. 2002), nach derzeitigem Kenntnisstand jedoch nicht über die Funktionstüchtigkeit der Ovarien.

Die Relaxin-Einzelwerte können starke individuelle Variationen aufweisen (STEWART et al. 1992; EINSPANIER et al. 1999), zudem finden sich zu den verschiedenen Messzeitpunkten innerhalb einer Gravidität zum Teil erhebliche Unterschiede (EINSPANIER et al. 2002). Eine Korrelation zwischen Relaxingehalt und der Anzahl an sonographisch diagnostizierten Embryonen/Feten und geborenen Welpen scheint nicht zu existieren (BUNCK et al. 2002; EINSPANIER et al. 2002).

EINSPANIER et al. (2002) untersuchten Beagle-Hündinnen mit intakter Gravidität und stellten einen Anstieg der Relaxinkonzentration zwischen Tag 20 und 25 p.ov. bis zum Ende der Gravidität auf Werte zwischen 8,6 und 33,7 ng/ml fest. In Geburtsnähe (Tag 60 p.ov.) fielen die Relaxinwerte auf Basisniveau unter 1 ng/ml ab. Bei in derselben Studie zwischen Tag 21 und 28 p.ov. mit $PGF_{2\alpha}$ behandelten Hündinnen entwickelten sich einige Feten bis Tag 58 bzw. 61 sonographisch normal weiter. Die Relaxinverlaufsmuster dieser Hündinnen entsprachen weitestgehend den Profilen der Hündinnen mit intakter Gravidität.

Dass der Anstieg der Relaxinkonzentration Ausdruck einer ungestörten Plazentation sein kann, wurde am Beispiel einer um den Zeitpunkt der Implantation mit $PGF_{2\alpha}$ medikierten

Hündin deutlich. Bei diesem Tier wurden die Implantationsprozesse offensichtlich durch die Behandlung gestört, so dass der bei allen anderen Hündinnen beobachtete initiale Relaxinanstieg ausblieb und erst um Tag 40 p.ov. einsetzte, obwohl sonographisch intakt erscheinende Fruchtanlagen im frühen Stadium der Trächtigkeit zu erkennen waren, was darauf hinwies, dass sich aus der Relaxinkonzentration Störungen der Implantation und Plazentation ableiten lassen, die sich der sonographischen Befunderhebung entziehen. Jedoch ließ sich durch die Relaxinbestimmung kein Rückschluss auf das Schicksal der Embryonen/Feten ziehen, da die Relaxinkonzentration trotz des bei der Mehrzahl der Früchte einsetzenden Todes mit anschließender partieller Resorption ein physiologisch erscheinendes Verlaufsmuster aufwies.

Relaxin ist offensichtlich an der Dezidualisierung endometrialer Stromazellen beteiligt und schafft durch die entsprechende Gewebemodellierung die Voraussetzung für die Implantation (ZHU et al. 1990; CHEN et al. 1998). Dabei beeinflusst Relaxin die für die Einnistung notwendige Gewebevorbereitung, indem es die Angiogenese fördert (EINSPANIER et al. 2001) und gewebemodulierende Enzyme aktiviert (HWANG et al. 1996). Eine ähnliche Funktion des Relaxin ist auch am Ovar denkbar, da für die Formation des Corpus luteum ebensolche Remodulierungsvorgänge wie Umbau und Angiogenese wichtig sind (DICKSON et al. 2001). Perfusion von Ovarien des Weißbüschelaffen, Callithrix jacchus, in der mittleren Lutealphase mit Relaxin führte zu einer signifikant gesteigerten Produktion von Progesteron und Estradiol-17β und deutete damit auf eine deutlich luteotrope Wirkung des Relaxins auf die Zellen des Corpus luteum hin (BEINDORFF et al. 2001; VERHAGEN 2002). Welche Funktion Relaxin am Ovar der Hündin einnimmt, ist derzeit noch ungeklärt.

2.2.6. Luteotrope und luteolytische Faktoren im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression

Als Anzeichen der Gelbkörperregression wird das kontinuierliche Absinken des Progesteronspiegels angesehen. Die der caninen Luteolyse zugrunde liegenden Mechanismen sind derzeit noch weitgehend unerforscht.

Man unterscheidet die funktionale Luteolyse (das Absinken der Progesteronsekretion) von der strukturellen oder morphologischen Luteolyse, welche die nachfolgenden Veränderungen der zellulären Struktur der Drüse und ihre allmähliche Involution bis zum Verbleiben einer klei-

nen Narbe aus Bindegewebe beschreibt (McCRACKEN et al. 1999). Die Unterscheidung ist bei den meisten Spezies kaum untersucht und dokumentiert, und die beiden Ereignisse können nicht definitiv voneinander getrennt werden (McCRACKEN et al. 1999).

Bleibt eine Gravidität nach der Ovulation aus, wird der Gelbkörper bei den meisten Spezies eliminiert, um den Beginn eines neuen ovarialen Zyklus zu ermöglichen (McCRACKEN et al. 1999). Bei Primaten geschehen Ovulation und Corpus luteum-Formation unter Kontrolle gonadotroper Hormone. Zum Ende der Lutealphase eines nicht graviden Zyklus unterliegt der Gelbkörper der Luteolyse, womit der Zyklus beendet ist. Die funktionale Luteolyse geschieht beim Primaten innerhalb einer Zeitspanne von ca. 48 Stunden (ZELEZNIK u. BENYO 1994). Im Falle der Befruchtung wird die Funktion des Gelbkörpers durch humanes Choriongonadotropin (hCG), welches von der implantierenden Blastozyste sezerniert wird, aufrecht erhalten. Auch bei vielen Haussäugetieren (z. B. Schwein, Schaf) laufen Ovulation und Corpus luteum-Formation unter der Kontrolle von Gonadotropinen ab. Der Zyklus besteht aus einer relativ kurzen Follikelreifungs- und einer relativ langen Lutealphase. Im nicht graviden Zyklus fällt der Gelbkörper der Luteolyse anheim und ein neuer Zyklus wird gestartet. Im Falle einer Befruchtung wird das uterine luteolytische Signal unterdrückt. Bei Schwein und Maus z. B. ist der Gelbkörper die alleinige Progesteronquelle, bei Schaf und Pferd übernimmt die Plazenta im weiteren Verlauf der Trächtigkeit die Hauptproduktion von Progesteron.

Einige Nagetiere (z. B. Maus, Ratte und Hamster) ovulieren spontan und sind etwa alle vier bis fünf Tage konzeptionsbereit, entwickeln jedoch nur nach einem Deckakt sekretorisch voll funktionstüchtige Gelbkörper. Bleibt die Befruchtung aus, bildet sich eine Pseudogravidität aus, welche bei den meisten Spezies durch luteolytische Mechanismen verkürzt wird. Katze, Hase und Frettchen benötigen einen coitalen Stimulus für die Auslösung des LH-Peak und damit der Ovulation. Die Gelbkörperfunktion wird im Falle der Befruchtung ebenso aufrechterhalten wie bei einer Pseudogravidität, wobei die Katze und die Häsin über einen Mechanismus zur Verkürzung der Lebensdauer der Gelbkörper verfügen (McCRACKEN et al. 1999).

Bei vielen Haussäugetieren und Primaten scheint LH das Hauptluteotropin zu sein. So verursacht z. B. Hypophysektomie bei Primaten (ZELESNIK u. BENYO 1994, FRASER et al. 1995) und Schafen (KALTENBACH et al. 1968; KARSCH et al. 1971) eine Regression des Corpus luteum – ein Effekt, der durch die Zufuhr von exogenem LH vermieden werden kann. Bei Primaten ist die Progesteronsekretion in der Lutealphase von einem pulsatilen LH-Ausstoß abhängig (FRASER et al. 1986), wohingegen sie beim Schaf bei konstanten minima-

len LH-Werten aufrechterhalten werden kann (McNEILLY et al. 1992). Bei der Hündin werden LH und Prolaktin benötigt, um die Funktion der Gelbkörper aufrecht zu erhalten (CONCANNON 1991).

Der Hund hat nur ca. zwei ovulatorische Zyklen im Jahr. Ovulation und Gelbkörperaufbau erfolgen auch hier unter dem Einfluss gonadotroper Hormone. Beim Hund sind jedoch keine speziellen Mechanismen bekannt, die die Lebensspanne der Gelbkörper verkürzen, so dass ihre funktionelle Lebenszeit bei der nicht tragenden Hündin annähernd so lang ist wie in der Trächtigkeit (McCRACKEN et al. 1999). Die Zeitspanne von der Ovulation bis zum Stadium des Corpus albicans beträgt bei der Hündin ca. acht Monate (DORE 1989). Anders als bei den meisten Nutztieren wird der Abbau der Gelbkörper bei der zyklischen Hündin nicht durch ein uterines Luteolysin ($PGF_{2\alpha}$) hervorgerufen, da Hysterektomie keinen Einfluss auf die Lebensspanne des caninen Corpus luteum hat (OKKENS et al. 1985; HOFFMAN et al. 1992). Nach HOFFMANN und SCHNEIDER (1993) läuft die Gelbkörperregression beim Hund unabhängig von der Höhe der LH-Konzentration ab, welche im Verlauf des Zyklus leicht ansteigt. Einer während der Lutealphase vorgenommenen Hypophysektomie folgt jedoch ein scharfer Abfall der Progesteronkonzentration und eine Verkürzung der Gelbkörperphase.

In den Corpora lutea verschiedener Spezies wurden zwei Arten steroidproduzierender Zellen gefunden. Die kleinen Zellen stammen wahrscheinlich von der vormaligen Theca interna, die großen von den Granulosazellen in der Follikelwand ab (ALILA u. HANSEL 1984). Die kleineren Zellen sezernieren geringe Progesteronmengen, reagieren auf LH-Stimulus aber mit einer Steigerung der Sekretion, während die größeren Zellen große Mengen an Progesteron sezernieren, aber keinem LH-Stimulus zugänglich sind (KOOS u. HANSEL 1981; FITZ et al. 1982).

Das Corpus luteum der Primaten sezerniert ein heterodimeres Glykoprotein, Inhibin, das vermutlich die Sekretion von FSH und damit die Entwicklung neuer Follikel in der Gelbkörperphase verzögert. Seine Produktion wird von GnRH-Antagonisten gehemmt und von hCG stimuliert, wohingegen bei Spezies, die wenig Inhibin produzieren (z. B. Schaf und Rind), während der Lutealphase wellenförmig Follikel angebildet werden (McCRACKEN et al. 1999). Bislang wurde die Existenz eines derartigen inhibitorischen Proteins beim Hund nicht erforscht. Ebensowenig ist belegt, dass Inhibin beim Primaten Einfluss auf die Luteolyse hat (FRASER et al. 1995).

Bei verschiedenen Spezies bildet das Corpus luteum Relaxin, dessen Rolle für die Funktion der Gelbkörper bislang unklar ist und mit der Luteolyse nicht in Zusammenhang zu bringen ist. Die Ovarien einiger Spezies (v. a. Wiederkäuer) sezernieren in der Lutealphase Oxytocin, das eine Rolle bei der Luteolyse spielen könnte (McCRACKEN et al. 1999).
Offensichtlich übernimmt bei Wiederkäuern, Schweinen, Pferden und Nagern ein im Uterus gebildetes Luteolysin eine wichtige Rolle bei der Regression des Corpus luteum (ANDERSON et al. 1969). Als solches wird das im Uterus reichlich vorhandene, venokonstriktorische $PGF_{2\alpha}$ angesehen (PHARISS u. WYNGARDEN 1969). Bei den oben genannten Spezies bewirkt Hysterektomie eine verlängerte Lebensdauer der Gelbkörper, während ähnliche Studien auch bei Primaten keinen Effekt zeigten (BEAVIS et al. 1969; NEILL et al. 1969; BELING et al. 1970; CASTRACANE et al. 1979). GERBER et al. (1979) fanden niedrige $PGF_{2\alpha}$-Konzentrationen im Uterusvenenblut spätgravider Hündinnen, jedoch höhere Konzentrationen von PGE_2 und PGI_2, deren physiologische Rolle bei der Hündin noch unklar ist (McCRACKEN et al. 1999).
Neben dem $PGF_{2\alpha}$ werden derzeit noch andere Mediatoren der strukturellen Luteolyse diskutiert. Makrophagen und andere Immunzellen können nach BENYO und PATE (1992) über den Ausstoß von Tumor-Nekrose-Faktoren und anderen Zytokinen eine Rolle bei der Luteolyse spielen. Ferner wird den Lysosomen und ihren Enzymen aufgrund der strukturellen Veränderungen der Lipide in der Plasmamembran von Luteinzellen während der Luteolyse eine Rolle bei der strukturellen Regression eingeräumt (BUHR et al. 1979). Gewebe-Metalloproteinasen (MMPs) werden für die Remodellierung des Corpus luteum während der Involution verantwortlich gemacht (BIRKEDAL-HANSEN 1995). Der Gelbkörper der Frau scheint spezifische TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) zu produzieren, um die strukturelle Integrität des Gewebes aufrecht zu erhalten (DUNCAN et al. 1999).

2.2.6.1. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ – Struktur und Wirkungsweise

Derzeit wird davon ausgegangen, dass $PGF_{2\alpha}$ bei den meisten Spezies der ausschlaggebende Faktor bei der Gelbkörperregression ist. Prostaglandine werden in praktisch allen Geweben produziert und gehören zu den Mediatoren (chemische Botenstoffe mit Beziehung zu Hormonen und Neurotransmittern). Prostaglandine sind Arachidonsäuremetabolite, die durch die Aktivität des Enzyms Cyclooxygenase entstehen. Die Arachidonsäure wird aus Phospholipi-

den nach Zellmembranschädigungen jeglicher Art durch Aktivierung membranständiger Phospholipase A_2 frei gesetzt.

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ist ein natürlich vorkommendes Prostaglandin (McCRACKEN et al. 1999). In Abhängigkeit von der Tierart senkt (Kaninchen, Katze) oder steigert (Ratte, Hund, Affe, Mensch) es den Blutdruck (GIERTZ u. FLOHE 1992). Beim Hund verursacht $PGF_{2\alpha}$ einen leichten Anstieg des Gefäßwiderstandes (NAKANO 1972) und erhöht die intraovariale Durchblutung ohne Wechselwirkung mit dem totalen Blutfluss, so dass der Gefäßwiderstand konstant bleibt (VARGA u. FOLLY 1977). Arteriovenöse Anastomosen im Hilus und Stroma des Hundeovars können durch $PGF_{2\alpha}$ unterschiedlich geöffnet und geschlossen werden, so dass der Blutfluss sich ändert. Auf die Pulmonalgefäße wirkt $PGF_{2\alpha}$ verengend und steigert an isolierten Herzpräparaten einiger Tierarten die Kontraktionskraft (GIERTZ u. FLOHE 1992). An der Längs- und Ringmuskulatur des Gastrointestinaltraktes wirkt $PGF_{2\alpha}$ kontrahierend, auf die Darmschleimhaut sekretionsfördernd (MONCADA et al. 1985). Diese Wirkung auf den Magen-Darm-Trakt ist die Ursache der starken Diarrhöen und der krampfartigen Bauchschmerzen, die man im Tierversuch und beim Menschen nach Anwendung von $PGF_{2\alpha}$ beobachtet. Am nicht graviden Uterus kann $PGF_{2\alpha}$ sowohl in vitro als auch in vivo Tonuserhöhungen und wehenartige Kontraktionen auslösen. Am graviden Uterus ist bei Primaten einschließlich des Menschen die kontrahierende Wirkung besonders ausgeprägt (MONCADA et al. 1985; GIERTZ u. FLOHE 1992).

Nach CONCANNON et al. (1988) wird die präpartale Luteolyse bei der tragenden Hündin durch Erhöhung des maternalen $PGF_{2\alpha}$ induziert. Der Progesteronabfall verursacht einen weiteren Anstieg des $PGF_{2\alpha}$, der die Luteolyse vervollständigt und den Uterustonus so erhöht, dass es zur Austreibung der Welpen kommt.

Spezifische $PGF_{2\alpha}$-Bindungsstellen wurden in Corpora lutea des Schafes (BALAPURE et al. 1989), der Ratte (BUSSMANN 1989), des Schweins (GADSBY et al. 1990) und des Menschen (POWELL et al. 1974) nachgewiesen. Ferner steigt die Zahl an $PGF_{2\alpha}$-Rezeptoren im Gelbkörper des Rindes (RAO et al. 1979) und Schweins (GADSBY et al. 1990) während der späteren Lutealphase an, was die geringe Wirksamkeit des $PGF_{2\alpha}$ in der frühen Lutealphase erklären könnte. Bei der Maus besteht eine positive Korrelation zwischen dem Auftreten von Apoptosen im Gelbkörper und der maximalen Expression von mRNA für den $PGF_{2\alpha}$-Rezeptor (HASUMOTO et al. 1997). Im Gelbkörper des Schafes sind die $PGF_{2\alpha}$-Rezeptoren an den großen Luteinzellen, die vornehmlich für die Progesteronsekretion verantwortlich sind,

lokalisiert (SCHWALL et al. 1986). Bei anderen Spezies wurden sie auch in den kleinen Luteinzellen und Endothelzellen gefunden (McCRACKEN et al. 1999).

Die luteolytische Wirkung des $PGF_{2\alpha}$ wird verschiedenen Mechanismen zugeschrieben. PHARRIS (1971) vermutet einen Gonadotropinantagonismus (Blockade der LH-Wirkung im Gelbkörper) oder die Reduktion des ovarialen Blutflusses.

Pharmakologisch wirksame Dosierungen von $PGF_{2\alpha}$ reduzieren beim Hund die ovariale Durchblutung (KÖSTER et al. 2001), während physiologische Konzentrationen über diesen Mechanismus keine Rückbildung des Corpus luteum hervorrufen (McCRACKEN et al. 1999).

Die schnelle, reversible Wirkung des $PGF_{2\alpha}$ auf die Progesteronproduktion kann auf der Hemmung der durch Bindung des LH an seine Rezeptoren hervorgerufenen Steroidgenese beruhen. Ein direkter Gonadotropinantagonismus des $PGF_{2\alpha}$ wurde in vitro nachgewiesen. Danach erhöht $PGF_{2\alpha}$ den Influx von Kalzium, das wiederum die Aktivierung der Adenylatzyklase hemmt. Die Adenylatzyklase wird durch LH aktiviert und vermittelt ihre Wirkung durch die Bildung von cAMP (zyklisches Adenosin-3', 5'-monophosphat) auf die Luteinzelle. Durch Verminderung des cAMP kommt es zur Drosselung der Progesteronsynthese (BEHRMAN 1979). MONCADA et al. (1985) vermuten ebenfalls, dass der Mechanismus der Luteolyse durch eine Blockierung der ovarialen Antwort auf die zirkulierenden Gonadotropine basiert. In vielen Geweben regulieren die Prostaglandine die Synthese von cAMP durch Aktivierung oder Hemmung der Adenylatzyklase.

In Untersuchungen an Ratten zeigten BJURULF und SELSTAM (1996), dass die Injektion von $PGF_{2\alpha}$ oder seiner Analoga einen dramatischen Abfall des mRNA-Gehaltes von LH-Rezeptoren verursacht. Seine Wirkung übt wahrscheinlich während der Luteolyse einen entscheidenden Einfluss auf die Hemmung der Reaktionsfähigkeit auf den LH-Stimulus aus.

Bei der Hündin wird die Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron durch natürliches $PGF_{2\alpha}$ blockiert. Diese Blockade wird einige Tage nach der Behandlung aufgehoben, so dass sich die Progesteronproduktion im Corpus luteum wieder normalisiert (VAN DER HORST u. VOGEL 1977). HALL (1985) sieht die Wirkung des $PGF_{2\alpha}$ in einer Blockade des Cholesterol-Transportes in die Mitochondrien und somit in einem Abbruch der Progesteronsynthese auf Vorstufenbasis. Nach CLARK et al. (1994) blockiert $PGF_{2\alpha}$ ein regulatorisches Protein, das für den Transport des Cholesterols verantwortlich ist, während JUENGEL et al. (1995)

eine Hemmung der mRNA-Translation des für die Synthese dieses Proteins verantwortlichen DNA-Abschnittes vermuten.
Obwohl $PGF_{2\alpha}$ als hauptsächlicher luteolytischer Faktor bei den meisten Spezies anerkannt ist, steht die Beteiligung des hypothalamisch-hypophysären Systems im Interesse weiterführender Studien (McCRACKEN et al. 1999).

2.2.6.2. Apoptose / Nekrose

Aufgrund von morphologischen, biochemischen und molekularen Unterschieden kann man Zelltod grob in zwei Kategorien unterteilen: Apoptose und Nekrose. Der programmierte Zelltod oder Apoptose ist die häufigste Form des Zelltodes in eukaryotischen Zellen.
In endokrinen Organen wird die Apoptose durch den Verlust funktionserhaltender Signalstoffe eingeleitet (RIEDE 1998) oder durch Signale von außen eingeschaltet und spielt sich nie haufenförmig, sondern immer nur an einzelnen Zellen ab (RIEDE 1995). Der programmierte Zelltod wird je nach Zellform z. B. durch Erreichen einer bestimmten Mitosezahl bei der Entwicklung embryonaler Gewebe oder eines bestimmten Zellalters bei Erythropoese und Mausergewebe durch Verlust funktionserhaltender Signalstoffe bei endokrinen Organen oder Exposition mit bestimmten Noxen ausgelöst. Induktoren sind u. a. Suppressorgene, Wachstumsfaktor-Entzug, Tumornekrosefaktor aus Makrophagen und Perforine von Lymphozyten und natürlichen Killerzellen. Als Inhibitoren gelten Wachstumsfaktoren und Protoonkogene. Nach endo- oder exogenem Stimulus können die apoptotischen Veränderungen an Zellmembran, Zytoplasma oder Nukleus beginnen (RIEDE 1998). Apoptotische Zellen zeigen charakteristische Veränderungen bezüglich Kern und Zytoplasma: Fältelung der Plasmamembran, Auflösung der Zellkontakte, Ausstülpung von Zytoplasmablasen (Apoptosekörper), kernperiphere Chromatinverklumpung (RIEDE 1998) und Kernzerfall, welcher von einer Schädigung des Chromatins und der Aufspaltung der DNA in Fragmente durch eine kalziumabhängige endogene Endonuklease begleitet wird (COMPTON 1992). Bei Zellen, die einem programmierten Zelltod zum Opfer gefallen sind, finden sich im Gegensatz zum provozierten Zelltod keinerlei Zeichen zytoplasmatischer Anpassungsreaktion oder einer reparativ-resorptiven Entzündung. Der Abtransport des Detritus erfolgt durch Phagozytose (RIEDE 1995). Das Endprodukt der Apoptose ist Kernpyknose (Schrumpfung) und Karyorrhexis (Fragmentation) (WYLLIE et al. 1980; SU et al. 1994).

Nekrose hingegen ist ein passiver Vorgang, bei dem die geschädigte Zelle selbst keine direkte Einflussnahme in den Prozess zeigt (EASTMAN 1993) und aufgrund von irreversiblen (meist oxidativen) Stoffwechselstörungen, die entweder den Struktur-, Funktions- oder Proliferationsstoffwechsel betreffen, abstirbt. Dem provozierten Zelltod gehen in der Regel adaptive Zellveränderungen zum Zwecke der Kompensation voraus, die letale Zellschädigung ist in die reversible und die irreversible Phase unterteilt, die letztlich die Zellnekrose einleitet. Je nach Noxe kommt es zu einer Schädigung der DNA oder der Proteinbiosynthese. Eine Ischämie unterbricht die mitochondriale Atmungskette, eine immunologische Zytolyse zerstört die Zellmembranen. Typische Merkmale einer Nekrose sind ein herdförmiges Auftreten und eine begleitende Entzündungsreaktion im umliegenden Gewebe.

Gelingt es der Zelle, den irreversiblen Schaden herdförmig abzugrenzen, entsteht eine fokale Zytoplasmanekrose. Der im Rahmen einer Zellschädigung betroffene Bereich wird durch eine Membranhülle vom gesunden Zytoplasma abgekapselt und durch lytische Enzyme abgebaut.

Bei der Koagulationsnekrose spielen die katabolen Lysosomen eine untergeordnete Rolle. Vor allem bei Hypoxydose kommt es zu einer Schädigung der Mitochondrien und damit des oxidativen Stoffwechsels, die mit Kernpyknose, Karyorrhexis und Karyolyse und einem Zerfall des Zytoskeletts einhergehen. Im Rahmen der Kolliquationsnekrose, die in Geweben zu finden ist, in denen entweder nur wenige koagulierbare Proteine vorhanden sind (z. B. Gehirn) oder Proteasen als Sekretprodukt gebildet werden (z. B. Pankreas), dominieren hydrolytische Abbauvorgänge. Apoptose und Nekrose können unter anderem licht- und elektronenmikroskopisch sowie immunhistochemisch untersucht werden (RIEDE 1995).

BRUCE et al. (2001) wiesen nach, dass einige Zellen des Corpus luteum der Ratte während des physiologischen Zyklus und der Trächtigkeit einer geringgradigen Apoptose unterliegen, die aber offenbar keinen Einfluss auf die Funktionalität des Gelbkörpers hat. Vereinzelte apoptotische Zellen beobachteten auch KENNY et al. (1994) an funktionstüchtigen Blüte-Gelbkörpern von Schafen, sowie JUENGEL et al. (1993) und ZHENG et al. (1994) bei Kühen, DHARMARAJAN et al. (1994) bei Häsinnen, McCORMACK et al. (1998) bei Goldhamstern und AL-ZI'ABI et al. (2002) bei Stuten. ARFUSO und MEYER (2003) fanden mit Hilfe der TUNEL-Methode heraus, dass die Gefäße im Corpus luteum der tragenden Ratte nicht der Apoptose unterliegen. AIUDI et al. (2004) fanden mittels DNA-laddering und Gel-Elektrophorese schon ab Tag 15 der Lutealphase erste Anzeichen apoptotischer Veränderungen im Gelbkörper ingravider Hündinnen, deren Anzahl im Verlauf der Lutealphase anstieg.

Hingegen konnten SONNACK et al. (2003) im Gelbkörper zyklischer Hündinnen mittels Elektronenmikroskopie und dem Nachweis von Caspase-3, einem von verschiedenen Enzymen im Apoptoseprozess, erst zwischen Tag 60 und 80 der Lutealphase erste Anzeichen von Degeneration und Apoptose beobachten.

Behandlung mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$

FRASER et al. (1999) stellten durch licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen erhebliche Unterschiede an Gelbkörpern von Primaten mit natürlicher und durch Prostaglandin induzierter Luteolyse fest. Im Zuge der natürlichen Regression von Gelbkörperzellen kam es zu Zellatrophie, Kondensation zytoplasmatischer Einschlüsse und Organellen und Akkumulation von Lipiden. Dagegen enthielten durch $PGF_{2\alpha}$ zur Luteolyse gebrachte Gelbkörper eine erhebliche Anzahl kleiner und größerer Vesikel, die später zu Vakuolen konfluierten sowie geschrumpfte Kerne. JUENGEL et al. (1993) fanden dagegen mittels DNA-Fragmentierung an bovinen Corpora lutea keinen Unterschied im Apoptosebild bei spontaner und durch $PGF_{2\alpha}$-induzierter Luteolyse. YOUNG et al. (1997) stellten eine erhöhte Anzahl an apoptotischen Luteinzellen bei Weißbüschelaffen (Callithrix jacchus) nach Behandlung mit dem $PGF_{2\alpha}$-Analogon Cloprostenol in der mittleren Lutealphase fest. Apoptotische DNA-Fragmentierung kann auch bei Ratten (BOONE u. TSANG 1998; WANG et al. 2003) und Schafen (RUEDA et al. 1995, 1999) durch Applikation von $PGF_{2\alpha}$ ausgelöst werden. SAWYER et al. (1990) beobachteten bei Schafen nach Gabe einer luteolytischen Dosis $PGF_{2\alpha}$ eine ungleichmäßige Degeneration der Gelbkörperzellen, so dass einige Zellen unabhängig von der Zeitspanne nach $PGF_{2\alpha}$-Gabe morphologisch intakt erschienen, während sich andere bereits im fortgeschrittenen Stadium der Apoptose befanden.
AIUDI et al. (2004) behandelten tragende Hündinnen in der Mitte der Gravidität zwischen einem und vier Tage mit 0,15 mg/kg Luprostiol intravaginal und beobachteten dabei mittels DNA-laddering und Gel-Elektrophorese im Vergleich zu unbehandelten zyklischen Hündinnen einen Anstieg der Apoptoserate im Gelbkörper, der mit sinkender Progesteronkonzentration zunahm.

Behandlung mit RU 486

72 Stunden nach Verabreichung des Antigestagens RU 486 an Ratten in der späten Trächtigkeit beobachteten TELLERIA et al. (2001) eine gesteigerte Anzahl apoptotischer Luteinzellen im TUNEL-Verfahren, welche sich in der H.-E.-Färbung mit zytoplasmatischer Desorganisation, Kondensation des Kernchromatins, prominentem Nucleolus und perinukleärem Spalt darstellten. Durch Verabreichung von $PGF_{2\alpha}$ konnte in derselben Trächtigkeitsphase ein ähnlicher Effekt erzielt werden. SINGH et al. (1988) vermuteten aufgrund entsprechender Ergebnisse nach Verabreichung von RU 486 an Ratten in der Mitte der Trächtigkeit, dass Antiprogestine neben ihrem antagonistischen Effekt an den Progesteronrezeptoren des Uterus eine hemmende Wirkung auf die Lutealfunktion ausüben. In kultivierten bovinen Luteinzellen beobachteten RUEDA et al. (2000) nach der Applikation von RU 486 innerhalb von 48 Stunden eine Zunahme von DNA-Fragmenten um 40 %.
Beim Hund wurde die Reaktion der Corpora lutea auf eine Medikation mit Antigestagenen bislang histochemisch nicht untersucht.
SPERANDIO et al. (2000) und WYLLIE und GOLSTEIN (2001) vertreten die Ansicht, dass neben der Apoptose und Nekrose weitere Formen des Zelluntergangs existieren, die keinem der klassischen Muster entsprechen. So fanden FRASER et al. (1999) bei Primaten und ALZI'ABI et al. (2002) bei Stuten bei spontaner und induzierter Luteolyse Gelbkörperzellen, die einem nicht-apoptotischen Zelltod unterlagen. Inwiefern ähnliche Veränderungen am Hundeovar zu beobachten sind, ist bislang noch unerforscht.

2.3. Störungen der caninen Trächtigkeit / Gelbkörperinsuffizienz

Fruchtverluste können beim Hund in jedem Stadium der Trächtigkeit auftreten und äußern sich je nach Ursache, Gestationsstadium und Reaktionen von Muttertier und Frucht in embryonalem oder fetalem Fruchttod, Resorptionen, Aborten, Totgeburt oder Welpensterblichkeit. Neben heute noch wenig erforschten Ursachen wie chromosomalen Abnormalitäten und Entwicklungsstörungen der Frucht spielen infektiöse Ursachen viraler (Staupe, Parvovirose und Canines Herpesvirus), bakterieller (Brucella canis, Escherichia coli, Mykoplasmen) und parasitärer (Toxoplasma gondii) Herkunft bei der Hündin eine Rolle. Traumen, die Behandlung mit abortauslösenden oder teratogenen Medikamenten, aber auch Erkrankungen endokriner

Organe wie z. B. Diabetes mellitus, Hyperadrenokortizismus und Hypothyreose können bei tragenden Hündinnen zum Fruchtverlust führen (JOHNSTON u. RAKSIL 1987).
Erfahrungswerte haben ergeben, dass bei Fehlen oder ungenügender Bereitstellung des für eine ungestörte Trächtigkeit essentiellen Progesterons die Aufrechterhaltung der Gravidität nicht möglich ist (SOKOLOWSKI 1971; PURSWELL 1991; GÜNZEL-APEL et al. 2003). Die Ursache für eine unzureichende Produktion von Progesteron durch die Gelbkörper ist beim Hund bislang nicht erforscht. Bei tragenden Hündinnen wurde ein unphysiologischer Abfall der Progesteronkonzentration meist zwischen Tag 20 und 35 p.ov. (teilweise auf Werte unter 2 ng/ml) beschrieben, in dessen Folge die Resorption oder der Abort einiger, mehrerer oder aller Fruchtanlagen eintrat (PURSWELL 1991; GÜNZEL-APEL et al. 2003). Dabei starben die Früchte nicht gleichzeitig, sondern zeitverzögert ab. Oftmals überlebten einige Früchte den Progesteronabfall und wurden dann lebensschwach geboren. Als Folge der verkürzten Lutealphase kann sich der gesamte Zyklus der Hündin verkürzen (GÜNZEL-APEL et al. 2003).
Aufgrund der klinischen Beobachtungen wird davon ausgegangen, dass die Lutealinsuffizienz Ursache einer gestörten Fruchtbarkeit beim Hund sein kann. Dabei handelt es sich in erster Linie um Hündinnen der Rasse Deutscher Schäferhund, in Einzelfällen sind auch Neufundländer, Berner Sennenhunde und Britische Hütehunde beschrieben. In typischen Fällen enthält der Vorbericht den Hinweis auf einen verkürzten Zyklus von drei bis fünf Monaten in Kombination mit Unfruchtbarkeit oder mit partiellem oder vollständigem Verlust der Trächtigkeit.
Im Rahmen einer klinischen Studie an tragenden Hündinnen der Rasse Deutscher Schäferhund konnte gezeigt werden, dass die sonographisch ermittelte Anzahl an Embryonen/Feten und die Anzahl geborener Welpen bei Hündinnen mit intakter Gelbkörperfunktion höher und die Resorptionsrate geringer war als bei Hündinnen mit Verdacht der Lutealinsuffizienz. Gleichzeitig waren die Relaxin- und Prolaktinwerte in der Verdachtsgruppe trotz Progesteronsubstitution deutlich niedriger als in der Kontrollgruppe (GÜNZEL-APEL et al. 2003).

2.4. Methoden des Trächtigkeitsabbruchs bei der Hündin

Per definitionem handelt es sich bei einem Trächtigkeitsabbruch um die Beendigung einer bereits etablierten Gravidität, d. h. nach erfolgter Implantation und Plazentation. Den meisten Fällen eines Trächtigkeitsabbruchs geht eine ungewollte Bedeckung der Hündin voraus. Ne-

ben der Ovariohysterektomie gibt es eine Reihe medikamentöser Verfahren, die zum Trächtigkeitsabbruch eingesetzt werden. Auf der Basis der aktuellen Kenntnisse über die hormonelle Aufrechterhaltung der caninen Trächtigkeit steht die Anwendung von Pharmaka im Vordergrund, die die Progesteronsekretion der Corpora lutea senken oder die Progesteronwirkung auf Rezeptorebene unterbinden (EILTS 2002).

2.4.1. Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ und –Analoga auf die Lutealfunktion der graviden Hündin

2.4.1.1. Natürliches Prostaglandin $F_{2\alpha}$

Beim Hund wird, im Gegensatz zu anderen Spezies, eine vollständige Luteolyse nur durch wiederholte Gaben von $PGF_{2\alpha}$ erzielt (CONCANNON u. MEYERS-WALLEN 1991; ROMAGNOLI et al. 1991; LANGE et al. 1997; SALPIGTIDOU 1998). Nach LEIN et al. (1989) sind die Gelbkörper der Hündin im Vergleich zu anderen Tierarten unempfänglicher für die Wirkung des $PGF_{2\alpha}$, so dass eine einmalige Verabreichung von $PGF_{2\alpha}$ oder mehrmalige Behandlung in geringer Dosierung lediglich eine vorübergehende und unvollständige Suppression, jedoch keine komplette Auflösung der Gelbkörper bedingt.

CONCANNON und HANSEL (1977) verabreichten tragenden Hündinnen zwischen Tag 25 und 58 nach dem LH-Peak zwei bzw. drei Mal täglich niedrige Dosen $PGF_{2\alpha}$ (20 bzw. 30 µg/kg $PGF_{2\alpha}$), die in allen Fällen ein Sinken der Progesteronkonzentration bewirkten. Aborte fanden bei Tieren statt, die ab Tag 30 nach dem LH-Peak behandelt wurden und 56 bis 80 Stunden nach Behandlungsbeginn eine Progesteronkonzentration von 0,6 bis 1,4 ng/ml aufwiesen. Blieb die Progesteronkonzentration nur geringfügig über 2 ng/ml, kam es nicht zum Trächtigkeitsabbruch.

Bei Hündinnen, die vom Tag 21 bis 42 nach der Bedeckung für zwei bis sechs Tage ein oder zwei Mal täglich 30-250 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ erhielten, wurde Abort ausgelöst, während Hündinnen, die im ersten Drittel der Trächtigkeit behandelt wurden, normal geworfen haben. Nach OETTLE (1982) hat daher natürliches $PGF_{2\alpha}$ erst ab dem zweiten Drittel der Trächtigkeit eine luteolytische Wirkung. Mit zweimal täglichen Gaben von 250 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ induzierten PARADIS et al. (1983) bei fünf Hündinnen am Tag 31 bis 35 des Metöstrus einen drastischen Abfall der Progesteronkonzentration und damit auch den Abbruch der Trächtigkeit.

Nach LEIN et al. (1989) ist die Induktion einer kompletten permanenten Luteolyse von der Dauer der Behandlung und nicht von der totalen $PGF_{2\alpha}$-Dosis abhängig. Die Behandlung fehlgedeckter Hündinnen zwischen dem 26. und 55 Tag post coitum mit $PGF_{2\alpha}$ (initial 25 µg/kg, später 50 µg/kg i.m. zweimal täglich für vier bis zehn Tage) führte innerhalb von zwei bis neun Tagen nach Behandlungsbeginn mit einer Ausnahme zum Verlust aller Früchte.
Ebenso erzielten WICHTEL et al. (1990) einen Abort bei Hündinnen, die vom Tag 43 bis 45 p.ov. mit einer Dosis von zweimal täglich 125 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ s.c. behandelt wurden. Erfolgte der Abort nicht innerhalb der drei Behandlungstage, wurde die Medikation fortgesetzt. Die Aborte fanden bei Progesteronwerten unter 1,5 ng/ml statt. Auch FELDMAN et al. (1993), konnten sowohl mit 250 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ bei zweimaliger Gabe pro Tag, als auch mit 100 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ dreimal täglich, Aborte auslösen. Die Behandlung begann am Tag 30 bis 35 nach dem Deckakt und wurde solange fortgeführt, bis der Abort eingetreten war. Innerhalb von 48 Stunden fiel die Progesteronkonzentration auf < 2,0 ng/ml, innerhalb von neun Tagen wurden alle Feten abortiert.
HUBLER et al. (1993) konnten mit geringen $PGF_{2\alpha}$-Dosen (20 bis 30 µg/kg, i.m.) in der fünften bis siebten Trächtigkeitswoche einen Abort auslösen. Dazu wurden die Tiere drei bis vier Mal täglich behandelt. Die Aborte fanden innerhalb von vier bis elf Tagen nach Behandlungsbeginn statt.
LANGE et al. (1997) induzierten mit nur 20 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ (dreimal täglich s.c.) bereits zu Beginn des zweiten Trächtigkeitsdrittels (Tag 20/21 bis 26/27 p.ov.) embryonalen Fruchttod. Nach siebentägiger Behandlung waren alle Früchte abgestorben. Da die Gelbkörper sich nach Absetzen der Medikation partiell wieder erholten, d. h. keine komplette Luteolyse erzielt wurde, zog sich die Resorption der Feten zum Teil über drei Wochen hin, was als Risiko im Hinblick auf die Entstehung einer Endometritis oder Pyometra angesehen wird.
SALPIGTIDOU (1998) behandelte tragende Beagle-Hündinnen im zweiten Drittel der Gravidität über drei bis vier Tage dreimal täglich mit 50 bzw. 100 µg/kg natürlichem $PGF_{2\alpha}$. Zwar wurde auch hier innerhalb von zwei bzw. drei Tagen ein Absinken der Progesteronkonzentration auf < 2 ng/ml beobachtet, jedoch konnte ebenfalls keine permanente Luteolyse erzielt werden. Einige Feten überlebten den vorübergehenden Abfall der Progesteronkonzentration und starben kurz vor der Geburt ab.
EINSPANIER et al. (2002) untersuchten die Relaxinkonzentrationen von Hündinnen, die zwischen Tag 21 und 28 p.ov. mit dreimal täglichen Gaben von 50-100 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ behan-

delt worden waren. Nach Resorption bzw. Abort der Mehrzahl der Früchte entwickelten sich einige Feten bis Tag 58 bzw. 61 p.ov. sonographisch normal weiter. Die Relaxinverlaufsmuster dieser Hündinnen entsprachen weitestgehend den Profilen der Kontrolltiere, so dass sich laut Meinung der Autoren durch Relaxinbestimmung kein Rückschluss auf das Schicksal der Embryonen/Feten ziehen lässt.

2.4.1.2. Nebenwirkungen von natürlichem $PGF_{2\alpha}$

Die Nebenwirkungen von $PGF_{2\alpha}$ sind hauptsächlich von der Dosierung, aber auch von der Art und Dauer der Applikation abhängig (LEIN 1986a, b).
JÖCHLE et al. (1973) beobachteten 30 Sekunden nach intravenöser Gabe von 300 µg $PGF_{2\alpha}$ Erbrechen, leichte Inkoordination bei einer Dosis von 2000 µg. Die Symptome waren bei wiederholter Behandlung weniger ausgeprägt und alle Hunde zeigten binnen weniger Minuten nach Behandlungsende ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Die intramuskuläre Gabe geringer Dosen (20-30 µg/kg mehrmals täglich) ist als nebenwirkungsfrei zu bezeichnen (CONCANNON u. HANSEL 1977; HUBLER et al. 1993).
Nach ROMAGNOLI et al. (1993) sind individuelle Reaktionen zu erwarten. Neben dem möglichen Ausbleiben von Nebenwirkungen wurden nach subkutaner Gabe von 30 bis 250 µg/kg $PGF_{2\alpha}$ in verschiedenen Versuchsanordnungen bei einigen Hündinnen leichtes Hecheln, Speicheln, gelegentliches Erbrechen, Urin- und/oder Kotabsatz mit oder ohne Durchfall (OETTLE 1982; OETTLE et al. 1988; PARADIS et al. 1983; WICHTEL et al. 1990; ROMAGNOLI et al. 1992) bis zu Tachypnoe, peripherer Vasodilatation, leichter Exophthalmie und reduzierter Durchblutung der Schleimhäute in Einzelfällen (SANCHEZ DE LA MUELA et al. 1989) beschrieben. Sämtliche Nebenwirkungen waren spätestens drei Stunden nach der Injektion abgeklungen. Hündinnen, bei denen ein intrauteriner Fruchttod mit Resorption ausgelöst wurde, zeigten eine Erhöhung der Leukozytenzahl im Blut (LANGE et al. 1997).

2.4.1.3. Einfluss der $PGF_{2\alpha}$-Behandlung auf die Zyklusdauer

Eine Verkürzung des Östrusintervalls wurde bei Hündinnen beobachtet, die während der ersten acht Wochen des Diöstrus mit $PGF_{2\alpha}$ in einer Dosierung von 60-500 µg/kg/Tag für drei bis sechs Tage behandelt wurden. OETTLE et al. (1985) vermuten, dass das Östrusintervall

kürzer ist, je früher die Hündin im Diöstrus behandelt wird, jedoch konnten LANGE (1995) und SALPIGTIDOU (1998) die von OETTLE et al. (1985) beschriebene typische Verkürzung des Östrusintervalls nach Behandlung mit $PGF_{2\alpha}$ in den ersten acht Wochen der Lutealphase nicht in jedem Fall bestätigen.

2.4.1.4. Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Analoga

Eine einzige subkutane Injektion von 20 µg/kg eines synthetischen $PGF_{2\alpha}$-Analogons (TPT: 11α, 15α-trihydroxy-16-phenoxy-17, 18, 19, 20-tetranorprosta 4, 5, 13 transtrienoic acid) führte bei allen Hündinnen, die zwischen Tag 30 und 43 der Trächtigkeit behandelt wurden, innerhalb von fünf bis sieben Tagen nach Behandlungsende zum Abort (VICKERY u. McRAE 1980). Nach Behandlung zwischen Tag 20 und 22 der Trächtigkeit kam es bei 50% der Tiere zu Fruchtresorptionen, während bei den anderen 50% die Trächtigkeit ungestört blieb. Als Nebenwirkungen wurden Hypo- und Hyperthermie, Speicheln, Durchfall und Erbrechen verzeichnet, welche nach spätestens drei Stunden nicht mehr wahrnehmbar waren.
JACKSON et al. (1982) haben 42 Beaglehündinnen im Gestationsalter von vier bis 35 Tagen mit den $PGF_{2\alpha}$-Analoga Fluprostenol und Cloprostenol in Dosierungen von 10 bis 40 µg/kg in verschiedenen Präparatformen und Verabreichungsmodi (subkutane Injektion, Depotpräparat, intravaginale Verabreichung) behandelt. Bei Hündinnen, die ab dem 25. Tag der Trächtigkeit behandelt wurden, wurde ein permanenter Abfall der Progesteronkonzentration auf Basalwerte und ein Abbruch der Trächtigkeit zu 80 % verzeichnet, während ein Fruchtverlust bei Behandlung in einer früheren Trächtigkeitsphase nur zu 27 % eintrat. Die Nebenwirkungen reichten je nach Rezeptur von milden Begleiterscheinungen wie erhöhter Atemfrequenz bis zu Durchfall und abdominalen Krämpfen, welche spätestens 2,5 Stunden nach Verabreichung abklangen.
SHILLE et al. (1984) behandelten Hündinnen im zweiten (Tag 30-35 p.ov.) und letzten (Tag 53-58 p.ov.) Drittel der Trächtigkeit mit einem synthetischen Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Analogon und fanden nach Ovariohysterektomie im Vergleich zu unbehandelten Kontrollhündinnen stärker degenerierte Corpora lutea vor. Die Luteinzellen waren vakuolisiert und von ungleicher Größe, die Gelbkörper vermehrt vaskularisiert und von Fibroblasten durchzogen.

2.4.1.5. Cloprostenol

Cloprostenol (Estrumate®, Fa. Essex Tierarznei, München), ein synthetisch hergestelltes Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Analogon, wirkt luteolytisch und induziert Kontraktionen der glatten Muskulatur (Uterus, Gastro-Intestinaltrakt, Respirationstrakt, Gefäss-System). Eine Luteolyse führt zur Aufhebung des negativen Rückkopplungsmechanismus von Progesteron (KROKER 1997). Cloprostenol zeichnet sich gegenüber natürlichem Prostaglandin F_{2a} durch höhere, spezifisch luteolytische Eigenschaften aus, während die direkte Wirkung von Cloprostenol auf die glatte Muskulatur ungefähr derjenigen von natürlichem Prostaglandin F_{2a} entspricht (LÖSCHER 1997).

Estrumate® ist bislang nicht für die Anwendung beim Hund zugelassen. Bei Rind und Schwein zeigen sich nach intramuskulärer Injektion von Cloprostenol innerhalb von 15 Minuten bis 2 Stunden Gipfelwerte im Plasma. Die danach auftretende Phase der schnellen Elimination ist durch eine Halbwertszeit von einer bis drei Stunden gekennzeichnet. Für die sich anschließende Phase der langsamen Elimination über einen Zeitraum von 48 Stunden gilt eine Halbwertszeit von ca. 28 Stunden (CLINIPHARM 2003).

2.4.2. Prolaktinantagonisten

Das Hypophysenhormon Prolaktin steigt bei der tragenden Hündin etwa ab Tag 30 p.ov. an und übernimmt ab der Mitte der Lutealphase neben LH eine wichtige Aufgabe in der Aufrechterhaltung der Trächtigkeit (ONCLIN u. VERSTEGEN 1997a), indem es das Weiterbestehen der Corpora lutea unterstützt und die Progesteronsekretion sicherstellt (OKKENS et al. 1985; FELDMAN u. NELSON 1987).

Hypothalamisches Dopamin gilt als der hauptsächliche Prolactin Inhibiting Factor bei der Steuerung der Prolaktinsekretion und –freisetzung. Prolaktinantagonisten (Cabergolin, Bromokriptin) stimulieren beim Hund die Dopaminrezeptoren an den laktotrophen Zellen der Hypophyse und verhindern die Sekretion und Ausschüttung von Prolaktin, so dass ein Absinken der Progesteronkonzentration durch mangelnde luteotrope Stimulation erfolgt (POST et al. 1988; ONCLIN et al. 1993).

2.4.2.1. Cabergolin

Cabergolin, (1[6-allylergolin-8β-yl]-1-[3-(dimethylamino)propyl]-ethylurea), ein Ergolin-Derivat und Dopamin-Agonist, ist durch seine anti-prolaktinerge Wirkung ein zuverlässiges Mittel in der Behandlung der Pseudogravidität der Hündin (ARBEITER et al. 1988; HARVEY et al. 1997) und wurde in verschiedenen Versuchsstrukturen zum Trächtigkeitsabbruch eingesetzt. Seine Wirkung beruht auf einer direkten Stimulierung dopaminerger Rezeptoren auf Prolaktin produzierende und –ausschüttende Zellen in der Hypophyse (ONCLIN et al. 1993). Als Nebenwirkung der Verabreichung von Cabergolin kann Erbrechen auftreten (ONCLIN u. VERSTEGEN 1996; HARVEY et al. 1997).

Cabergolin erreicht beim Hund vier bis acht Stunden nach oraler Verabreichung maximale Plasmakonzentrationen, die mehrere Tage erhalten bleiben (CLINIPHARM 2003).

POST et al. (1988) behandelten Hündinnen in der mittleren (3.-6. Trächtigkeitswoche) und späten (> 6. Trächtigkeitswoche) Gravidität über fünf Tage mit täglich 5 bzw. 15 mg/kg Cabergolin. Bei keiner der in der mittleren Lutealphase behandelten Hündinnen konnte ein Trächtigkeitsabbruch erzielt werden. Während der Behandlungszeit kam es zwar zu einem Abfall der Progesteronkonzentration, jedoch wurden keine basalen Werte erreicht. Alle Hündinnen, denen in der späten Trächtigkeit Cabergolin verabreicht wurde, zeigten 24 Stunden nach Behandlungsbeginn einen Abfall der Prolaktinkonzentration und abortierten innerhalb von drei bis fünf Tagen nach Behandlungsbeginn bei basaler Progesteronkonzentration. Die Autoren halten Cabergolin daher in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit für ein geeignetes luteolytisches Medikament.

ONCLIN et al. (1993) lösten mit einer Cabergolinbehandlung bei tragenden Hündinnen über fünf bis sechs Tage ab Tag 40 nach LH-Peak einen Abort aus. Die Progesteronkonzentration fiel innerhalb von sechs Tagen auf Werte < 2 ng/ml ab und blieb auf basalem Niveau. Bei Cabergolingabe zwischen Tag 30 und 40 nach LH-Peak blieb die Progesteronkonzentration bei 33 % der Tiere über 2 ng/ml. Die Cabergolinbehandlung ab Tag 25 nach dem LH-Peak führte nur bei 25 % der Tiere zu einem Absinken der Progesteronkonzentration. Das Interöstrusintervall betrug bei allen behandelten Tieren ca. sechs Monate.

ONCLIN und VERSTEGEN (1997b) riefen bei tragenden Hündinnen durch einmalige Gabe von 5 µg/kg Cabergolin am Tag 30 nach LH-Peak innerhalb von 24 Stunden einen deutlichen Abfall der Prolaktinkonzentration auf Basiswerte hervor. Die Progesteronkonzentration fiel

innerhalb von 56 Stunden um ca. 72 % der Ausgangswerte ab. Die LH-Konzentration blieb konstant. Zwei bis drei Tage nach der Behandlung war ein erneuter Anstieg der Progesteron- und Prolaktinkonzentration auf Ausgangswerte zu verzeichnen.

2.4.3. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ in Kombination mit Prolaktinantagonisten

Die Kombination von $PGF_{2\alpha}$-Analoga und Prolaktinantagonisten ist ein wirksames Mittel zum Abbruch unerwünschter Trächtigkeiten, da es ab Tag 25 nach LH-Peak, praktisch also zur Zeit der Trächtigkeitsdiagnose, mit großer Zuverlässigkeit eingesetzt werden kann und die Nebenwirkungen auslösende hohe Dosierung von Cloprostenol durch die Kombination mit Cabergolin reduziert werden kann (ONCLIN et al. 1995; ONCLIN u. VERSTEGEN 1996, 1999).

ONCLIN et al. (1995) behandelten tragende Hündinnen mit einer Kombination aus Cloprostenol (2,5 µg/kg/Tag s.c. über fünf Tage) und Cabergolin (1,65 µg/kg/Tag, s.c. über fünf Tage) ab Tag 25 nach LH-Peak. Alle Hündinnen zeigten innerhalb von 48 Stunden nach Behandlungsbeginn einen drastischen Abfall der Progesteronkonzentration auf Basiswerte. Bei einer Hündin stiegen die Progesteronwerte 20 Tage nach Behandlungsende wieder an. Diese Hündin entwickelte eine Pyometra. Im Rahmen eines späteren Versuchsaufbaus mit veränderten Dosierungen (1 µg/kg/Tag Cloprostenol s.c. bis zum Fruchtverlust und 5 µg/kg/Tag Cabergolin oral für zwei Tage länger) (ONCLIN u. VERSTEGEN 1996) fielen die Progesteronwerte ebenfalls innerhalb von 48 Stunden nach Behandlungsbeginn deutlich ab und hatten nach 72 Stunden Basalwerte erreicht. Ein erneutes Ansteigen der Progesteronkonzentration wurde nicht verzeichnet. Das Interöstrusintervall war bei allen Hündinnen verkürzt. ONCLIN u. VERSTEGEN (1999) stellten bei Behandlung tragender Hündinnen ab Tag 28 nach LH-Peak verschiedene Kombinationen von Cloprostenol und Cabergolin bzw. Cloprostenol und Bromokriptin zum Vergleich und erzielten bei beiden Kombinationen einen Abfall der Progesteronkonzentration innerhalb von zwei Tagen nach Behandlungsbeginn. Nach durchschnittlich drei Tagen waren die Progesteronwerte auf < 1 ng/ml gefallen und verblieben bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (Tag 50 nach LH-Peak) auf basalem Niveau. Bei einer Hündin wurde drei Tage nach Behandlungsende (Tag 32 nach LH-Peak) ein geringgradiger Wiederanstieg der Progesteronkonzentration beobachtet und einige Früchte überlebten das vorübergehende Absinken der Progesteronwerte.

2.4.4. Antiprogestine

Antiprogestine sind synthetische, hormonähnliche Steroide, welche eine im Vergleich zum endogenen Progesteron stärkere Affinität zu Progesteronrezeptoren haben und mit Progesteron um die Besetzung seiner Rezeptoren konkurrieren. Aus der Besetzung der uterinen Progesteronrezeptoren durch Antiprogestine resultiert eine unzureichende Stimulation des Uterus mit Progesteron, in deren Folge es zum Fruchttod kommt (FIENI et al. 2001a, c).

2.4.4.1. RU 38486 (Mifepristone)

Mifepristone (17β-hydroxy-11β(4-dimethylaminophenyl-1)-17α(prop-1-ynyl)-estra-4,9-dien-3-on) ist ein Steroid ähnlich dem Progesteron, das auf Rezeptorbasis wirkt (BYGDEMAN u. SWAHN 1985). Es dockt an die Progesteronrezeptoren (vornehmlich im Uterus an) und blockiert diese für Progesteron.

Beim Menschen und bei der Ratte löst RU 486 einen Abfall der Progesteronsekretion und Luteolyse aus (DIMATTINA et al. 1986; GARZO et al. 1988; YAMABE et al. 1989) und bewirkt einen Abfall der hypophysären Gonadotropin-Sekretion (BYGDEMAN et al. 1993), wobei die Luteolyse inkomplett sein und der Gelbkörper sich je nach Dosierung und Zyklusphase wieder erholen kann (GARZO et al. 1988).

CURRY und NOTHNICK (1996) diskutieren die Wahrscheinlichkeit, dass Mifepristone je nach Spezies, Dosierung und Zyklusstand als Progesteronantagonist oder –agonist wirken kann und verdeutlichen die Möglichkeit, dass auch die antiglukokortikoide Wirkung von Mifepristone eine Rolle in der Ausprägung der jeweiligen ovariellen Antwort spielen kann. So unterdrückt Mifepristone bei der tragenden Ratte in der frühen und späten Trächtigkeit die 3-β-HSD-Aktivität und somit die Progesteronsynthese, führt in der mittleren Trächtigkeit aber zu einer gesteigerten Progesteronproduktion (TELLERIA u. DEIS 1994), obwohl die Ratte zu keinem Zeitpunkt ovariale Progesteronrezeptoren aufweist und das Medikament demnach nicht direkt am Gelbkörper wirken kann (PARKS-SARGE et al. 1995). Bei Menschen, Primaten und Hunden wurde die Anwesenheit von Progesteronrezeptoren im Ovar nachgewiesen (JACOBS et al. 1980; DUFFY u. STOUFFER 1995; PAULSMEIER 1998; VERMEIRSCH et al. 2001), wobei bei diesen Spezies die Unterscheidung zwischen direkten ovarialen Effekten des Mifepristone und extraovarialen Wirkmechanismen derzeit noch schwer fällt (CUR-

RY u. NOTHNICK 1996). In der mittleren und späten Gelbkörperphase wurde bei Frauen nach Mifepristone-Gabe eine Abnahme der LH-Puls-Amplitude, -sekretion und -frequenz beobachtet. In einer in-vivo-Studie an mit Mifepristone behandelten Altwelt-Affen fanden WILLIAMS et al. (1994) eine Abnahme der Prolaktinkonzentration nach Medikation und hielten demzufolge einen Effekt des Antiprogestins auf das hypothalamisch-hypophysäre System ebenfalls für wahrscheinlich.

CONCANNON et al. (1990) behandelten tragende Beagle-Hündinnen ab dem 32. Tag nach LH-Peak über vier bis fünf Tage mit Mifepristone und beobachteten in allen Fällen einen Abfall der Progesteronkonzentration frühestens zwei Tage nach Behandlungsbeginn und Erreichen von Basiswerten < 1 ng/ml zwischen Tag 40 und 45 nach LH-Peak. Im Vergleich zu unbehandelten Kontrollgruppen fand hier also eine nach den Resorptionen/Aborten auftretende, vorzeitige Luteolyse statt, welche nach Meinung der Autoren durch einen Wegfall luteotroper Substanzen durch die Beendigung der Trächtigkeit ausgelöst wurde, möglicherweise aber auch durch einen Anstieg von $PGF_{2\alpha}$ aus dem Uterus, da Mifepristone bei Mensch (KELLY et al. 1985) und Hund (LINDE-FORSBERG et al. 1992) einen Anstieg der endometrialen Prostaglandinsekretion bewirken kann. Ein hypophysärer Effekt könnte auch involviert sein, da Mifepristone antigonadotrope Aktivität bei nicht schwangeren Frauen aufweist (SCHAISON et al. 1985). Letztlich kann ein direkter ovarialer Effekt nicht ausgeschlossen werden, da Mifepristone die Aktivität von 3-β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase und 17-Hydroxylase im menschlichen Ovargewebe in vitro zu unterdrücken vermag (DIMATTINA et al. 1986, 1987). Auch SPITZ et al. (1994) vertreten die Hypothese, dass Mifepristone beim Menschen möglicherweise direkt am Ovar wirkt, jedoch werden zur kompletten Blockade der ovarialen Progesteronsekretion große Mengen an Antiprogestinen benötigt, was eine ausschließlich durch ovariale Effekte hervorgerufene Luteolyse unwahrscheinlich macht. Vielmehr dürfte der primäre luteolytische Effekt in einer Drosselung der LH-Sekretion liegen, da Endometrium und Hypophyse eine höhere Sensitivität gegenüber Antiprogestinen aufweisen als das Ovar.

Beim Menschen sind die Corpora lutea die Hauptproduktionsquelle von Relaxin. Eine Behandlung mit Mifepristone in der frühen Schwangerschaft hat einen verzögerten Anstieg von Relaxin zu Folge, während Medikation in der späten Schwangerschaft einen drastischen Abfall der Relaxinkonzentrationen bewirkt (VANDEVOORT et al. 2000).

Auch beim Schwein ist die luteale Herkunft von Relaxin bekannt. Eine Behandlung mit RU 486 in der späten Lutealphase der Sau scheint keinen unmittelbaren Einfluss auf die Relaxinsekretion während der Behandlungsphase zu haben, jedoch ist der präpartale Relaxin-Peak verzögert (LI et al. 1998).
Beim Menschen hat Mifepristone eine relativ lange Halbwertszeit von 25-30 Stunden (HEIKINHEIMO et al. 2003), beim Hund beträgt sie 20-24 Stunden (LINDE-FORSBERG et al. 1992).

2.4.4.2. RU 46534 (Aglepristone)

Aglepristone (11beta-[p-(dimethylamino)phenyl]-17beta-hydroxy-17alpha-(Z)-(1-propyenyl) estra-4,9-dien-3-on) ist ein speziell für die Veterinärmedizin entwickelter Progesteronrezeptor-Blocker mit einer dreifach höheren Bindungsrate als das Progesteron selbst (PHILIBERT 1994).
Die subkutane Verabreichung von 10 mg/kg Aglepristone s.c. an tragende Hündinnen an zwei aufeinander folgenden Tagen ab Tag 30 p.ov. führte zu einem Anstieg der Plasma-Prolaktinkonzentrationen während der Behandlung (GALAC et al. 2000). Die Progesteronkonzentration blieb unverändert. Der Trächtigkeitsabbruch war bei allen Hündinnen innerhalb von spätestens acht Tagen bei noch hohen Progesteronkonzentrationen vollständig erfolgt. Die Lutealphase wurde verkürzt, indem Basis-Progesteronkonzentrationen von < 1 µg/l innerhalb von acht bis 34 Tagen nach Behandlungsbeginn erreicht waren. In der Folge verkürzte sich auch das Läufigkeitsintervall, was mit einem möglichen Effekt auf hypothalamisch-hypophysärer Ebene und direktem oder indirektem Einfluss auf die Hypophysenfunktion erklärt wird. Möglicherweise täuscht die Besetzung zentraler Progesteronrezeptoren einen Progesteronmangel vor, so dass zum Ausgleich vermehrt Prolaktin sezerniert wird. Dies steht allerdings im Widerspruch zu LINDE-FORSBERG et al. (1992), die die Erhöhung des Prolaktins auf das intrauterine Sterben der Fruchtanlagen zurück führen, da in deren Studie der Prolaktinanstieg noch vor dem fetalen Absterben stattfand.
FIENI et al. (2001b) stellten einen Anstieg von $PGF_{2\alpha}$-Metaboliten sowie einen Anstieg der Progesteronkonzentration nach Applikation von Aglepristone in Kombination mit Oxytocin oder Alfaprostol bei tragenden Hündinnen um Tag 58 der Trächtigkeit fest und leiteten somit die Geburt bei hohen Progesteronwerten (> 6 nmol/l) ein. Auch sie vermuteten einen durch

die Gabe von Aglepristone vorgetäuschten Abfall der Blut-Progesteronkonzentration, woraufhin die Hypophyse durch Ausschüttung von LH zur Stimulation der Luteinzellen reagiert.
In der mittleren Gravidität (Tag 32-33 p.ov.) bewirkte die Behandlung mit Aglepristone ebenfalls Abort bei unveränderten Progesteronwerten (FIENI et al. 2001c). Danach sanken die Progesteronwerte innerhalb von einem bis zwei Tagen signifikant ab. Die Konzentration an Prostaglandinmetaboliten stieg nach Behandlungsbeginn signifikant an und erreichte zum Zeitpunkt des Fruchtausstoßes ihren Peak. Die Prolaktinkonzentration stieg innerhalb von 12 Stunden nach Applikation signifikant an und fiel innerhalb weiterer 72 Stunden wieder auf Basalwerte ab. Die Konzentrationen von Oxytocin und Cortisol zeigten keinen Unterschied zur Kontrollgruppe. Auch hier war das Läufigkeitsintervall verkürzt.
Als Nebenwirkungen der Behandlung mit Aglepristone werden lokale entzündliche Veränderungen an der Injektionsstelle (FIENI et al. 2001a), vorübergehend reduzierter Appetit, Scheidenausfluss, Müdigkeit oder Anhänglichkeit (HUBLER u. ARNOLD 2000) beschrieben. Höchste Aglepristonekonzentrationen werden im Blutplasma 2,5 Tage nach der zweiten Injektion erreicht. Die durchschnittliche Verweildauer im Plasma beträgt sechs Tage. Die Ausscheidung erfolgt sehr langsam. Lediglich 60 % der verabreichten Dosis wird innerhalb der ersten zehn Tage ausgeschieden, ca. 80 % innerhalb von 24 Tagen (CLINIPHARM 2003).

2.5. Vaskularisation des Ovars in der Gelbkörperphase

Die Ovarien gehören neben Uterus und Plazenta zu den wenigen Geweben des ausgereiften, gesunden Organismus, in denen es in Koinzidenz mit zyklischen Auf- und Umbauvorgängen zur Neu- und Rückbildung von Gefäßen kommt (FOLKMAN u. KLAGSBRUN 1987). Nach der Ovulation wird unter Beteiligung des umgebenden Bindegewebes und der Blutgefäße das Corpus luteum aufgebaut. Es durchläuft die Stadien der Proliferation, Vaskularisation, Blüte und Regression (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS 1987). Die Entwicklung des ovarialen Gefäßbettes ist bei den Säugetieren vergleichbar und wurde von BASSET (1943), ELLINWOOD et al. (1978) und PETERS und McNATTY (1980) umfassend beschrieben. Angiogenese geht von bereits bestehenden Kapillaren und Venolen aus, deren Endothelzellen durch die Wirkung eines angiogenetischen Stimulus zur Proliferation, Migration und Differenzierung angeregt werden (FINDLAY 1986; FOLKMAN u. KLAGSBRUN 1987).

Die Blutzufuhr und die Verteilung des Blutes innerhalb des Eierstocks sind von entscheidender Bedeutung für seine Funktionsfähigkeit (ELLINWOOD et al. 1978). Bei uniparen Tieren und der Frau wird auf der Seite des aktiven Eierstocks, der den dominanten Follikel trägt, eine erheblich stärkere Zunahme des Blutflusses beobachtet (NISWENDER et al. 1975; BROWN et al. 1980; HATA et al. 1990). Ausgehend von den Gefäßen der äußeren und inneren Thecazellschicht sprossen Kapillaren in die ehemaligen Follikelhöhlen ein. Im Stadium maximaler Gelbkörperaktivität steht jede Luteinzelle in engem Kontakt zu einem dichten Kapillarnetz (ANDERSEN u. SIMPSON 1973; LIEBICH 1999), wobei dieses Stadium nach ANDERSEN und SIMPSON (1973) bei der Hündin im zweiten Drittel der Lutealphase erreicht wird. Nach WILDT et al. (1977) ist die maximale Kapillarisierung der Corpora lutea bereits zwei Wochen nach der Ovulation erreicht und bei einem sechs Wochen alten Gelbkörper nicht mehr feststellbar.

Die neugebildeten Kapillaren innerhalb des Gelbkörpers besitzen keine Muskelschicht und sind daher in der Form sinusoider Gefäße maximal dilatiert (ELLINWOOD et al. 1978; PETERS u. McNATTY 1980; WILTBANK et al. 1989, 1990). Nach WILTBANK et al. (1990) werden sie durch ihre Unfähigkeit zur Vasokonstriktion in linearer Abhängigkeit vom Blutdruck der vorgeschalteten Arterien und Arteriolen perfundiert, deren Durchblutung wiederum durch endo- und parakrine Substanzen gesteuert wird. In der frühen bis mittleren Lutealphase ist die Blutversorgung des endokrin aktiven Gewebes entsprechend dem hohen Bedarf an Sauerstoff, Nährstoffen und Luteotropinen maximal (NISWENDER et al. 1975; WILTBANK et al. 1989). Verschiedene Studien stellen eine positive Korrelation zwischen dem Blutfluss und der Progesteronkonzentration im peripheren Plasma fest (NOVY u. COOK 1973; NISWENDER et al. 1975; LEE u. NOVY 1978; FORD u. CHENAULT 1981; VARGA et al. 1985; HATA et al. 1990; TAN et al. 1996).

Im Stadium der Regression findet ein kontinuierlicher Abbau der lutealen Strukturen mit allmählicher Reduzierung der Blutzufuhr zum Ovar und der Ausbildung arteriovenöser Anastomosen im präkapillären Gebiet statt, so dass einhergehend mit einer fortschreitenden Degeneration des Kapillargebietes ein ischämischer Zustand innerhalb des Gelbkörpers herbeigeführt wird. Die Folge ist die Degeneration von Luteinzellen und zellulären Bestandteilen des Gelbkörpers (ANDERSEN u. SIMPSON 1973; ELLINWOOD et al. 1978; DORE 1989; LIEBICH 1999).

2.5.1. Regulation und medikamentöse Beeinflussung der ovarialen Perfusion

Folgende Faktoren sind an der Regulation der ovarialen Blutversorgung beteiligt:

Gonadotropine

Generell wird dem LH eine durchblutungssteigernde, vasodilatatorische und die Gefäßpermeabilität erhöhende Wirkung zugeschrieben. Bei verschiedenen Spezies wird eine rasche, präovulatorische Zunahme der ovarialen Durchblutung zum Zeitpunkt des LH-Peaks festgestellt (WURTMAN 1964; PIACSEK u. HUTH 1971; JANSON 1975; NISWENDER et al. 1975; LEE u. NOVY 1978; WEINER et al. 1993), ebenso beim Hund (KÖSTER et al. 2001). Beim Schaf resultiert die Gabe von anti-LH-Serum in einer signifikanten Abnahme des ovarialen Blutflusses (NISWENDER et al. 1976). Es wird angenommen, dass der durchblutungssteigernde Effekt des LH über Mediatoren vermittelt wird, deren Synthese und Freisetzung im Ovar durch den LH-Stimulus induziert wird (PIACSEK u. HUTH 1971; ESPEY 1980; FINDLAY 1986; MONNIAUX et al. 1997). Als Mittlersubstanzen werden vor allem Eicosanoide, Histamin, Kinine, Serotonin u. a. diskutiert (ESPEY 1980; BRÄNNSTRÖM et al. 1998).

Estradiol-17β

Estrogene wirken über eine Hyperämie und die Stimulation der Proteinsynthese in Verbindung mit Wachstumsfaktoren generell fördernd auf die Aktivität des Genitaltrakts, in erster Linie des Uterus (ELLINWOOD et al. 1978).
In Stimulationsversuchen konnte beim Schaf (NISWENDER et al. 1975) und beim Menschen (TAN et al. 1996) keine Korrelation zwischen dem ovarialen Blutfluss und der peripheren Estradiolkonzentration nachgewiesen werden. WILTBANK et al. (1989) stellten beim Kaninchen eine estradiolabhängige Zunahme des stromalen Blutflusses fest, während der Blutfluss in den lutealen Kapillaren unverändert blieb. Im Gegensatz dazu wurde nach Estradiolgabe beim Schaf (ROSENFELD 1980) und bei der Frau (DEUTINGER et al. 1989, SCHURZ et al. 1993, WEINER et al. 1993, TINKANEN et al. 1995) eine signifikante Steigerung des ovarialen Blutflusses beschrieben.

Progesteron

Obwohl zwischen Plasma-Progesteronkonzentration und ovarialem Blutfluss eine positive Korrelation besteht, scheint Progesteron keinen perfusionsfördernden Effekt im Ovargewebe zu besitzen. Es wird im Gegenteil angenommen, dass eine vermehrte Zufuhr von Nährstoffen und luteotropen Hormonen die Produktion von Progesteron steigert (NISWENDER et al. 1975; ELLINWOOD et al. 1978). Gestagenen wird eher ein durchblutungsvermindernder Einfluss zugeschrieben (CRUM et al. 1985).

Prostaglandin $F_{2\alpha}$

Als ein möglicher Mechanismus der durch $PGF_{2\alpha}$ induzierten Luteolyse wird eine rasche Reduzierung der Gelbkörperdurchblutung diskutiert (McCRACKEN 1971; PHARISS 1971). Eine $PGF_{2\alpha}$-bedingte Verminderung des ovarialen Blutflusses wurde experimentell bei verschiedenen Spezies, darunter auch beim Hund, nachgewiesen (ELLINWOOD et al. 1978; KÖSTER et al. 2001). NOVY und COOK (1973) fanden im Lutealgewebe der Häsin eine $PGF_{2\alpha}$-induzierte Reduktion des Blutflusses trotz erhöhter Durchblutungsrate im Stroma.
Bei der Kuh kommt es nach $PGF_{2\alpha}$-Behandlung in der Mitte der Gelbkörperphase zunächst zu einem kurzfristigen (0,5-2 h) Anstieg der Durchblutungsrate, der als Stimulus der luteolytischen Kaskade diskutiert wird und in einem steilen Abfall mündet (ACOSTA et al. 2002).
Der durchblutungsvermindernde Effekt von $PGF_{2\alpha}$ wird einer vasokonstriktorischen Wirkung im Bereich der extralutealen Arterien zugeschrieben, wodurch die Perfusion des Gelbkörpers reduziert wird. Durch die Umverteilung des Blutflusses kommt es innerhalb des Corpus luteum zu einer lokalen Ischämie, die den Abbau des Gewebes induziert (WILTBANK et al. 1990). Während der Regression werden die Abbauvorgänge durch einen steten Rückgang der Durchblutung infolge der Degeneration lutealer Kapillaren aufrechterhalten (WILTBANK u. NISWENDER 1992). Ferner wird ein Antagonismus zwischen $PGF_{2\alpha}$ und dem hyperämisierenden LH an den LH-Rezeptoren diskutiert (PHARISS 1971; PANG u. BEHRMANN 1981). VARGA und FOLLY (1977) beobachteten am caninen Ovar nach $PGF_{2\alpha}$-Gabe einen vermehrten Blutfluss im Ovarstroma bei unveränderter Durchblutung des gesamten Organs und führten dies auf eine Umverteilung der Perfusion innerhalb des Eierstocks durch Anastomosenbildung zurück.

KÖSTER et al. (2001) unterstützten die Vermutung, dass Prostaglandin $F_{2\alpha}$ einen direkten oder indirekten durchblutungsvermindernden Effekt auf die Corpora lutea der Hündin ausübt, der sich hemmend auf die Funktionsfähigkeit der Luteinzellen und damit auf die Progesteronsekretion auswirkt.

Antiprogestine

Die Wirkung von Antiprogestinen auf den ovarialen Blutfluss ist bislang noch unerforscht. Injektion von Mifepristone in die rostrale ventrolaterale Medulla von Ratten verursacht einen Abfall des systolischen Blutdruckes und der Herzrate (ZHU et al. 1995). Bei der schwangeren Frau verursacht Mifepristone eine Zunahme des Widerstands-Index und der S/D-Ratio in den uterinen Arterien (YANG et al. 1998).

Andere vasoaktive Substanzen

Der Einfluss angiogenetischer und angiostatischer Faktoren auf die Durchblutung der Ovarien ist Gegenstand zahlreicher aktueller Untersuchungen. Das Wissen um ihr Vorhandensein und ihre Funktion ist lückenhaft. Es wird vielfach angenommen, dass die Produktion angiogenetischer Mediatoren im Ovar unter dem Einfluss von Gonadotropinen, insbesondere des LH, moduliert wird (ESPEY 1980; FINDLAY 1986).
Für verschiedene Wachstumsfaktoren ovarialer Herkunft wurden in vitro und in vivo angiogentische Aktivitäten nachgewiesen (FOLKMAN u. KLAGSBRUN 1987; REYNOLDS et al. 1992). Auch die Zellen des Lutealgewebes scheinen zur Produktion von angiogenetischen Stimulatoren für den Aufbau und die Erhaltung des Gefäßbettes befähigt zu sein (REYNOLDS et al. 1992).

2.6. Sonographische Untersuchungen am Hundeovar

In Kombination mit den traditionellen, indirekten Nachweismethoden der Vaginoskopie, der Vaginalzytologie und der semiquantitativen Bestimmung der Progesteronkonzentration im peripheren Plasma oder Serum hat sich die Echtzeit-Sonographie der Ovarien bei der Hündin zur Untersuchung der Ovarfunktion bewährt (DIETERICH 1994; GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2001). Sonographisch sind die Gelbkörper im Gegensatz zu den präovulatorischen

Follikeln durch dickere, echoreichere Wandstrukturen charakterisiert und verleihen der Ovaroberfläche ein höckeriges Profil (WALLACE et al. 1992; HAYER et al. 1993; GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2001).

Eine differenzierte Darstellung der Ovarstrukturen ist nur mit hochauflösenden Schallköpfen (mindestens 6,5 MHz) möglich und erfordert zudem einen hohen zeitlichen Aufwand (GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2001). Die sonographische Bestimmung des Ovulationszeitpunktes wird inzwischen erfolgreich durchgeführt (WALLACE et al. 1992; BOYD et al. 1993; ENGLAND u. YEAGER 1993; DIETERICH 1994; GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 1996).

KÖSTER et al. (2001) untersuchten darüberhinaus dopplersonographisch Ovarien von Beagle-Hündinnen im physiologischen Zyklusverlauf, unter einer fünf- oder achttägigen Behandlung mit $PGF_{2\alpha}$ im ersten Drittel der Lutealphase und während der gesamten Trächtigkeitsdauer. Dabei manifestierten sich die deutlichsten Veränderungen der ovarialen Perfusion innerhalb der stromalen Arterien.

Im Verlauf der Follikelphase wurde eine vermehrte Durchblutung der Ovarien beobachtet. Ein rascher präovulatorischer Anstieg der Flussgeschwindigkeiten ging mit einem gleichzeitigen Absinken der PI- und RI-Werte einher. Im Stadium höchster Gelbkörperaktivität (bis ca. Tag 30 p.ov.) blieb die Ovarperfusion auf einem hohen Niveau und sank dann im Zuge der Gelbkörperregression bis Tag 70 p.ov. auf Werte unterhalb des Messbereiches. Die durch $PGF_{2\alpha}$ hervorgerufene Unterdrückung der Gelbkörperfunktion war von einer Reduktion der ovarialen Durchblutung gekennzeichnet. Die Ovarperfusion gravider Hündinnen war, mit Ausnahme einer individuell unterschiedlichen Verminderung der Durchblutung im präpartalen Zeitraum, mit der zyklischer Hündinnen vergleichbar (KÖSTER et al. 2001).

TAYLOR et al. (1985b) erfassten bei der Frau auf der Seite des aktiven, den dominanten Follikel oder Gelbkörper tragenden, Eierstocks einen im Gegensatz zu der kontralateralen Seite erniedrigten Pulsatilitätsindex, der auf einen erhöhten Blutfluß hinweist.

2.7. Dopplersonographie

2.7.1. Duplex- und Triplexsonographie

In der medizinischen Ultraschalldiagnostik wird der Dopplereffekt genutzt, um die relative Flussrichtung und die Geschwindigkeit des Blutes, d. h. genauer der Blutkörperchen, zu bestimmen. So können Aussagen über die Hämodynamik und die tatsächliche Blutversorgung von Organen getroffen werden.
Ultraschallsysteme, die mit dem Dopplerprinzip arbeiten, besitzen unter anderem folgende Kombinationsmöglichkeiten:
Im Duplex-Mode wird üblicherweise das zweidimensionale Ultraschallbild mit dem gepulsten oder dem farbkodierten Dopplerverfahren kombiniert.
Als Triplexsonographie wird die gleichzeitige Darstellung des zweidimensionalen B-Bildes mit der gepulsten und der farbkodierten Dopplermethode bezeichnet (POULSEN NAUTRUP 2001).

2.7.2. Physikalisch-technische Grundlagen

2.7.2.1. Der Dopplereffekt

1842 beschrieb Christian Johann Doppler erstmalig den später nach ihm benannten Dopplereffekt. Er vermutete, dass die abgestrahlten Wellen einer stationären Schallquelle von einem in Bewegung befindlichen Empfänger in unterschiedlicher Frequenz wahr genommen werden. Der Dopplereffekt ist die Folge einer Relativbewegung zwischen einem Schallerzeuger und einem Schallempfänger (SOHN 1993). Er wird in der medizinischen Diagnostik zur Messung von Blutflussgeschwindigkeiten in Gefäßen genutzt (SOHN 1999). Der ausgesendete Ultraschallimpuls wird von den bewegten Blutaggregaten reflektiert. Die durch die Bewegung der Blutkörperchen entstehende Frequenzveränderung des Ausgangsstrahls wird als Dopplershift bezeichnet und verhält sich proportional zur Fließgeschwindigkeit der korpuskulären Blutbestandteile (SOHN 1993, 1999; POULSEN NAUTRUP 2001).
Die Größe des Dopplershifts hängt von der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes und von der Bewegungsrichtung der Blutkörperchen im Verhältnis zur Ausbreitungsrichtung der Ultra-

schallwellen sowie von der Ausbreitungsgeschwindigkeit des Ultraschalls im Gewebe ab. Sind Schallgeschwindigkeit, Ursprungsfrequenz und Einstrahlwinkel der Ultraschallstrahlen auf das zu untersuchende Gefäß bekannt, kann aus der Frequenzverschiebung die Strömungsgeschwindigkeit errechnet werden (SOHN 1993; POULSEN NAUTRUP 2001).
Eine exakte Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit setzt die parallele Ausrichtung der Schallwellenausbreitung und der Blutflussrichtung voraus oder erfordert die rechnerische Korrektur der Winkelabweichung. Nur wenn das Blut genau in Richtung der Schallwellen fließt, entspricht die gemessene Fließgeschwindigkeit des Blutes der tatsächlichen. In diesem Fall ergibt sich ein Messfehler von 0 %. Bei einem Winkel von 60° wird die Strömungsgeschwindigkeit um 50 % zu niedrig angegeben, so dass bei Winkeln über 60° eine genaue Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit unmöglich ist (POULSEN NAUTRUP 2001).

2.7.2.2. PW-Dopplersysteme

Mit Hilfe der gepulsten (oder pulsed-wave) Dopplersonographie (PWD) können Blutflussmuster und Fließgeschwindigkeiten erfasst werden. Sie dient der funktionellen Perfusionsdiagnostik (POULSEN-NAUTRUP 2001).
Ein piezo-elektrischer Kristall wird alternierend als Sender und Empfänger von Schallwellen eingesetzt. Diese werden diskontinuierlich als kurze Ultraschallimpulse gesendet. Nach einer bestimmten eingestellten Zeit wird derselbe Kristall auf Empfang geschaltet und ankommende Echos werden empfangen und verarbeitet. Nach der Empfangszeit wird vom System ein weiterer Ultraschallimpuls ausgesendet. Die Anzahl der pro Sekunde ausgesendeten Ultraschallimpulse wird als Pulswiederholungs- oder Pulsrepetitionsfrequenz (PRF) bezeichnet. Mit zunehmender Messtiefe verringert sich die maximale PRF, d. h. befindet sich das Untersuchungsobjekt tief im Gewebe, haben die Ultraschallwellen eine lange Laufstrecke und eine niedrige PRF (SOHN 1999).
Die gemessenen Blutflussgeschwindigkeiten eines oder mehrerer Herzzyklen werden als Kurve in Abhängigkeit von der Zeit als Frequenz-Zeit-Diagramm (Dopplerspektrum) dargestellt. Dabei werden auf den Schallkopf zulaufende Blutflüsse im Allgemeinen als positive Geschwindigkeiten oberhalb der Nulllinie und Flussbewegungen vom Schallkopf weg als negative unterhalb der Nulllinie angegeben. Die sich so ergebenden Dopplerkurven sind ge-

fäßspezifisch und erlauben die Beurteilung der funktionellen Perfusion eines Organs (POULSEN-NAUTRUP 2001).

2.7.2.3. Farbkodierte Dopplersonographie

Die farbkodierte Dopplersonographie ist ein gepulstes Verfahren, bei dem eine Vielzahl von Messorten in einem definierten Areal simultan ausgewertet und in das zweidimensionale Grauwertbild projiziert werden (POULSEN NAUTRUP 2001). Die empfangenen Dopplershifts werden dabei nicht als Frequenzspektren, sondern als Farbschattierungen kodiert. Der normale laminare Blutfluss wird in den Farben Rot (im Allgemeinen auf den Schallkopf zu fließendes Blut) oder Blau (vom Schallkopf weg strömendes Blut) dargestellt. Eine dritte Farbe, Gelb oder Grün, signalisiert turbulente Strömungen (POULSEN NAUTRUP 2001). Die Größe der Blutflussgeschwindigkeiten wird durch die Helligkeit der Farbpunkte dargestellt. Ein heller Farbpunkt symbolisiert eine hohe Geschwindigkeit, ein dunkler eine langsame (SOHN 1999).
Die farbkodierte Dopplersonographie ermöglicht das Auffinden und Identifizieren von Gefäßen, die im Grauwertbild nicht erkannt werden können, und erlaubt eine rasche Einschätzung der Durchblutungsdynamik innerhalb und außerhalb der Organe.

2.7.2.4. Dopplersonographische Geschwindigkeitsprofile

Jeder Herz- und Gefäßbereich zeigt ein charakteristisches physiologisches Geschwindigkeitsprofil und somit ein typisches Flussmuster bei der konventionellen PW-Dopplerdarstellung.
In verschiedenen Gefäßen variieren die Flussrichtung und Fließgeschwindigkeit während der Systole und Diastole erheblich, u. a. in Abhängigkeit vom peripheren Widerstand.
Bei geringem peripheren Widerstand besteht sowohl während der Systole als auch während der Diastole ein mehr oder weniger schneller orthograder Blutfluss in Richtung Peripherie. Gefäße, die einen Bereich mit hohem Widerstand versorgen, zeigen ein so genanntes tri- oder mehrphasisches Blutstromverhalten mit schnellem systolischen Vorwärtsfluss, frühdiastolischem Rückfluss und fehlendem enddiastolischen Fluss.

2.7.2.5. Messparameter

Die gepulste Dopplersonographie erlaubt quantitative Aussagen anhand der für ein Gefäß typischen Blutflusskurve hinsichtlich des Geschwindigkeitsspektrums und des Gefäßwiderstandes (TAYLOR et al. 1985a).

Der systolische Anstieg hängt von der kardialen Kontraktionskraft ab, der systolische Abfall unterliegt dem kombinierten Einfluss der Gefäßwandcompliance, der Entfernung zu den Aortenklappen und des peripheren Widerstandes. Der enddiastolische Fluss spiegelt die peripheren Widerstandsverhältnisse wider.

Die quantitative Auswertung der arteriellen Dopplerkurve umfasst die Bestimmung der systolischen Maximalgeschwindigkeit (SPV = systolic peak velocity), der enddiastolischen Geschwindigkeit (EDV = enddiastolic velocity), der diastolischen Maximalgeschwindigkeit (DPV = diastolic peak velocity) und der mittleren Maximalgeschwindigkeit (Vmean oder TAMAX = time average maximum velocity) (DEEG u. WILDT 1990).

Da diese Werte entscheidend vom Messwinkel abhängen, werden zusätzliche Parameter berechnet, die diese Größen ins Verhältnis setzen und damit mathematisch winkelunabhängig sind:

Der Widerstandsindex (RI = resistance index) wurde von POURCELOT (1974) definiert:

$$RI = SPV - EDV / SPV$$

Der Quotient ergibt eine Zahl zwischen 0 und 1 und wird häufig als relativer Wert in Prozent angegeben. Aus der Formel ist die Größenordnung der enddiastolischen Komponente ersichtlich. Ein enddiastolischer Nullfluss entspricht einem RI von 1, d. h. einem Gefäßwiderstand von 100 %.

Der Pulsatilitätsindex (PI) wurde von GOSLING und KING (1974) wie folgt festgelegt:

$$PI = SPV - EDV / Vmean$$

Der PI ist ein Maß für die Dehnungsbereitschaft und den Widerstand der Gefäßwand.

Für Arterien mit niedrigem peripheren Widerstand eignet sich die Bestimmung des A/B-Quotienten (oder –Ratio) nach STUART et al. (1980):

$$A/B = SPV / EDV$$

Bei der Auswertung der Arterien mit hohem peripheren Widerstand wird der S/D-Quotient (oder –Ratio) verwendet (DEEG et al. 1990):

$$S/D = SPV / DPV$$

2.7.2.6. Indikation und Anwendung der Dopplersonographie in der Ovardiagnostik bei Mensch und Tier

Die dopplersonographische Durchblutungsdiagnostik ermöglicht die Interpretation anatomischer und funktioneller Zusammenhänge im Verlauf des ovarialen Zyklus und ist daher eine wertvolle Ergänzung zur B-Mode-Sonographie (FLEISCHER 1991).
In der humanmedizinischen Gynäkologie hat das Dopplerverfahren im Rahmen der Ovardiagnostik inzwischen breiten Eingang gefunden. Erstmals wurde die Anwendung der gepulsten Dopplersonographie zur Charakterisierung ovarialer Blutflüsse von TAYLOR et al. (1985a) im Duplexverfahren beschrieben. Eine Vielzahl von Studien befasst sich seither mit den physiologischen Durchblutungsverhältnissen der Ovarien im Verlauf des Zyklus der Frau (SCHOLTES et al. 1989; HATA et al. 1990; COLLINS et al. 1991; SLADKEVICIUS et al. 1993; TINKANEN et al. 1995; VALENTIN 1995; TAN et al. 1996; BRANNSTRÖM et al. 1998; ALCAZAR et al. 2003). In der frühen bis mittleren Gelbkörperphase ist die Durchblutung des Corpus luteum durch maximale Flussgeschwindigkeiten und niedrige Widerstandsindizes gekennzeichnet. Im Zuge der Gelbkörperregression kehrt die ovariale Perfusion auf das Niveau eines inaktiven Ovars zurück. Eine wichtige Rolle spielt die Erhebung dopplersonographischer Befunde bei den hämodynamischen Vorgängen ovarialer Dysfunktionen (KURJAK u. KUPESIC-UREC 1991). Bei Patientinnen mit anovulatorischem Zyklus oder Luteinized unruptured follicle-Syndrom werden keine adäquaten Veränderungen der intraovarialen Blutflussmuster beobachtet. Ähnlich werden beim polyzystisches Ovarialsyndrom kontinuierlich hohe Blutflüsse abgeleitet, die in Zusammenhang mit den hormonellen Imbalancen zu sehen sind (ZAIDI 2000; LAKHANI et al. 2002; CARMINA et al. 2003).
Ferner erwies sich die Dopplersonographie als geeignetes Verfahren zur Diagnostik ovarialer Tumore, wobei ihr bei der Beurteilung der Dignität und Klassifikation einer Neoplasie Grenzen gesetzt sind (BROWN et al. 1998; SHARONY et al. 2001, ALCAZAR et al. 2003).
In jüngerer Zeit wird die dopplersonographische Ovardiagnostik in Verbindung mit der Behandlung von Fertilisationsstörungen (z. B. In-vitro Fertilisation und Künstliche Befruchtung) erforscht (BHAL et al. 1999; TSAI et al. 2000; OZAKI et al. 2002; JARVELA et al. 2003).

Mit Hilfe der Farbdopplersonographie kann der charakteristische Corpus luteum-flow in der Gelbkörperphase bei einer intakten Schwangerschaft, einer ektopischen Schwangerschaft oder bei Nichtschwangeren nachgewiesen werden (ZALUD u. KURJAK 1990). GOSWAMY (1993) sieht einen Zusammenhang zwischen der Durchblutungsrate des Gelbkörpers und seiner Funktionsfähigkeit während der Lutealphase.

In der Humanmedizin werden im Allgemeinen die Strömungsverhältnisse der arteriellen Äste innerhalb der Ovarien untersucht. TAN et al. (1996) differenzieren zwischen Messlokalisationen im Stroma und in der Follikelwand. Zur Auswertung der aufgezeichneten Strömungsverhältnisse werden bevorzugt die maximalen systolischen Geschwindigkeiten (SPV) und der Pulsatilitäts- und Resistance-Index verwendet. Die Einbeziehung eines Korrekturwinkels wird von einigen Autoren abgelehnt. Sie gehen davon aus, dass an den kleinen stromalen Gefäßen keine Gefäßausrichtung zu bestimmen ist und bei einer ausreichenden Anzahl von Messungen der Fehler relativiert wird (CAMPBELL et al. 1993; TAN et al. 1996).

Ferner wurde in Stimulationsversuchen mit Hilfe der Dopplersonographie der Einfluss endokriner und parakriner Regulatoren auf die ovariale Perfusion untersucht (DEUTINGER et al. 1989; KUPESIC u. KURJAK 1993; SCHURZ et al. 1993; WEINER et al. 1993; STRIGINI et al. 1995).

NISWENDER et al. (1975) und BROWN et al. (1980) beschrieben erste dopplersonographische Studien der A. ovarica beim Schaf. Ferner wurden die Eierstöcke von Stuten (BOLLWEIN et al. 2002a, b) und Kühen (ACOSTA et al. 2003) dopplersonographisch untersucht. In einer Studie von KÖSTER et al. (2001) wurde das Verfahren zur Untersuchung der Ovarperfusion des Hundes während des Zyklusverlaufs, in der Trächtigkeit und unter Behandlung mit $PGF_{2\alpha}$ angewandt.

2.8. Histologische und immunhistologische Parameter am Ovar

2.8.1. Progesteronrezeptor

Steroidhormone zirkulieren an Plasmaproteine gebunden im Blut und passieren aufgrund ihrer Lysophilie die Zell- und Kernmembranen ihrer Zielzellen (O'MALLEY et al. 1991). Nach Bindung an vorhandene genomische Rezeptormoleküle im Zellkern erfährt der so entstandene Hormon-Rezeptor-Komplex eine Konformationsänderung, bindet an die hormonspezifische DNA-Sequenz und setzt die intranukleäre Proteinbiosynthese in Gang (MADER et al. 1989).
Genomische Steroidrezeptor-Moleküle werden im Zytoplasma synthetisiert und haben eine Halbwertszeit von zwei bis vier Stunden (SCHOLL u. LIPPMANN 1984). Die höchste Rezeptorkonzentration befindet sich im Zellkern und in kernnahen Bereichen, da neu synthetisierte Rezeptorproteine zum Kern diffundieren. Laut ROTHCHILD (1996) besteht überdies die Möglichkeit, dass neben den klassischen kernständigen Rezeptoren schneller reagierende zytoplasmatische Reaktionswege existieren. Neben den Rezeptoren im Genitaltrakt ist die Existenz von Progesteronrezeptoren an der hypothalamisch-hypophysären Achse bekannt (ORTMANN et al. 1994; SPITZ et al. 1994; WILLIAMS et al. 1994).
Die beiden etablierten Methoden zum Nachweis von Steroidrezeptoren zeigen unterschiedliche Lokalisationen der Rezeptorproteine in der Zelle: Während das immunhistochemische Verfahren eine Expression im Zellkern erkennen lässt, werden die Rezeptoren biochemisch im Zytosol nachgewiesen (Ligandenbindungsassay; JENSEN 1967). Man geht heute davon aus, dass durch die für den biochemischen Assay erforderliche Gewebehomogenisation die Rezeptorproteine in das Zytosol diffundieren oder Zellkerne zerstört werden, so dass Steroidrezeptoren in das Zytoplasma gelangen (KING et al. 1985).
PAULSMEIER (1998) wies im Gelbkörper der zyklischen Hündin in der Blüte- und Regressionsphase rezeptorpositive Luteinzellen nach. Dabei zeigten die Zellen in der Phase höchster Gelbkörperaktivität geringe Rezeptormengen, die während der Regression geringfügig zunahmen und während der Endometriumsreparation signifikant absanken. Auch VERMEIRSCH et al. (2001) wiesen in Ovarien zyklischer und tragender Hündinnen rezeptorpositive Gelbkörperzellen nach und vermuten daher einen autokrinen Einfluss des Progesterons auf die Regulation des Corpus luteum. Die Expression von Progesteronrezeptoren ist mit der zirkulierenden Progesteronkonzentration negativ korreliert, auch weisen die Gelbkörper tra-

gender Hündinnen eine schwächere Immunreaktion auf als die zyklischer Tiere. Die Autoren vermuten, dass Progesteron einen negativen Feedback-Effekt auf die Produktion von Progesteronrezeptoren ausübt und für die Regulation des Corpus luteum bei hohen Blut-Progesteronkonzentrationen weniger Rezeptoren benötigt werden. Die Degeneration der Luteinzellen während der physiologischen Gelbkörperregression könnte ebenfalls einen Einfluss auf die Expression der Rezeptoren haben. Estrogene steigern den Effekt von Progesteron durch eine Steigerung der Progesteronrezeptor-Syntheserate (CLARK et al. 1992; ING u. TORNESI 1997).
RUEDA et al. (2000) behandelten bovine Luteinzell-Kulturen mit Progesteronrezeptor-Antagonisten und beobachteten keine Abnahme der Progesteronsekretion, jedoch eine Zunahme der apoptotischen Zellen und stellten die Vermutung auf, dass Progesteron beim Rind das Einsetzen von natürlicher Apoptose über einen rezeptorabhängigen Mechanismus hemmt.

2.8.2. 3-β-Hydroxysteroiddehydrogenase (3-β-HSD)

Die Steroidhormone gehören zu den Lipiden. Die gemeinsame Grundsubstanz für alle Steroide ist das Cholesterol. Der Vorläufer des Progesterons ist das Pregnenolon, ein Gestagen mit progesteronähnlichen Wirkungen, das aufgrund seiner Rolle als Intermediärprodukt in der Steroidbiosynthese fast nicht im Kreislauf gefunden wird. Im Ovar wird aus Pregnenolon Progesteron gebildet (WUTTKE 1997).
Das Enzym 3-β-Hydroxy-Δ^5-steroiddehydrogenase/isomerase (3-β-HSD) katalysiert die Konversion der Steroide Pregnenolon und Dehydroepiandrosteron zu Progesteron beziehungsweise Androstendion. Progesteron ist ein Vorläufer der adrenalen Steroide Cortisol, Corticosteron und Aldosteron, Androstendion der gonadalen Steroide Testosteron und der Estrogene. Daher ist 3-β-HSD essentiell für die Produktion aller Steroidhormone und wird in allen steroidhormon-produzierenden Geweben, einschließlich der Nebennieren, Hoden, Ovarien und Plazenta vieler Haussäugetiere und des Menschen gefunden (BAIN et al. 1991).
Die Biosynthese des Progesterons erfordert nur zwei Schritte: Die Umwandlung von Cholesterol zu Pregnenolon, katalysiert durch einen in der inneren Mitochondrienmembran lokalisierten Seitenketten-abspaltenden Enzymkomplex (P450 side chain cleavage; P450 scc) und die anschließende Umformung zu Progesteron durch die im Glatten Endoplasmatischen Reticulum gelegene 3-β-Hydroxysteroiddehydrogenase (3-β-HSD) (CHRISTENSON u. DEVO-

TO 2003). Der Transport des Cholesterols aus dem Zytoplasma in die innere Mitochondrienmembran ist der limitierende Faktor bei der Progesteronsynthese. Das steroidogene akute regulatorische Protein (StAR) bindet Cholesterol im Zytosol und transportiert es zur Mitochondrienmembran, während Benzodiazepin-Rezeptoren für den Transport von der äußeren zur inneren Mitochondrienmembran verantwortlich sind (NISWENDER 2002).

Grundsätzlich sind kleine und große Luteinzellen des Gelbkörpers in der Lage, Progesteron zu synthetisieren, jedoch produzieren die großen Zellen den größten Anteil des Steroids, sind aber weniger empfänglich für LH-Stimuli, während die kleinen Zellen weniger Progesteron synthetisieren, jedoch größere Mengen LH binden können und auf LH-Stimulus mit einer gesteigerten Progesteronsynthese antworten (DIAZ et al. 2002; NISWENDER 2002).

3-β-HSD kann u. a. immunhistochemisch dargestellt werden, seine mRNA wird im Immuno-Blot-Verfahren nachgewiesen.

Laut DREIER et al. (1975) ist die Nachweisbarkeit von 3-β-HSD bei der zyklischen und tragenden Hündin in der Blütezeit des Gelbkörpers, korrespondierend mit hohen Progesteronwerten, am stärksten. Im An- und Rückbildungsgelbkörper werden geringere Intensitäten nachgewiesen. Bei Progesteronwerten unter 2 ng/ml ist keine positive Reaktion zu beobachten (AGRAWAL u. LALORAYA 1978). Daher ist 3-β-HSD zur Altersbestimmung des caninen Gelbkörpers geeignet (DREIER et al. 1975).

Die Expression und Regulation von 3-β-HSD variiert erheblich innerhalb verschiedener Spezies. Bei Schweinen, Schafen und Kühen nimmt die Anzahl 3-β-HSD-exprimierender Zellen nach der Ovulation markant zu. Während der Lutealregression nimmt sie beim Wiederkäuer stärker ab als beim Schwein (CONLEY et al. 1995).

Beim Menschen ist die 3-β-HSD-Aktivität während der frühen Lutealphase am höchsten und sinkt während der mittleren und späten Lutealphase ab, sofern der Gelbkörper keinen Stimulus durch hCG erfährt (DUNCAN et al. 1999). Auch bei Primaten (BELFIORE et al. 1994) und Schafen (CHAFFIN et al. 2000) wird die Progesteronsekretion durch Stimulation der Gelbkörperzellen mit hCG gesteigert. Eine Blockade der LH-Sekretion durch GnRH-Antagonisten hat bei zyklischen Primaten in der Lutealphase einen sofortigen Rückgang der Progesteronsekretion und einen leicht zeitverzögerten Abfall der Anzahl an 3-β-HSD-mRNA zur Folge (RAVINDRANATH et al. 1992).

Um zu prüfen, ob die abnehmende Aktivität von 3-β-HSD für die Regression des Gelbkörpers verantwortlich ist, behandelten JENKIN et al. (1984) Schafe mit dem 3-β-HSD-Inhibitor Trilostane. Es war ein vorübergehender Abfall der Blut-Progesteronkonzentration zu verzeichnen, der weder mit einem Anstieg von $PGF_{2\alpha}$ noch mit einer Verkürzung des Zyklus einherging.

Effekte exogener $PGF_{2\alpha}$-Gaben

Nach einmaliger Behandlung mit einer luteolytischen Dosis $PGF_{2\alpha}$ und intrabursaler Applikation von Progesteron war bei Ratten eine Abnahme der 3-β-HSD-Aktivität zu beobachten. Da weder im proöstrischen Ovar, noch im Gelbkörper trächtiger Ratten PR nachgewiesen werden konnten, scheint die Funktion von Progesteron bei dieser Spezies von der Existenz eines klassischen Rezeptors unabhängig zu sein (TELLERIA et al. 1999).
Die Behandlung zyklischer Schafe an Tag 11/12 des Zyklus mit $PGF_{2\alpha}$ führte zu einem Absinken der mRNA-Konzentration für 3-β-HSD innerhalb von 48 Stunden auf 5 %, während die Aktivität von 3-β-HSD innerhalb dieses Zeitraumes nicht signifikant abnahm (JUENGEL et al. 1998). Ähnliche Beobachtungen machten RODGERS et al. (1995) bei Kühen nach $PGF_{2\alpha}$-Gabe an den Tagen 6/7 des Zyklus. Trotz eines sofortigen starken Abfalls des mRNA-Gehaltes und der Progesteronkonzentration wurden 24 Stunden nach Behandlung hohe Gehalte an P450 scc und 3-β-HSD gemessen. Es wird vermutet, dass der Abfall der mRNA-Konzentration nicht für das der $PGF_{2\alpha}$-Behandlung folgende Absinken von Progesteron verantwortlich sein kann.

Effekte von RU 486

Nach Applikation von RU 486 bei Ratten in der späten Trächtigkeit beobachteten TELLERIA et al. (1995) zunächst nach 24-36 Stunden einen leichten Anstieg der 3-β-HSD-Aktivität, und nach weiteren 12 Stunden einen signifikanten und progressiven Abfall, der zur Induktion der Geburt führte. Die Serum-Progesteronkonzentration fiel zum selben Zeitpunkt wie die 3-β-HSD-Aktivität ab. Die Gabe eines Cyclooxygenasehemmers (Diclofenac) nach Applikation von RU 486 verhinderte den Abfall der 3-β-HSD-Aktivität und verlängerte die Tragzeit.

Die Behandlung von Ratten mit RU 486 in der frühen Trächtigkeit resultierte nach zwei Tagen in einem Abfall der 3-β-HSD-Aktivität, dem ein Abfall der Progesteronsekretion folgte (KAWANO et al. 1988). Kultivierte Luteinzellen von Ratten reagierten auf eine Behandlung mit RU 486 mit einem Abfall der P450 scc-Aktivität, jedoch nicht der 3-β-HSD-Aktivität (ARAKAWA et al. 1990).
DIMATTINA et al. (1986) beobachteten einen starken Abfall der 3-β-HSD-Aktivität bei mit RU 486 behandelten humanen Granulosazellkulturen und schließen daraus auf einen direkten Einfluss des RU 486 auf die ovariale Steroidgenese und Lutealfunktion beim Menschen.

2.8.3. Relaxin

Relaxin (RLX) wurde in tierartlich unterschiedlicher Ausprägung bei vielen Säugetieren im Corpus luteum nachgewiesen. Bevorzugte Methoden der immunhistochemischen Sichtbarmachung von Relaxin sind die Avidin-Biotin-Immunperoxidase und die Peroxidase-Antiperoxidase-Methode.
Relaxin wird bei der tragenden Hündin in geringerem Maße in den Corpora lutea der Ovarien, hauptsächlich aber in der Plazenta produziert (STEINETZ et al. 1989; STEWART et al. 1992; KLONISCH et al. 1999). Bislang ist der Anteil ovarialen Relaxins an der Gesamtrelaxinkonzentration sowie seine Funktion am Ovar nicht geklärt.
Bei der tragenden Sau ist das Corpus luteum die Hauptproduktionsstätte für Relaxin (ALI et al. 1986). Auch der Gelbkörper des zyklischen (BAGNELL et al. 1989) und pseudograviden (FIELDS u. FIELDS 1985) Schweins produziert geringere Mengen Relaxin. Relaxin wird erstmals im Anbildungsgelbkörper nachgewiesen. Die Zahl RLX-positiver Zellen nimmt mit der Entwicklung des Gelbkörpers zu. Nach DENNING-KENDALL et al. (1989) findet die Relaxinproduktion beim Schwein in der frühen Lutealphase in den Theca-Luteinzellen statt und verschiebt sich im Verlauf der Trächtigkeit zu den Granulosa-Luteinzellen, wobei die Produktion in letzteren drastisch ansteigt.
Auch bei der tragenden Ratte finden sich große Mengen an Relaxin in den Corpora lutea (ANDERSON u. SHERWOOD 1984). Bei der nicht tragenden Ratte ist Relaxin nur im Einzelfall geringgradig nachweisbar (GOLOS et al. 1984). Bei der tragenden Maus gelten die Gelbkörper als einzige Relaxinquelle (VAUPEL et al. 1985). Die in der frühen Trächtigkeit zuerst anfärbbaren Bereiche sind in der Peripherie des jungen Gelbkörpers lokalisiert. Im Ver-

lauf der Trächtigkeit dehnt sich die positive Darstellbarkeit auf nahezu alle Zellen aus (ANDERSON et al. 1984). Corpora lutea nicht tragender Mäuse zeigen, ebenso wie Gelbkörper post partum oder Gelbkörper früherer Zyklen, keine Expression von Relaxin (VAUPEL et al. 1985).

Relaxin wird auch beim Menschen hauptsächlich in den Ovarien produziert. In Corpora lutea der schwangeren Frau ist Relaxin diffus nachweisbar (MATHIEU et al. 1981). Relaxin wird ausschließlich in den großen Luteinzellen nachgewiesen, wobei die Nachweisbarkeit im Verlauf der Lutealphase zunimmt. Im Corpus albicans sind keine Relaxin-positiven Zellen mehr aufzufinden (STOELK et al. 1991).

Bei der Kuh wurde Relaxin in den großen Luteinzellen im dritten Drittel der Gravidität nachgewiesen (FIELDS et al. 1980), im Gelbkörper der Stute ist Relaxin von der frühen bis zur späten Gelbkörperphase vertreten (RYAN et al. 1997). Relaxin wird unter anderem im Gelbkörper gebildet und dort offensichtlich bei allen untersuchten Tierarten in kleinen, membrangebundenen Granula im Zytoplasma der Luteinzellen gespeichert (FIELDS u. FIELDS 1985; ALI et al. 1986; FIELDS et al. 1992). Die Anzahl der Granula und die Intensität der Expression variieren von Zelle zu Zelle, die Granula selbst sind haufenförmig im Zytoplasma verteilt (ANDERSON u. SHERWOOD 1984). Die Granula scheinen der Lagerung des Relaxin zu dienen. Von dort wird das Peptid auf Abruf via Exozytose ausgeschleust. So werden im Zytoplasma auch leere Vesikel aufgefunden, die ihren Inhalt bereits entleert haben (FIELDS 1984).

Bei in vitro gezüchteten humanen luteinisierenden Granulosa-Zellen, die imstande waren, Progesteron und Relaxin wie in der Lutealphase zu sezernieren, bewirkte eine Behandlung mit RU 486 einen sofortigen und drastischen Abfall der Progesteron- und Relaxinsekretion (VANDEVOORT et al. 2000).

Anders als bei den o.g. Spezies ist Relaxin im Ovar des Goldhamsters zu keiner Zeit der Gelbkörperphase nachzuweisen (RENEGAR et al. 1987). Hier scheint die Plazenta die einzige Bildungsstätte zu sein. Auch bei nicht tragenden Hündinnen konnten KLONISCH et al. (2001) kein ovariales Relaxin nachweisen, jedoch fanden sie in den Corpora lutea zyklischer Hündinnen den so genannten Relaxin-Like-Factor (RLF). RLF, auch bekannt als Leydig cell-derived insulin-like factor (INSL-3), ist ein dem Relaxin strukturell sehr ähnliches Polypeptidhormon, über dessen Wirkung und Regulation bislang noch wenig bekannt ist.

Mäuse mit einer RLF-Defizienz weisen Zyklusstörungen und erhöhte Apoptoseraten, vornehmlich in Follikeln und Corpora lutea auf. Es wird vermutet, dass RLF endokrine Zellen vor vorzeitiger Apoptose schützt (SPANEL-BOROWSKI et al. 2001).

Nach BÜLLESBACH und SCHWABE (1995) besitzt RLF zwar einen eigenen Rezeptor, kann jedoch auch mit dem Relaxinrezeptor interagieren und die Wirkung des Relaxin an seinen Zielorganen potenzieren. RLF induziert über eine Adenylatzyklase die Erhöhung von cAMP in der Zelle und blockiert gleichzeitig dessen vorzeitigen Abbau, so dass die cAMP-Konzentration von Zellen nach Relaxinstimulation länger erhöht bleibt (BARTSCH et al. 2001). Zwei membranassoziierte G-Protein-gekoppelte Rezeptortypen (LGR7 und LGR8) wurden für Relaxin und RLF nachgewiesen (HSU et al. 2002).

KLONISCH et al. (2001) vermuten, dass im Corpus luteum der tragenden Hündin Relaxin und RLF gebildet werden, während die Gelbkörper der nicht tragenden Hündin nur RLF synthetisieren. Da RLF mit Relaxin um dessen Bindungsstellen konkurriert, könnte die Aufgabe des RLF bei der tragenden Hündin einer partiellen Blockade der Relaxinrezeptoren bestehen. Inwiefern dies am Ovar der graviden Hündin eine Rolle spielt und welche Aufgabe Relaxin und RLF am Corpus luteum erfüllen, ist noch unbekannt.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Tiere

Zur Durchführung der Studie lag die Genehmigung durch die Bezirksregierung Hannover Aktenzeichen 509c-42502-02/508 vom 07.03.2002 vor.
Für die vorliegende Studie standen acht institutseigene Beagle-Hündinnen im Alter von 1 ½ bis 3 ½ Jahren zur Verfügung. Sieben Tiere waren nullipar, Hündin A3 hatte vor Versuchsbeginn einen Wurf. Die Geburt verlief ohne Komplikationen.
Alle Tiere befanden sich in einem guten Gesundheits- und Pflegezustand. Die Tiere wurden in Gruppen von vier Hunden in Ausläufen mit geschlossenen, strohausgelegten Boxen gehalten. Die Fütterung erfolgte einmal täglich mit einem handelsüblichen Mischfutter. Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Das Körpergewicht der Hunde betrug 14,5 bis 16,3 kg.

3.1.2. Einteilung in Gruppen

Die Hündinnen wurden in drei Gruppen eingeteilt:

1. Gruppe K (Kontrolle): zwei Hündinnen (K1 und K2) mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit.
2. Gruppe A (Aglepristone): drei Hündinnen (A 1-3), die mit dem Antigestagen Aglepristone (Alizine®) behandelt wurden.
3. Gruppe C (Cloprostenol/Cabergolin): drei Hündinnen (C 1-3), die mit dem Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Analogon Cloprostenol (Estrumate®) in Kombination mit dem Prolaktinantagonisten Cabergolin (Galastop®) behandelt wurden.

Die Hündinnen wurden bis auf zwei Ausnahmen (C2 und C3) in zwei Trächtigkeiten untersucht. Hündin C2 entwickelte nach der ersten Trächtigkeit eine Endometritis und wurde für die zweite Trächtigkeit aus dem Versuchsvorhaben ausgeschlossen. Für sie wurde die Hündin C3 eingesetzt. Die Tiere der Gruppen K und A und die Hündin C1 wurden in der zweiten Trächtigkeit, die Hündin C3 in ihrer ersten Trächtigkeit, zwischen Tag 30 und 34 p.ov. ovariohysterektomiert.

3.1.3. Versuchsdurchführung

3.1.3.1. Zielsetzung

Ziel der Untersuchungen war es, die Funktion der Corpora lutea gravider Hündinnen durch Verabreichung unterschiedlich wirksamer Pharmaka zu untersuchen, die Effekte der Medikation mit Hilfe der gepulsten und farbkodierten Dopplersonographie der stromalen ovarialen Arterien sowie durch begleitende Hormonanalysen zu charakterisieren und mit entsprechenden Befunden der Kontrolltiere zu vergleichen.
Die auf die Ovariohysterektomie folgenden histologischen, immunhistologischen und biochemischen Untersuchungen der Ovarien dienten der Erfassung morphologischer und funktioneller Parameter insbesondere an den Gelbkörpern.

3.1.3.2. Klinisch-gynäkologische Untersuchungen vor der Ovulation

Zur Erkennung des ersten Läufigkeitstages wurden alle Hündinnen vor Beginn der Studie ab dem fünften Monat nach vorangegangener Ovulation in drei- bis viertägigen Abständen durch Sekretentnahme mit einem Tupfer aus dem Vestibulum vaginae auf das Auftreten von blutigem Läufigkeitssekret kontrolliert.
Nach der ersten Gravidität wurden die mit Aglepristone bzw. Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen erstmals drei Monate nach der vorangegangenen Ovulation, die Hündinnen mit unbeeinflusster Trächtigkeit wiederum fünf Monate nach der Ovulation wie oben beschrieben auf den Eintritt der zweiten Läufigkeit untersucht.

Vom ersten Läufigkeitstag (= Auftreten von blutigem Sekret im Vestibulum vaginae) wurden die Hündinnen in zwei- bis dreitägigen Abständen untersucht, um den Ovulationstermin exakt bestimmen zu können. Jede Untersuchung beinhaltete die Adspektion der Vulva und eine Beurteilung eventuell vorhandenen, austretenden Sekrets. Anschließend wurde die Vulva palpiert, um die Gewebekonsistenz und die Paarungsbereitschaft zu überprüfen. Zur vaginoskopischen Untersuchung wurde ein steriles Röhrenspekulum in die Vagina eingeführt und mit Hilfe eines mit steriler isotoner Kochsalzlösung befeuchteten Wattetupfers ein Abstrich aus dem kranialen Scheidendrittel entnommen. Mittels einer Lichtquelle wurde die Vaginalschleimhaut hinsichtlich Farbe, Feuchtigkeit und Fältelung beurteilt (GÜNZEL-APEL 1997).
Der entnommene Tupfer wurde anschließend in zwei bis drei Bahnen auf einem vorgefärbten Objektträger (Testsimplet®, Fa. Boehringer Mannheim, Mannheim) ausgerollt und ca. zwei Minuten luftgetrocknet. Nach der vollständigen Trocknung wurde der Ausstrich mit einem Fixierspray (Merckofix®, Fa. Merck, Darmstadt) gleichmäßig besprüht, erneut an der Luft getrocknet, unter fließendem Wasser abgespült und schließlich mit Eukitt® (Fa. O. Kindler, Freiburg i. Breisgau) eingedeckt (GÜNZEL-APEL 1997). Die lichtmikroskopische Untersuchung der Ausstrichpräparate erfolgte bei 128-facher Vergrößerung. Beurteilt wurden hierbei der Ausstrichhintergrund, Art und Lage der Epithelzellen sowie das Vorkommen von Erythrozyten oder neutrophilen Granulozyten.
Mit dem Erreichen der späten Follikelphase, die anhand vaginoskopischer, vaginalzytologischer und sonographischer Befunde charakterisiert wurde, wurden Blutproben zur Bestimmung der peripheren Progesteronkonzentration in zwei- bis dreitägigem Rhythmus entnommen. Mit Beginn des präovulatorischen Anstiegs der Progesteronkonzentration erfolgte die sonographische Ovardiagnostik alle zwölf Stunden bis zur Ovulation. Nach der Ovulation wurden die Hündinnen innerhalb von 24-60 Stunden zweimal entsprechend den Vorgaben von LÜBKE (1997) mit dem Frischsamen eines fertilen Beagle-Rüden besamt.
Zur Erfassung der vaginalen Keimflora wurde zudem innerhalb der ersten drei Tage der Läufigkeit eine Tupferprobe aus der kranialen Vagina entnommen.

3.1.3.3. Medikation und Ovariohysterektomie

Alle Hündinnen der Gruppe A wurden in der ersten und zweiten Trächtigkeit mit dem Antigestagen Aglepristone (Alizine®, 1 ml = 30 mg, Fa. Virbac Santé animale, Carros, Frankreich) mit je 10 mg/kg s.c. am Tag 24 und 25 post ovulationem behandelt. Alle drei Hündinnen mussten in der ersten Trächtigkeit am Tag 36 und 37 p.ov. mit derselben Dosis nachbehandelt werden, da nach der Erstbehandlung eine bis mehrere Früchte nicht abgestorben waren. Aus demselben Grund wurde bei der Hündin A3 in der zweiten Trächtigkeit am Tag 31 p.ov. eine zweite Aglepristone-Medikation vorgenommen.
Alle Hündinnen der Gruppe C wurden in der ersten und zweiten Trächtigkeit mit dem $PGF_{2\alpha}$-Analogon Cloprostenol (Estrumate®, 1 ml = 250 mg, Fa. Essex Tierarznei, München) in der Dosierung 1 µg/kg s.c. am Tag 24 und 27 p.ov. in Kombination mit dem Prolaktinhemmer Cabergolin (Galastop®, 1 ml = 50 µg, Fa. CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf) in der Dosierung 5 µg/kg p.os. täglich von Tag 24 bis 30 p.ov. behandelt. Die Hündinnen C1 und C2 wurden in der ersten Trächtigkeit am Tag 36 p.ov. mit Cloprostenol und von Tag 36 bis 37 p.ov. mit Cabergolin in derselben Dosierung nachbehandelt, da je eine Frucht nach der Erstbehandlung nicht abgestorben war. Die Hündinnen C1 und C3 wurden in der zweiten Trächtigkeit am Tag 31 p.ov. mit Cloprostenol und von Tag 31 p.ov. bis zur Ovariohysterektomie mit Cabergolin nachbehandelt.
Bei Auftreten von resorptions-/abortbedingtem Ausfluss wurden die Tiere klinisch untersucht. Mit einem sterilen Tupfer wurde eine Probe aus der kranialen Vagina entnommen und im Institut für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover untersucht. Konnte ein pathogener vaginaler Keimgehalt nachgewiesen werden, wurde eine antibiotische Therapie nach Erstellung eines Antibiogramms durchgeführt.
Bei den Kontrolltieren wurde nach dem Absetzen der Welpen (Tag 130 p.ov.), bei den Tieren der Gruppen A und C jeweils ab Tag 75 p.ov. eine einheitliche Therapie zur Endometritisprophylaxe (dreimal täglich 20 µg/kg Dinoprost (Dinolytic®, Fa. Pharmacia, Erlangen) s.c. über zehn Tage) durchgeführt.

Die Ovariohysterektomie wurde im Einzelnen an folgenden Tagen vorgenommen:

A1	Tag 32 p.ov.	C1	Tag 33 p.ov.	K1	Tag 31 p.ov.
A2	Tag 30 p.ov.	C3	Tag 34 p.ov.	K2	Tag 30 p.ov.
A3	Tag 33 p.ov.				

3.1.4. Endokrinologische Untersuchungen

Die retrospektiv durchgeführte Analyse der peripheren Blutserumkonzentrationen von Estradiol-17β, Progesteron und Relaxin diente der Überprüfung zeitlicher Zusammenhänge zwischen den gemessenen Blutflussparametern und ovarialen Funktionsveränderungen.
Die Blutentnahmen erfolgten durch Punktion der V. cephalica antebrachii oder der V. saphena vom Tag der Ovulation bis Medikationsbeginn in viertägigem Abstand, danach täglich bis Tag 31 p.ov. in der ersten und bis zur Ovariohysterektomie in der zweiten Trächtigkeit. In der ersten Trächtigkeit wurde ab Tag 31 p.ov. in viertägigem Abstand, vom Tag 39 bis Tag 60 p.ov. in wöchentlichem Abstand Blut in zur Serumgewinnung präparierten Röhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) gewonnen. Das nach Zentrifugieren (10 Minuten bei 3000 U/min) und anschließendem Dekantieren gewonnene Serum wurde bis zur Analyse in beschrifteten Röhrchen bei -20 °C gelagert.
Die Blutserumproben wurden in der Abteilung für Endokrinologie des Chemischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule Hannover hinsichtlich der Estradiol-17β- und Progesteronkonzentrationen bestimmt. Die Analyse der Relaxinkonzentrationen erfolgte im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.
Die angewandten Analyseverfahren sind für Estradiol-17β und Progesteron bei BEHRENDS et al. (1993) und für Relaxin bei EINSPANIER et al. (1999) beschrieben.

Folgende Assaykriterien wurden ermittelt:

Progesteron:	Untere Nachweisgrenze 0,05 ng/ml
	Intraassayvariationskoeffizient 4,6 %
	Interassayvariationskoeffizient 12 %
Estradiol-17-β:	Untere Nachweisgrenze 4,0 pg/ml
	Intraassayvariationskoeffizient 11 %
	Interassayvariationskoeffizient 14 %
Relaxin:	Untere Nachweisgrenze 0,03 ng/ml
	Intraassayvariationskoeffizient 8,7 %
	Interassayvariationskoeffizient 12 %

3.1.5. Sonographische Untersuchungen

3.1.5.1. Apparative Ausrüstung

Für die Studie stand das Farbdopplersystem LOGIQ® 500 (General Electrics Medical Systems Medizinische Systeme, Solingen) zur Verfügung. Die Untersuchung der Ovarien erfolgte mit Hilfe eines elektronischen 7,5-MHz-Linearschallkopfes.
Zur Dokumentation der im Standbild festgehaltenen Ultraschallbilder sowie der Blutflussprofile und deren Messparameter wurden Schwarz-Weiß-Prints mit dem Video Copy Processor P67 E (Fa. Mitsubishi, Japan) auf Thermopapier K 61B angefertigt. Für die photographische Aufzeichnung auf Diafilmen (Chrome Super CU DX 36, Porst) stand die Kleinbildkamera FR 1100 (Fa. Avio, Japan) zur Verfügung.

3.1.5.2. Vorbereitung und Handhabung der Tiere

Alle Hündinnen wurden in einem abgedunkelten, ruhigen Raum nüchtern und unsediert in Seitenlage auf einer gepolsterten Kunststoffunterlage untersucht. Um eine bessere Ankopplung zu gewährleisten, wurde beidseitig kaudal des Rippenbogens unterhalb der Lendenmuskulatur eine ca. handtellergroße Fläche ausrasiert, mit 90%igem Ethanol entfettet und ein handelsübliches Ultraschallgel aufgetragen.

Für die Untersuchung beider Ovarien wurde ein Zeitaufwand von einer bis drei Stunden benötigt.

3.1.5.3. Untersuchungsfrequenz

Die sonographische Befunderhebung erfolgte von Tag 5 bis Tag 20 p.ov. in fünftägigen, von Tag 24 bis Tag 40 p.ov. bzw. bis zur Ovariohysterektomie in zweitägigen und in der ersten Trächtigkeit von Tag 40 bis 60 p.ov. wieder in fünftägigen Abständen.

3.1.5.4. Untersuchungsablauf

Die Vorgehensweise beim Aufsuchen der Eierstöcke entsprach den Vorgaben von HAYER et al. (1993) und DIETERICH (1994): Nach kurzer Einwirkzeit des aufgetragenen Ultraschallgels wurde der Schallkopf kaudal des Rippenbogens ventral der Lendenmuskulatur auf die vorbereitete, seitliche Bauchwand aufgelegt. Je nach Lage der Eierstöcke wurde der Schallkopf nach dorsokranial bis dorsokaudal oder nach medial ausgerichtet. Die Ovarien konnten in der Mehrzahl der Fälle im Bereich des kaudalen Nierenpols dargestellt werden. Bei einigen Hündinnen befanden sie sich lateral bis kraniolateral der Niere.
Die Ovarien wurden zunächst im zweidimensionalen B-Bild-Verfahren aufgesucht und hinsichtlich ihrer Echogenität und Abgrenzbarkeit sowie des Vorhandenseins von Funktionskörpern beurteilt.
Die stromalen Arterien wurden nach den Vorgaben von KÖSTER et al. (2001) im Farbduplex dargestellt. Das Farbfenster wurde der Ovargröße angepasst. Durch Abtasten verschiedener Schnittebenen mit dem Schallstrahl wurde die Position bestimmt, in der möglichst viele Gefäßanschnitte farbig kodiert sichtbar waren. Die quantitative Befunderhebung an den Arterien erfolgte im Triplex-Mode, d. h. bei kombiniertem Einsatz von farbkodierter und gepulster Dopplersonographie. Es wurden farbkodierte Gefäßsegmente ausgewählt, die sich durch die höchste Farbintensität auszeichneten und deren Verlauf zumindest über eine kurze Strecke verfolgt werden konnte. Die Positionierung des Dopplerstrahls im zu untersuchenden Gefäß war im Zoom bei einer Eindringtiefe von 3 cm genauer durchzuführen. Deshalb wurde diese Einstellung trotz schlechterer Qualität des Grauwertbildes im Triplex-Mode teilweise angewandt. Das Messvolumen wurde an das Gefäßlumen angepasst. Durch Neigung des Doppler-

strahls konnte dessen Verlauf dem des Gefäßes angeglichen und über eine vermehrte Farbfülle der Gefäße die Festlegung eines Korrekturwinkels erleichtert werden.
Abdominale Atembewegungen verhinderten zeitweise eine konstante Positionierung des Dopplerstrahls in dem zu untersuchenden Gefäß, weshalb das Messvolumen während der exspiratorischen Phase über einem Gefäßsegment in einer optimalen Position ausgerichtet wurde, die die Registrierung von mehreren Herzzyklen guter Qualität erlaubte.
Nach Registrierung und Fixierung eines Strömungsprofils wurde durch die Bestimmung des Winkels zwischen Schallstrahlen und Gefäß die Messung korrigiert. Winkel, die 60° überschritten, wurden von der Messung ausgeschlossen.
Ausgemessen wurden nach Möglichkeit Strömungskurven, die aus mehreren Herzzyklen mit guter Qualität resultierten. Die Aufzeichnung der Blutflüsse konnte verbessert werden, wenn vorübergehend von dem Triplex-Mode auf den PW-Mode (pulsed wave) umgeschaltet wurde. Von den aufgezeichneten arteriellen Blutflusskurven wurden pro Ovar und Messtag je drei ausgewertet.

3.1.5.5. Messparameter

Ein im Ultraschall integrierter Rechner berechnete nach manueller Eingrenzung der arteriellen Kurve folgende Parameter:

SPV	=	Systolische Maximalgeschwindigkeit
EDV	=	Enddiastolische Geschwindigkeit
DPV	=	Diastolische Maximalgeschwindigkeit
TAMAX	=	Mittlere Maximalgeschwindigkeit (time average maximum velocity)
PI	=	Pulsatilitätsindex
RI	=	Widerstands-Index
A/B	=	A/B-Quotient
S/D	=	S/D-Quotient

3.1.6. Histologische, immunhistologische und biochemische Untersuchungen

3.1.6.1. Anatomische Präparation und pathologisch-anatomische Untersuchungen

Die Hündinnen wurden in Allgemeinanästhesie mit zusätzlicher Epiduralanästhesie in der Linea alba laparotomiert. Uterus und Ovarien wurden in situ vorgelagert und fotografiert. Nach Abbinden erfolgte die Ovariohysterektomie nach BRASS (1999).
Nach der Exenteration der Ovarien wurden diese vermessen, auf makroskopisch erfassbare Strukturen (Corpora lutea) sowie pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht, sagittal halbiert und fotografiert. Makroskopisch erkennbare Gelbkörper wurden gezählt und beurteilt. Die Ovarien wurden dann für 24 bis 72 Stunden in 4%iger gepufferter Formalin-Lösung fixiert. Die Zeitspanne zwischen Entnahme und Fixierung der Ovarien betrug zwischen 10 und 15 Minuten. Die Ovarien wurden während dieser Zeit mehrfach mit steriler isotoner Kochsalzlösung befeuchtet. Sämtliche Manipulationen an den Organen wurden unter sterilen Kautelen durchgeführt.
Für weiterführende Untersuchungen im Rahmen anderer Studien wurden 1-2 mm große Proben in Paraform- bzw. Glutaraldehyd oder flüssigen Stickstoff eingebettet.
Von den formalinfixierten Eierstöcken wurden aus allen ovarialen Strukturelementen unterschiedlicher Lokalisationen Gewebeproben entnommen und histologisch aufgearbeitet.

3.1.6.2. Histologische Präparation

Die formalinfixierten Proben wurden nach Standardverfahren in Paraffin eingebettet. Mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms (Microm HM 360) wurden 5 µm dicke Schnitte angefertigt, auf mit 0,01% Poly-L-Lysin beschichtete Objektträger (Fa. Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, USA) aufgezogen und mit einer Hämalaun-Eosin-Färbung (H.-E.-Färbung) (ROMEIS 1989, siehe Anhang) angefärbt.

3.1.6.3. Licht- und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Präparate wurde mit dem Axioskop 2 (Fa. Zeiss, Oberkochen) unter Verwendung von 10er, 20er und 40er Objektiven durchgeführt. Je Ovar standen zwei H.-E.-gefärbte Objektträger zur Verfügung.
Mittels dieser Untersuchungen wurden die an den Ovarien vorhandenen Funktionskörper bestimmten Stadien der Reifung und Rückbildung zugeordnet. Zur Quantifizierung aufgefundener Follikelstadien wurden pro Ovar fünf Definitionsfelder ausgezählt. Dabei entsprach ein Gesichtsfeld in der Vergrößerung mit dem 10er-Objektiv einem Definitionsfeld. Die numerischen Ergebnisse wurden wie folgt klassifiziert:

< 10 Follikelstadien = wenige
10-15 Follikelstadien = einige
> 15 Follikelstadien = zahlreiche

Die Gelbkörper wurden den von ANDERSEN und SIMPSON (1973) definierten Stadien der frühen bis späten Rückbildung zugeordnet. Abschätzung und Wertung der histologischen Befunde an den Corpora lutea wurden von zwei unabhängigen Gutachtern bestätigt.
Am Axioskop 2 waren durch Zuschalten einer entsprechenden Lichtquelle fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen möglich. Die mit fluoreszierendem Farbstoff behandelten Ovarschnitte wurden bei Exzitationswellenlängen zwischen 365 und 546 nm und Emissionswellenlängen zwischen 420 und 590 nm betrachtet. Die Anzahl Fluoreszenz-positiver Zellen wurde geschätzt. Abschätzung und Wertung der fluoreszenzmikroskopischen Befunde an den Corpora lutea wurden von zwei unabhängigen Gutachtern bestätigt.

3.1.6.4. Immunhistologische und biochemische Methoden

Relaxin, 3-β-HSD und Progesteronrezeptoren wurden mittels der Immun-Peroxidase-Methode nachgewiesen. Für den Nachweis apoptotischer und nekrotischer Zellen stand das Annexin-V-Fluos Staining Kit® (Fa. Boehringer Mannheim, Mannheim), für den Nachweis apoptotischer Zellen nach der TUNEL-Methode das In Situ Cell Death Detection Kit® (Fa. Boehringer Mannheim, Mannheim), zur Verfügung.

Als primäre Antikörper wurden für Relaxin polyklonale rabbit-anti-porcine-Antikörper (Bezugsquelle O.D. Sherwood, Illinois, USA) in der Verdünnung 1:5000, für 3-β-HSD Kaninchen-IgG-Antikörper (Fa. Pineda, Berlin) in der Verdünnung 1:1000 und für den Progesteronrezeptor monoklonale Antikörper der Maus: mouse-IgG2a-Antikörper Klon 10A9 (Fa. Coulter-Immunotech, Hamburg) in der Verdünnung 1: 50 bzw. 1:10 verwendet.
Die jeweilige Konzentration wurde in Vorversuchen (Relaxin: 1:100, 1: 300, 1:500; 1:1000, 1:5000, 1:7000, 1:10 000; 3-β-HSD 1:1000; PR 1:10, 1:50, 1:100) getestet.
Die Nachweise wurden nach folgendem Methodenprotokoll durchgeführt:

Relaxin und 3-β-HSD

Zur Vorbereitung wurden die Objektträger am Abend vorher über Nacht in den Wärmeschrank gestellt.
Zum Nachweis von Relaxin und 3-β-HSD wurden die Paraffinschnitte zunächst mit Xylol und danach in einer absteigenden Alkoholreihe (100, 90, 80, 70 und 50%iges Ethanol) entparaffiniert (siehe Anhang). Anschließend wurden die Schnitte einer 20minütigen Behandlung mit 3%igem H_2O_2 (Fa. Roth, Karlsruhe) und einer 45minütigen Inkubation mit humanem Normalserum (1:100) unterworfen. Dann wurden sie mit den in PBS verdünnten jeweiligen Primär-Antikörpern beschichtet und über Nacht bei 4° C in einer feuchten Kammer inkubiert. Als Kontrolle wurden statt des primären Antikörpers IgG-Antikörper in der entsprechenden Verdünnungsstufe eingesetzt.
Am nächsten Tag wurden die Schnitte in PBS-Pufferlösung gespült und anschließend 45 Minuten mit einem anti-mouse-anti-rabbit Sekundärantikörper (DAKO A, Fa. DAKO Cytomation, Glostrup, Dänemark) bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Nach einer weiteren Spülung mit PBS-Puffer wurden die Schnitte mit chromogenem Substrat (AEC-DAKO, Fa. Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA) behandelt. Die Reaktion wurde nach acht Minuten durch Stoppen in Leitungswasser beendet, die Schnitte nochmals mit Aqua bidest. gespült und anschließend mit Immu-Mount® (Fa. Shandon, Pittsburgh, USA) eingedeckt (EINSPANIER et al. 1997).

Progesteronrezeptor

Nach Entparaffinierung (siehe Anhang) wurden die Schnitte zur Vorbehandlung für zehn Minuten in 10 mM Citratpuffer (pH 6) (Herstellung siehe Anhang) bei 120° C in den Wärmeschrank verbracht. Nach einer Abkühlzeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur wurden die Schnitte in PBS gespült und anschließend acht Minuten in 0,0125%iger Trypsinlösung bei 37° C inkubiert und danach wiederum in PBS-Pufferlösung gespült. Der weitere Ablauf entspricht der Verfahrensweise ohne Vorbehandlung (siehe Relaxin und 3-β-HSD).

Annexin-V-Fluos Staining Kit®

Im Rahmen apoptotischer Veränderungen kommt es zu einer Freisetzung von Phosphatidylserin (PS) aus der Plasmamembran an die Zelloberfläche. Annexin V ist ein Kalziumabhängiges Protein mit einer hohen Affinität zu PS, färbt aber auch nekrotische Zellen an (VERMES et al. 1995). Die Kombination mit Propidium-Jodid, das mit der DNA nekrotischer, aber nicht mit der DNA apoptotischer Zellen reagiert, ermöglicht eine Unterscheidung von Apoptose und Nekrose.
Zur Vorbereitung für zehn Assays wurden aus dem Testkit (Fa. Roche Diagnostics GmbH, Penzberg) 20 µl Annexin-V-Reagenz in 1 ml Inkubations-Puffer gelöst und mit 20 µl Propidium-Jodid versetzt. Die Schnitte wurden nach Entparaffinierung fünf Minuten mit PBS-Puffer gewaschen und anschließend für 15 Minuten bei Raumtemperatur mit je 50 µl der hergestellten Lösung bedeckt.
Im Anschluss wurden die Objektträger mit Gel Mount® Eindeckmedium (Fa. Sigma, Steinheim) eingedeckt und die Präparate innerhalb der folgenden sechs Stunden befundet, um Fehlinterpretationen durch das rasche Ausbleichen des Fluoreszenzfarbstoffes zu vermeiden.

In Situ Cell Death Detection Kit® (TUNEL)

Die TUNEL-Methode (terminal deoxy-nucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end-labeling) dient dem Nachweis apoptotischer Zellen. Das Prinzip der Methode basiert auf der Sichtbarmachung spezifischer apoptosebedingter DNA-Fragmente (nicks) mittels einer enzymatischen Reaktion. Die Identifikation der Fragmente erfolgt nach Anfärbung im Fluoreszenz-Mikroskop (GAVRIELI et al. 1992).

Die Paraffinschnitte wurden für eine Stunde im Wärmeschrank bei 40°C erwärmt und anschließend entparaffiniert. Nach 30-minütiger Inkubation in Proteinase-K-Lösung (Fa. Sigma, Steinheim) (20 µg/ml in Tris-HCl (Fa. Roth, Karlsruhe)) wurden die Schnitte 3 x 15 Minuten in PBS-Puffer gewaschen und im Anschluss mit je 50 µl der kurzfristig nach Herstellerangaben des Kits aus 50 µl Enzymreagenz und 450 µl Lösungsmittel angefertigten TUNEL-Reagenz beschichtet.
Nach einer 60minütigen Inkubation in einer verdunkelten feuchten Kammer bei 37°C wurden die Schnitte mit Gel Mount® (Fa. Sigma, Steinheim) eingedeckt und unmittelbar danach fluoreszenzmikroskopisch befundet.

3.1.6.5. Auswertung der immunhistologischen Parameter

Für jeden immunhistologischen Parameter stand ein Objektträger für die mikroskopische Untersuchung zur Verfügung.
Als Positivkontrollen wurden Ovarien und Uterusproben von Callithrix jacchus bzw. Plazentaproben des Hundes mitgeführt. Als Negativkontrollen dienten jeweils parallel, ausschließlich mit mouse-anti-rabbit-IgG (Fa. Dianova, Hamburg) inkubierte Schnitte.
Die Expression von Relaxin und 3-β-HSD erscheint im Gelbkörper als eine ausschließlich zytoplasmatische mittlere bis kräftig rote Anfärbung. Als positiv wurden in der Schnittebene liegende rote feingranuläre Reaktionsprodukte gewertet. Progesteronrezeptoren sind ausschließlich zellkerngebunden. Als positiv wurden in der Schnittebene des Kerns liegende, hell- bis dunkelbraune feingranuläre Reaktionsprodukte gewertet.
Die Anzahl positiv reagierender Zellen sowie deren Färbeintensität wurde subjektiv geschätzt und deskriptiv erfasst. Abschätzung und Wertung der immunhistologischen Befunde an den Corpora lutea wurden von zwei unabhängigen Gutachtern bestätigt.
Das eisenhaltige Pigment Hämosiderin, das infolge von Blutabbau in den Makrophagen und Epithelzellen liegen kann, ist auch in der Negativkontrolle als hellbraunes, granuläres Material nachweisbar und kann somit von einer positiven immunhistologischen Reaktion eindeutig abgegrenzt werden.
Mit Annexin V gefärbte Schnitte wurden unter dem Fluoreszenzmikroskop begutachtet. Dabei zeigen apoptotische Zellen eine grüne oder blaue, nekrotische Zellen eine rote Fluores-

zenz. Erythrozyten erscheinen ebenfalls stets in roter Fluoreszenz. Mit der TUNEL-Methode bearbeitete apoptotische Zellen und Erythrozyten fluoreszieren rot.
Zur Veranschaulichung und Lokalisationszuordnung wurde von jeder fotografierten Region ein dreidimensionales Reliefbild angefertigt.

3.1.6.6. Dokumentation

Zur Dokumentation der histologischen und immunhistologischen Untersuchungen stand ein Photomikroskop (Typ Axiocam MRc, Fa. Zeiss, Oberkochen) zur Verfügung. Die Fotos wurden am PC mit dem Programm AxioVision 4 (Fa. Zeiss) bearbeitet und auf CD-ROM gebrannt.

3.1.7. Auswertung der Ergebnisse

Aufgrund der kleinen Gruppengröße (Gruppe K: n=2; Gruppe A: n=3; Gruppe C: n=3) und der damit verbundenen hohen Irrtumswahrscheinlichkeit wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet. Die im Rahmen dieser Grundlagenstudie gewonnenen Ergebnisse dienen daher der Verdeutlichung von Tendenzen.
Die Ergebnisse der endokrinologischen und dopplersonographischen Untersuchungen wurden zunächst rein deskriptiv analysiert. Für jeden endokrinologischen und dopplersonographischen Parameter wurde der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung sowie Minimum und Maximum mit dem Programm Microsoft Excel 2003 berechnet.
In den Legenden der Tabellen finden folgende Abkürzungen Anwendung:

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel
± SD = Standardabweichung
n = Anzahl der untersuchten Tiere
Min = Minimalwert
Max = Maximalwert

Die Ergebnisse der histologischen, immunhistologischen und fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen an den Corpora lutea wurden deskriptiv erfasst.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Klinische Befunde

3.2.1.1. Nebenwirkungen der Behandlungen

Bei Hündin A3 entstand nach der zweiten Aglepristone-Gabe (Tag 25 p.ov.) der ersten Trächtigkeit im Bereich der Injektionsstelle eine subkutane knotige walnußgroße Verdickung, die innerhalb von vier Wochen ohne Behandlung verschwand.
Hündin C1 erbrach am Tag 27 p.ov. der ersten Trächtigkeit nach der Applikation von Cloprostenol und Cabergolin.
Bei den mit Aglepristone und Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen kam es zwischen Tag 28 und 35 p.ov. zu erstem Auftreten eines bräunlich-roten vaginalen Ausflusses, der bei allen Tieren ein bis zwei Tage nach dem Absterben der letzten Frucht verschwand. Die Tiere wurden nach dem Auftreten von Ausfluss gemäß Resistenztest antibiotisch versorgt. Da bei Hündin C2 in der zweiten Läufigkeit keine Trächtigkeit erzielt werden konnte und sie eine mittelgradige Endometritis entwickelte, wurde sie durch Hündin C3 ersetzt.

3.2.1.2. Läufigkeitsintervalle

Die Läufigkeitsintervalle der Kontrollhündinnen K1 und K2 mit unbeeinflusster Trächtigkeit betrugen zehn (K1) bzw. acht (K2) Monate.
Die Zyklusdauer der mit Aglepristone behandelten Hündinnen war deutlich kürzer. Sie betrug für Hündin A1 und A3 sechs Monate, für Hündin A2 vier Monate.
Zwischen den Läufigkeiten der mit Cloprostenol und Cabergolin behandelten Hündinnen lagen 3 ½ (C1) und 10 Monate (C2). Hündin C3 wurde nur während eines Zyklus untersucht.

3.2.1.3. Auftreten von Fruchtresorptionen

Die im Rahmen der in der Einleitung erwähnten Parallelstudie erhobenen sonographischen Trächtigkeitsbefunde (POLITT, E.) werden im Hinblick auf mögliche Interaktionen zwischen den medikationsbedingten ovarialen und endometrialen / plazentären Veränderungen in den Tabellen 1 und 2 dargestellt.

Tab. 1: Eintritt von intrauterinem Fruchttod und Fruchtresorptionen (Res.) bei individuellen Früchten (F) in der ersten Trächtigkeit[1]

Hündin / Tag p. ov.	Kontrolle				Aglepristone						Cloprostenol / Cabergolin			
	K1		K2		A1		A2		A3		C1		C2	
	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F
21		6		8		6		10		8		8		8
22		6		8		6		10		8		8		8
23		6		8		6		10		8		8		8
24		6	1[s]	7		6		10	1[s]	7		8		8
25		6		7		6		10		7		8		8
26		6		7		6		10	1	6		8		8
27		6		7		6		10		6	1	7		8
28		6		7	1	5	1	9	1	5	1	6		8
29		6		7		5	7	2		5		6		8
30		6		7	1	4		2	1	4		6	1	7
31		6		7		4	1	1	1	3	1	5	2	5
32		6		7		4		1	1	2	1	4	2	3
33		6	1[s]	6		4		1	1	1		4	2	1
34		6		6		4		1		1	3	1		1
35		6		6	1	3		1		1		1		1
36		6		6		3		1		1		1		1
37		6		6		3		1		1	1	0	1	0
38		6		6	2	1		1		1				
39		6		6	1	0	1	0		1				
40		6		6						1				
41		6		6					1	0				
gesamt	0	6	2	6	6	6	10	10	7	7	8	8	8	8

[1] laut persönlicher Mitteilung von E. Politt vom 15.05.2004
[s] spontane Resorptionen
Res.: Anzahl abgestorbener Früchte bzw. frischer Resorptionen pro Tag
F: Anzahl noch vorhandener lebender Früchte
grau unterlegt: Medikationszeitraum (Gruppe C: Cloprostenol: Tag 24, 27 und 36 p.ov.; Cabergolin: Tag 24-30 und Tag 36-37 p.ov.)

Tab. 2: Eintritt von intrauterinem Fruchttod und Fruchtresorptionen (Res.) bei individuellen Früchten (F) in der zweiten Trächtigkeit[2]

Hündin / Tag p. ov.	Kontrolle				Aglepristone						Cloprostenol / Cabergolin			
	K1		K2		A1		A2		A3		C1		C2	
	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F	Res.	F
21		3	1[s]	10		6	1[s]	8		6		5		4
22		3		10		6		8		6		5		4
23		3		10		6		8		6	1[s]	4		4
24		3	1[s]	9		6		8		6		4		4
25		3		9		6		8		6		4		4
26		3		9		6		8	1	5		4		4
27		3		9		6		8	1	4		4		4
28		3	1[s]	8	4	2	1	7		4		4		4
29		3		8	2	0		7		4		4		4
30		3		8		0	1	6		4		4		4
31		3				0				4		4	1	3
32						0			1	3	1	3		3
33									1	2	1	2		3
34													1	2
gesamt	0	3	3	8	6	0	3	6	4	2	3	2	2	2

[2] laut persönlicher Mitteilung von E. Politt vom 15.05.2004
[s] spontane Resorptionen
Res.: Anzahl abgestorbener Früchte bzw. frischer Resorptionen pro Tag
F: Anzahl noch vorhandener lebender Früchte
grau unterlegt: Medikationszeitraum (Gruppe C: Cloprostenol: Tag 24, 27 und 31 p.ov.; Cabergolin: Tag 24-30 und Tag 31 p.ov. bis OVH)
fett umrandet: Tag der OVH

3.2.2. Endokrinologische Befunde

Die Veränderungen der Hormonprofile werden im zeitlichen Verlauf im Vergleich der Kontrollgruppe mit den Medikationsgruppen in den Abbildungen 1 bis 6 und im Anhang getrennt nach Tiergruppen in den Tabellen 4 bis 6 dargestellt.
Die Lutealphase wurde in folgende funktionelle Abschnitte eingeteilt:
Phase 1 – Tag 0 – 15 p.ov. – Gelbkörperanbildung
Phase 2 – Tag 16 – 24 p.ov. – Gelbkörperblüte / Vor Medikation
Phase 3 – Tag 25 – 31 p.ov. – Gelbkörperblüte / Unter Medikation
Phase 4 – Tag 32 – 40 p.ov. – Beginnende Gelbkörperregression / Nach Medikation
Phase 5 – Tag 41 – 60 p.ov. – Fortgeschrittene Gelbkörperregression / Nach Medikation

3.2.2.1. Estradiol-17β

Die Estradiol-17β-Konzentrationen nahmen bei allen Hündinnen in beiden graviden Lutealphasen einen ähnlichen Verlauf und wiesen die für den Hund typischen (EDQUIST et al. 1975; AUSTAD et al. 1976; KÖSTER et al. 2001) Verlaufsmuster auf (Abb. 1 und 2).
In der ersten Trächtigkeit schwankten die Werte der Kontrollgruppe vom Tag der Ovulation bis Tag 60 p.ov. um ein Mittel von 12,9 pg/ml mit Minimalkonzentrationen von 8,0 pg/ml und Maximalkonzentrationen von 23,5 pg/ml (Abb 1; Tab. 4a, Anhang). Bei der mit Aglepristone behandelten Gruppe betrug die mittlere Estradiol-17β-Konzentration im Verlauf der ersten graviden Lutealphase 14,4 pg/ml, wobei Minimalkonzentrationen von 3,8 pg/ml und Maximalkonzentrationen von 25,1 pg/ml erreicht wurden (Tab. 5a, Anhang). Bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen wurde eine mittlere Estradiol-17β-Konzentration von 14,7 pg/ml gemessen, wobei die Werte zwischen minimal 8,5 pg/ml und maximal 21,0 pg/ml schwankten (Tab. 6a, Anhang).

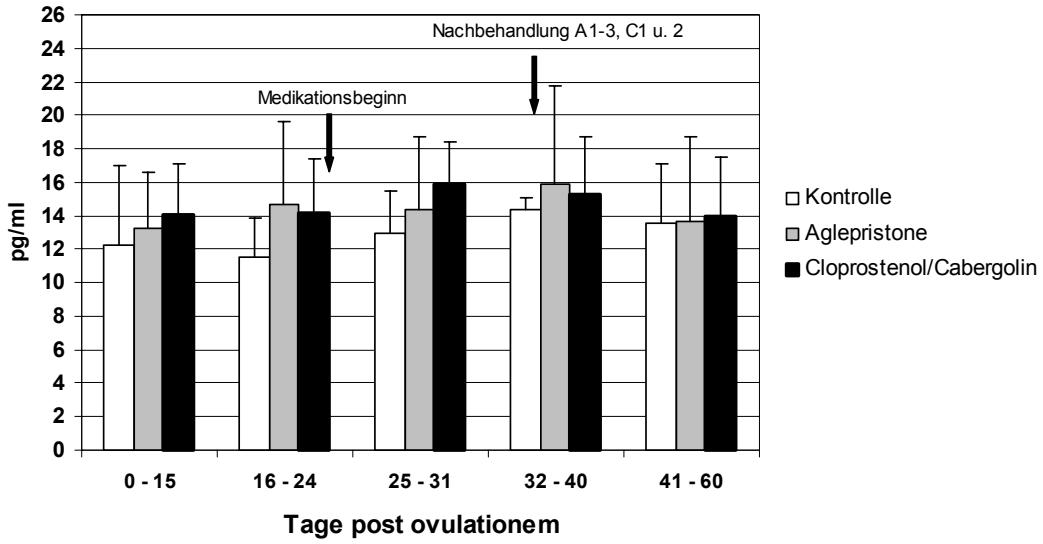


Abb. 1: **Mittlere Estradiol-17β-Konzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der ersten Trächtigkeit.**

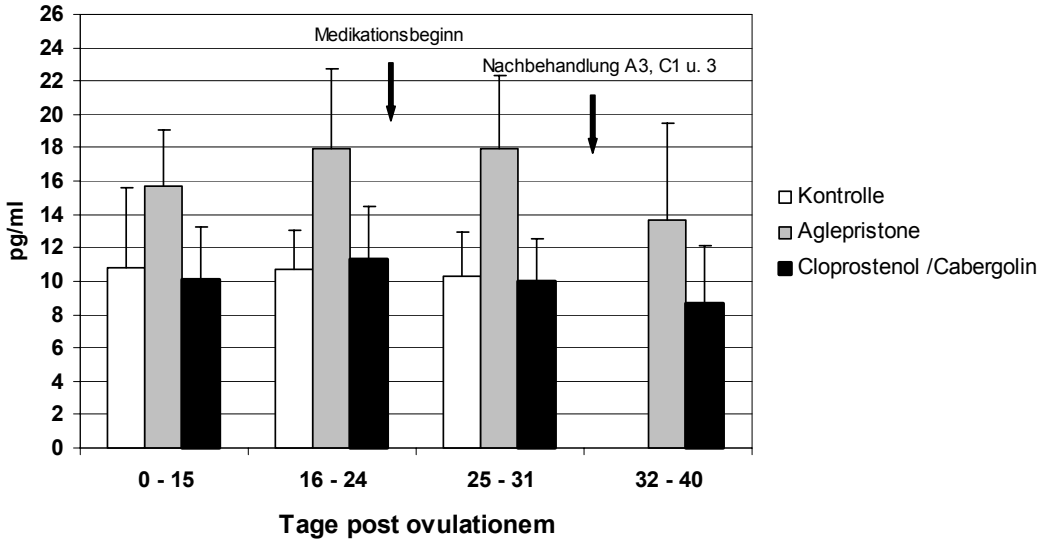


Abb. 2: **Mittlere Estradiol-17β-Konzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der zweiten Trächtigkeit.**

In der zweiten Trächtigkeit wurde bei den Kontrollhündinnen vom Tag der Ovulation bis zur Ovariohysterektomie (OVH) eine mittlere Estradiol-17-β-Konzentration von 10,6 pg/ml ermittelt, wobei die Werte zwischen 14,6 und 7,0 pg/ml variierten (Abb. 2; Tab. 4b, Anhang). Die Werte der Aglepristone-behandelten Tiere schwankten mit Minimalwerten von 6,0 pg/ml und Maximalwerten von 30,7 pg/ml um einen Mittelwert von 16,3 pg/ml (Tab. 5b, Anhang). Die mittlere Estradiol-17β-Konzentration der mit Cloprostenol/Cabergolin medikierten Hündinnen betrug im Mittel 10,0 pg/ml, wobei die Werte zwischen 5,9 pg/ml und 15,5 pg/ml variierten (Tab 6b, Anhang).
Eine Reaktion auf die Medikation oder die Resorption der Früchte wurde bei keiner der Hündinnen beobachtet.

3.2.2.2. Progesteron

Bei allen Hündinnen stieg die Progesteronkonzentration in beiden Trächtigkeiten während der Gelbkörperanbildung steil an und blieb bis zum Medikationsbeginn auf hohem Niveau (Abb. 3 und 4).

Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (K1 und K2)

Die Progesteronwerte der Hündinnen mit unbeeinflusster Trächtigkeit schwankten während der ersten Trächtigkeit bis zum Beginn der Gelbkörperregression auf hohem Niveau und sanken dann bis Tag 60 p.ov. langsam ab (Tab. 4a, Anhang). Beide Hündinnen warfen nach Erreichen basaler Progesteronkonzentrationen.
Das Hormonprofil war in der zweiten Trächtigkeit bis zur Ovariohysterektomie ähnlich (Tab. 4b, Anhang). Hündin **K1** wies am Tag der Ovariohysterektomie eine Progesteronkonzentration von 46,7 ng/ml, Hündin **K2** von 36,3 ng/ml auf.
Hündin K2 resorbierte in der Mitte der ersten und zweiten Trächtigkeit spontan zwei bzw. drei ihrer Früchte bei konstanten Progesteronkonzentrationen.

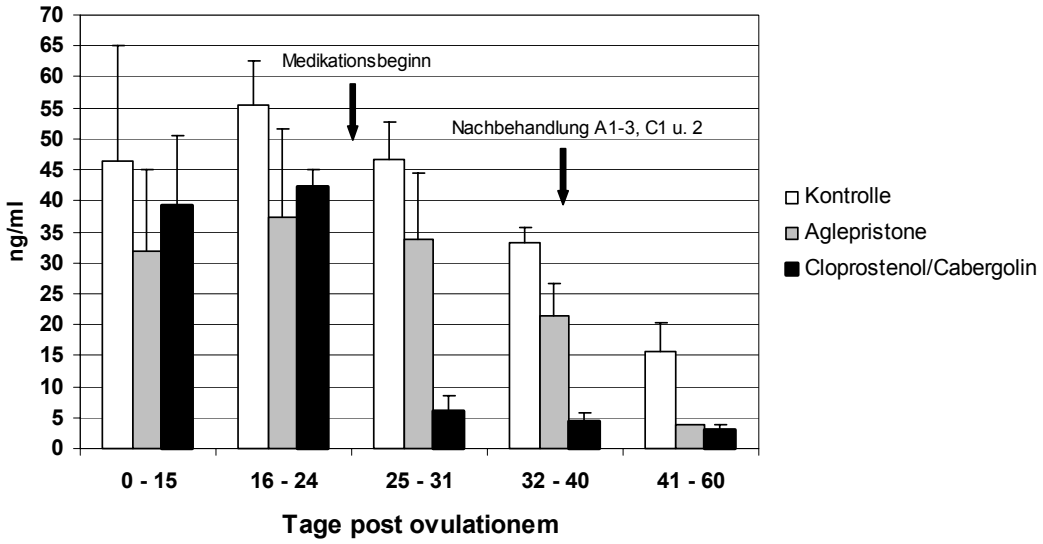


Abb. 3: **Mittlere Progesteronkonzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der ersten Trächtigkeit.**

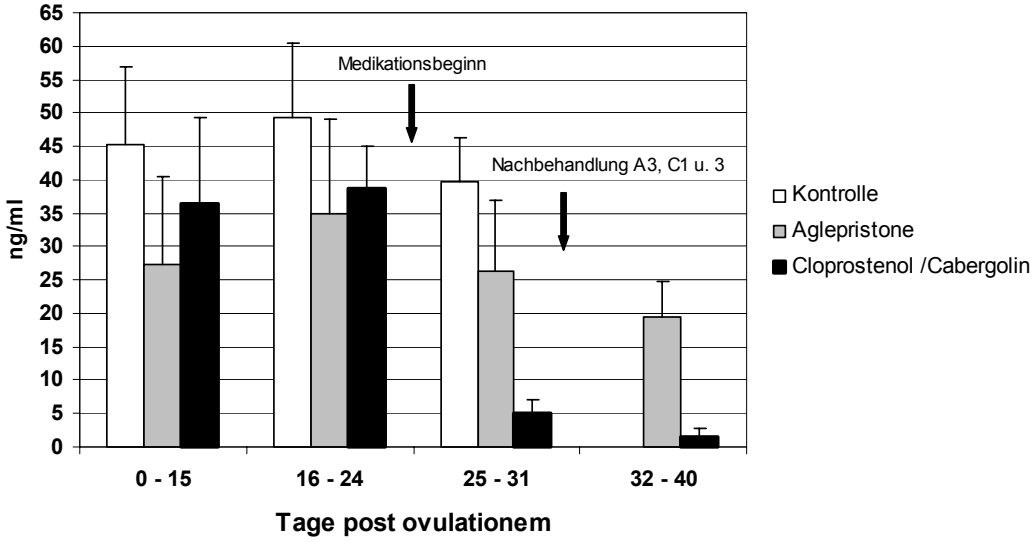


Abb. 4: **Mittlere Progesteronkonzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der zweiten Trächtigkeit.**

Mit Aglepristone behandelte Hündinnen (A1 bis A3)

Vor Medikationsbeginn verhielten sich die Progesteronkonzentrationen der mit Aglepristone behandelten drei Hündinnen in beiden Trächtigkeiten analog zu denen der Kontrollgruppe.
Unter und kurz nach den Aglepristone-Gaben (Tag 24 und 25 p.ov., Phase 3) war ein der physiologischen Situation entsprechender Progesteronkonzentrationsverlauf zu beobachten. Dies war auch unter bzw. nach wiederholter Applikation von Aglepristone (1. Trächtigkeit: Hündin A1, A2 und A3 Tag 36 und 37 p.ov. (Phase 4) / 2. Trächtigkeit: Hündin A3 Tag 31 p.ov. (Ende der Phase 3)) der Fall (Tab. 5a und b, Anhang).
Zwischen Tag 41 und 60 p.ov. (Phase 5) der ersten Trächtigkeit wiesen alle drei Hündinnen dieser Gruppe eine im Vergleich zu den Tagen 31 bis 40 p.ov. (Phase 4) und zur Kontrollgruppe deutlich geringere Progesteronkonzentration auf, die der mittleren Progesteronkonzentration der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Gruppe entsprach (Abb. 3 und 4).
Bei der Hündin **A1** war die Progesteronkonzentration in der ersten Trächtigkeit zum Zeitpunkt des Verlusts der letzten Frucht am Tag 39 p.ov. von 15,1 ng/ml (Tag 35 p.ov.) steil auf Werte von 3,2 ng/ml abgesunken und blieb bis zum Tag 60 p.ov. auf niedrigem Niveau. In der zweiten Trächtigkeit zeigten die Progesteronwerte von Beginn der Medikation bis zur Ovariohysterektomie ein der physiologischen Gelbkörperaktivität entsprechendes Muster. Am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 32 p.ov.) wurde ein Progesteronwert von 15,4 ng/ml gemessen.
Auch bei Hündin **A2** war während der Medikationsphasen und des Auftretens der Resorptionen keine Veränderung in der Progesteronkonzentration zu beobachten, jedoch fielen die Werte wie bei Hündin A1 zum Zeitpunkt des Verlusts der letzten Fruchtanlage in der ersten Trächtigkeit am Tag 39 p.ov. markant ab und betrugen am Tag 46 p.ov. nur noch 3,7 ng/ml. Auch in der zweiten Trächtigkeit war kein unmittelbarer Einfluss der Medikation und der ersten beiden Fruchtresorptionen auf die Progesteronkonzentration zu erkennen. Am Tag der OVH (Tag 30 p.ov.), an dem noch sechs lebende Früchte im Uterus vorhanden waren, betrug die Progesteronkonzentration 40,3 ng/ml.

In der ersten Trächtigkeit wurde die letzte Fruchtanlage der Hündin **A3** an Tag 41 p.ov. abortiert. Die Progesteronwerte blieben analog zu den anderen Hündinnen aus dieser Gruppe während den Medikationen und Resorptionen auf physiologischem Niveau. Zwischen Tag 41 und 46 p.ov. sanken sie von 28,0 ng/ml auf 2,9 ng/ml ab. In der zweiten Trächtigkeit waren zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie noch zwei von sechs Fruchtkammern intakt. Die Progesteronkonzentration betrug 16,2 ng/ml.

Mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen (C1 bis C3)

Vor Medikationsbeginn verhielten sich die Progesteronkonzentrationen der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten drei Hündinnen in beiden Trächtigkeiten analog zu denen der Kontrollgruppe. Alle drei Hündinnen zeigten in beiden Trächtigkeiten bereits einen Tag nach Medikationsbeginn einen steilen Abfall der Progesteronkonzentration (Abb. 3 und 4). Die Werte stiegen drei bis sieben Tage nach Ende der Medikation wieder geringgradig an, sanken unter der Wiederholungsbehandlung weiter ab und blieben dann auf niedrigem Niveau (Tab. 6a und b, Anhang).

Die Hündinnen C1 und C3 wiesen am Tag der OVH (C1: Tag 33 p.ov., C3: Tag 34 p.ov.) Progesteronkonzentrationen von 1,9 ng/ml (C1) bzw. 0,7 ng/ml (C3) auf. Die Progesteronkonzentrationen der Hündin **C1** fielen in der ersten Trächtigkeit nach Medikationsbeginn innerhalb von zwei Tagen von 43,4 ng/ml auf 4,3 ng/ml ab, blieben während des Auftretens der Fruchtresorptionen konstant und sanken unter der Wiederholungsbehandlung auf Werte um 2 ng/ml ab. In der zweiten Trächtigkeit traten bei der Hündin C1 bei Progesteronwerten zwischen 9,2 und 4,1 ng/ml unter und nach Erstmedikation keine Resorptionen auf. Die Wiederholungsbehandlung ab Tag 31 p.ov. führte zu einem Absinken der Progesteronkonzentration auf 1,9 ng/ml am Tag der OVH (Tag 33 p.ov.) und zur Resorption je einer Frucht an den Tagen 32 und 33 p.ov.

Hündin **C2** resorbierte sieben ihrer acht Früchte gegen bzw. nach Medikationsende zwischen Tag 30 und 33 p.ov. Die Progesteronkonzentration betrug am Tag 30 p.ov. 3,9 ng/ml und stieg bis zum Tag 35 p.ov. wieder auf 6,6 ng/ml an. Der Tod der letzten Frucht trat nach Wiederholungsbehandlung am Tag 37 p.ov. ein. Am Tag 39 p.ov. betrug die Progesteronkonzentration 4,0 ng/ml.

Hündin **C3** wies anfangs vier Früchte auf, von denen eine einen Tag nach Medikationsende (Tag 31 p.ov.) abstarb. Der am selben Tag einsetzenden Nachbehandlung folgte die Resorption einer zweiten Frucht am Tag 34 p.ov. Unter der Erstmedikation fielen die Progesteronwerte steiler ab (von 35,3 ng/ml am Tag 24 p.ov. auf 3,9 ng/ml am Tag 30 p.ov.) als bei den anderen beiden Hündinnen und sanken unter der Nachbehandlung weiter auf 0,6 ng/ml (Tag 33 p.ov.) ab. Am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 34 p.ov.) wurde ein Progesteronwert von 0,7 ng/ml gemessen. Zu diesem Zeitpunkt konnten im Uterus zwei lebende Früchte nachgewiesen werden.

3.2.2.3. Relaxin

Die Einzelwerte der Relaxinkonzentrationen wiesen, wie schon von EINSPANIER et al. (2002) beschrieben, starke individuelle Schwankungen mit Maximalwerten von 0,35 bis 7,32 ng/ml auf.
Bei keiner der behandelten Hündinnen war anhand der Relaxinkonzentration eine unmittelbare Reaktion auf die Medikation zu erkennen.

Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (K1 und K2)

Die Relaxinverlaufsmuster der Kontrolltiere entsprachen in beiden Trächtigkeiten weitestgehend den von STEINETZ et al. (1987, 1989, 1990, 1996) dargestellten Profilen (Abb. 5 und 6; Tab. 4a und b, Anhang).
Hündin **K1** zeigte im Verlauf der ersten Trächtigkeit einen konstanten Anstieg der Relaxinkonzentration, der zwischen Tag 20 und 24 p.ov. einsetzte. Mit fortschreitender Trächtigkeitsdauer wurden weiter steigende Relaxinkonzentrationen gemessen, die bis Tag 46 p.ov. einen Maximalwert von 1,52 ng/ml erreichten. An den Tagen 53 und 60 p.ov. war ein moderater Abfall der Relaxineinzelwerte auf 0,88 ng/ml zu beobachten. Die Werte der zweiten Trächtigkeit waren bis zur Ovariohysterektomie mit denen der vorangegangenen Gravidität vergleichbar. Der Anstieg der Relaxinkonzentration war bei Hündin **K2** mit dem der Hündin K1 vergleichbar. Das Relaxinmaximum von 1,19 ng/ml war in der ersten Trächtigkeit am Tag 60 p.ov. erreicht. In der zweiten Trächtigkeit war ein initialer Anstieg der Relaxinkonzentration erst am Tag 29 p.ov. zu verzeichnen.

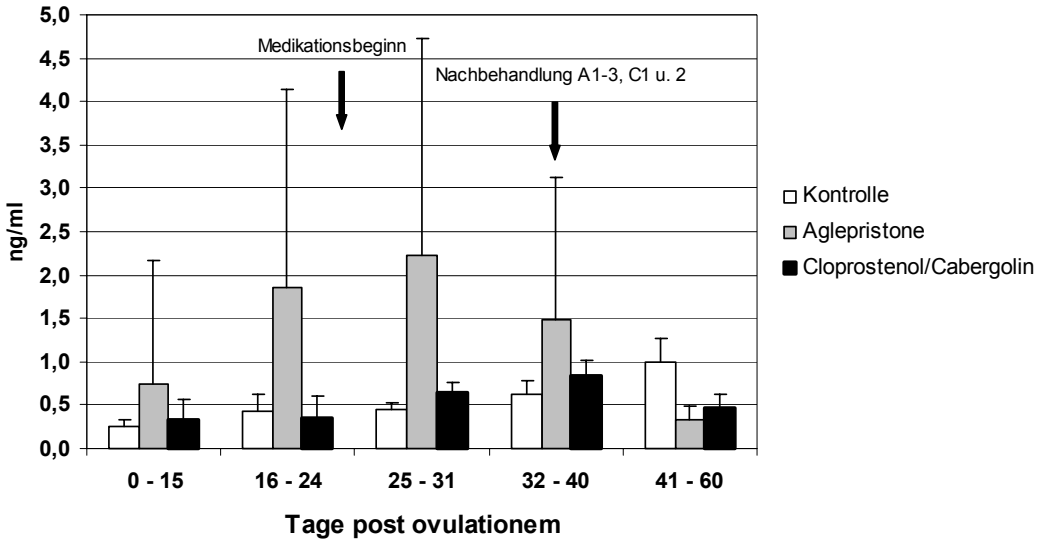


Abb. 5: **Mittlere Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der ersten Trächtigkeit.**

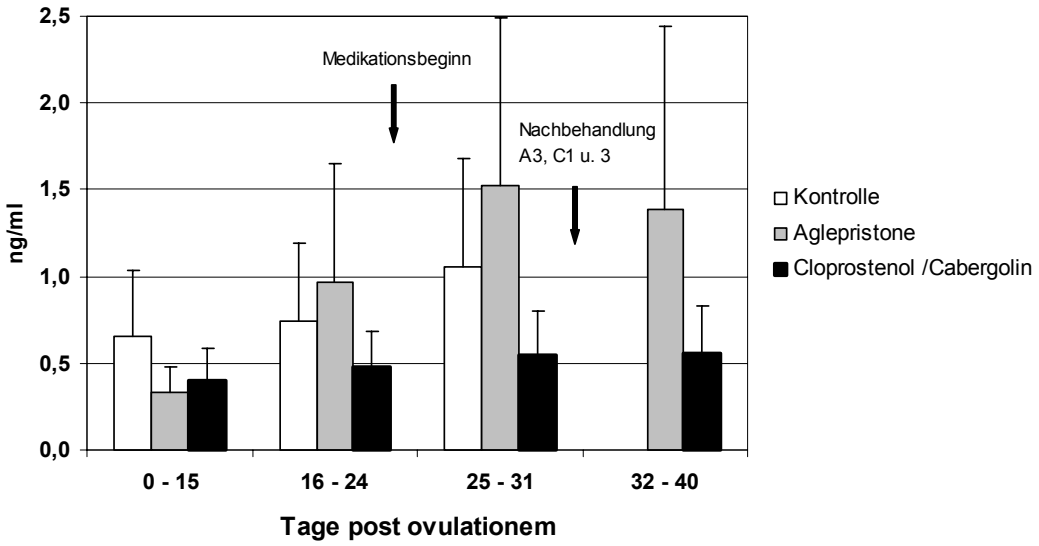


Abb. 6: **Mittlere Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$ ±SD) bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n = 2), den mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n = 3) und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n = 2) während der zweiten Trächtigkeit.**

Mit Aglepristone behandelte Hündinnen (A1 bis A3)

Hündin **A1** wies in beiden Trächtigkeiten im Vergleich zu den anderen Tieren sehr hohe Relaxineinzelwerte auf. In der ersten Trächtigkeit erfolgte ein sprunghafter Anstieg der Relaxinkonzentration bereits zwischen Tag 8 p.ov. (0,95 ng/ml) und 12 p.ov. (5,39 ng/ml) (Abb. 5; Tab. 5a, Anhang). Im Anschluss stiegen die Werte bis Tag 31 p.ov. weiter auf 7,32 ng/ml an und fielen danach deutlich ab, obwohl am Tag 35 p.ov. bei einer Relaxinkonzentration von 4,98 ng/ml noch drei Fruchtkammern sonographisch intakt erschienen. Die letzte Frucht wurde am Tag 39 p.ov. bei einer Relaxinkonzentration von 1,96 ng/ml abortiert. In der Folge sanken die Relaxinwerte auf Basisniveau unter 0,5 ng/ml. In der zweiten Trächtigkeit erfolgte die Resorption aller Früchte an den Tagen 28 und 29 p.ov. Hier war zwischen Tag 16 p.ov. (0,31 ng/ml) und Tag 20 p.ov. (1,30 ng/ml) ein markanter Anstieg der Relaxinkonzentration zu verzeichnen (Abb. 6; Tab. 5b, Anhang). Die hohen Relaxinkonzentrationen blieben über das Absterben der Früchte hinaus bis zur OVH (Tag 32 p.ov.) erhalten.

Bei Hündin **A2** stiegen die Relaxineinzelwerte in der ersten Trächtigkeit moderat von 0,22 ng/ml (Tag 20 p.ov.) auf maximal 0,51 ng/ml am Tag 31 p.ov. an. Die letzte Frucht starb am Tag 39 p.ov. bei einer Relaxinkonzentration von 0,25 ng/ml ab. In der zweiten Trächtigkeit stieg die Relaxinkonzentration ab Tag 27 p.ov. von 0,41 ng/ml an und hatte am Tag 28 p.ov. ihr Maximum von 0,70 ng/ml erreicht. An den Tagen 28 und 30 p.ov. kam es in Koinzidenz mit dem Verlust von je einer Frucht zu einem leichten Abfall der Relaxinkonzentration auf 0,46 ng/ml (Tag 30 p.ov., OVH). Am Tag der Ovariohysterektomie lebten noch sechs Früchte.

Bei Hündin **A3** war der initiale Anstieg der Relaxinkonzentration in der ersten Trächtigkeit wie bei Hündin A2 zwischen Tag 16 p.ov. (0,17 ng/ml) und Tag 20 p.ov. (0,30 ng/ml) zu erkennen. Am Tag 31 p.ov. war das Maximum von 0,75 ng/ml erreicht. Die letzte Frucht wurde an Tag 41 p.ov. abortiert. Ab Tag 39 p.ov. (0,57 ng/ml) sanken die Relaxinkonzentrationen bis Tag 46 p.ov. auf 0,31 ng/ml ab. In der zweiten Trächtigkeit war ein sprunghafter Anstieg der Relaxinkonzentration zwischen Tag 12 (0,62 ng/ml) und 24 p.ov. auf 1,58 ng/ml zu verzeichnen. Fruchttode und -resorptionen fanden bei stark schwankenden Relaxinkonzentrationen statt. Zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie (Tag 33 p.ov.) lagen bei einer Relaxinkonzentration von 0,64 ng/ml noch zwei lebende Früchte vor.

Mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen (C1 bis C3)

Bei Hündin **C1** wurden bereits zum Zeitpunkt der Ovulation relativ hohe Relaxinkonzentrationen beobachtet (1. Trächtigkeit: 0,54 ng/ml, 2. Trächtigkeit: 0,63 ng/ml). Diese Werte stiegen im Verlauf beider Trächtigkeiten nur geringfügig auf ein Maximum von 0,96 ng/ml (Tag 35 p.ov., 1. Trächtigkeit) bzw. 0,95 ng/ml (Tag 33 p.ov., 2. Trächtigkeit) an. In der ersten Trächtigkeit sank die Relaxinkonzentration nach dem Absterben der letzten Frucht am Tag 37 p.ov. von 0,96 ng/ml (Tag 35 p.ov.) bis Tag 60 p.ov. kontinuierlich auf Ausgangswerte (0,45 ng/ml) ab (Abb. 5; Tab. 6a, Anhang). In der zweiten Trächtigkeit blieb die Relaxinkonzentration unter und nach der Medikation und während des Auftretens von Fruchtresorptionen konstant. Am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 33 p.ov.) lagen noch zwei lebende Früchte vor. Die Relaxinkonzentrationen war mit 0,95 ng/ml auf hohem Niveau (Abb. 6; Tab. 6b, Anhang).

Hündin **C2** zeigte ab Tag 24 p.ov. (0,21 ng/ml) einen konstanten Anstieg der Relaxinkonzentration bis auf ein Maximum von 1,05 ng/ml (Tag 39 p.ov.). Die Hündin resorbierte sieben der acht Fruchtanlagen zwischen Tag 30 und 33 p.ov bei steigenden Relaxinwerten. Die letzte Fruchtanlage starb am Tag 37 p.ov. ebenfalls in der Phase hoher Relaxinkonzentrationen ab, welche nach Tag 39 p.ov. (1,05 ng/ml) steil auf 0,74 ng/ml (Tag 46 p.ov.) abfielen.

Hündin **C3** zeigte im Verlauf der Trächtigkeit konstant relativ niedrige Relaxinkonzentrationen von 0,35 ng/ml am Tag 20 p.ov. und durchschnittlich 0,30 ng/ml bis Tag 34 p.ov. (OVH). Von anfangs vier lebenden Früchten starb eine am Tag 31 p.ov. und eine weitere am Tag 34 p.ov. ohne Veränderungen in der Relaxinkonzentration ab. Am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 34 p.ov.) lagen noch zwei lebende Früchte bei einer Relaxinkonzentration von 0,34 ng/ml vor.

3.2.3. Sonographische Befunde

Die Ovarien konnten fast zu jedem Zeitpunkt der Lutealphase dargestellt werden, jedoch bereitete das Auffinden zwischen den Fruchtkammern im fortgeschrittenen Stadium der Trächtigkeit Schwierigkeiten.

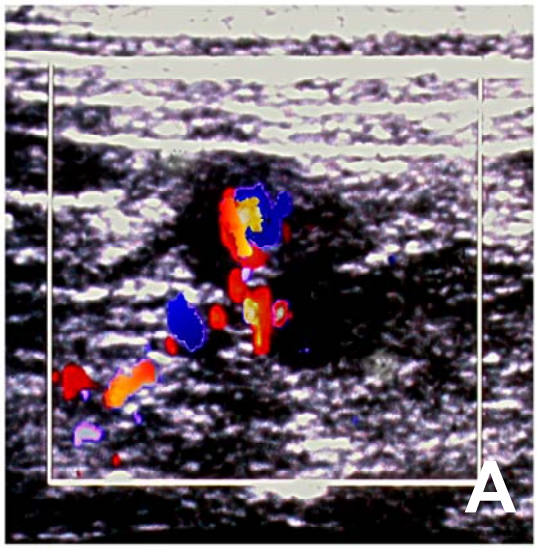
Das sonographische Bild der Eierstöcke aller Tiere entsprach den von HAYER et al. (1993), GÜNZEL-APEL und DIETERICH (2001) und KÖSTER et al. (2001) beschriebenen physio-

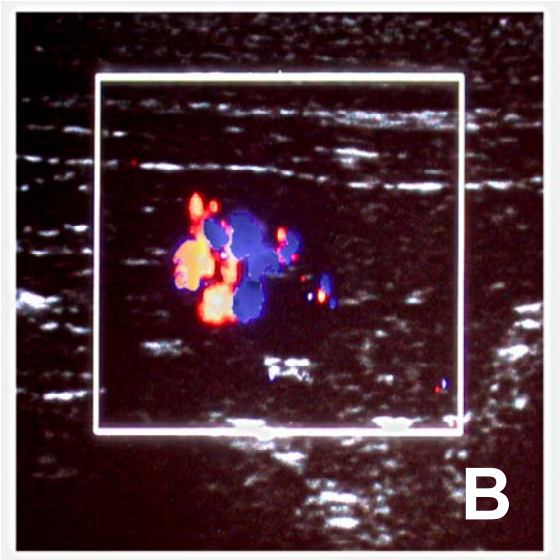
logischen Befunden. Bei Hündin K1 wurde in der Lutealphase der zweiten Trächtigkeit am rechten Ovar eine anechogene runde Struktur mit einem Durchmesser von 2 cm festgestellt.
Die Abgrenzung der Ovarkonturen war bis zum Ende des Untersuchungszeitraums möglich. Bei den ab Tag 5 nach der Ovulation begonnenen Untersuchungen waren Gelbkörper im Stadium der Anbildung zu finden. Die Gelbkörperwand erschien echoreich und verdickt, die Funktionskörper selbst ragten deutlich über die Oberfläche der Ovarien hinaus, welche infolgedessen eine höckerige Form erhielten. Die zentralen, anechogenen Antren verstrichen im Zuge der fortschreitenden Luteinisierung. Im Stadium der Blüte (Phase 2 und 3) stellten sich die Corpora lutea der Kontrollhündinnen als runde, hypoechogene Strukturen dar. Ihre Größe verringerte sich im Zuge der Regression (Phase 4) allmählich bei gradueller Zunahme der Echogenität im letzten Drittel der Lutealphase (Phase 5). Darstellbarkeit, Abgrenzbarkeit und Echogenität der Funktionskörper und des Stromas im Graustufenbild waren bei den Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit und bei den ab Tag 24 p.ov. mit Aglepristone behandelten Tieren während des zweiten Drittels der Lutealphase vergleichbar. Nach Tag 40 p.ov. nahm die Echogenität der Gelbkörper bei den Hündinnen der Aglepristone-Gruppe stärker und schneller zu als bei den Kontrolltieren. Zwei bis vier Tage nach Medikationsbeginn (Tag 24 p.ov.) und im gesamten weiteren Verlauf der Gelbkörperphase war das sonographische Bild der Gelbkörper bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen hinsichtlich Abgrenzbarkeit und Echogenität dem der Gelbkörperregression der Kontrolltiere ähnlich. Die Darstellbarkeit nahm im Zuge der fortschreitenden Luteolyse ab.

3.2.4. Dopplersonographische Befunde

3.2.4.1. Farbkodierte Dopplersonographie der stromalen Ovararterien

Auf Bildtafel 1 werden farbkodierte sonographische Ovarbilder der Kontrolltiere sowie der mit Aglepristone und Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen im Verlauf der Lutealphase beispielhaft dargestellt.





Bildtafel 1:
Farbkodierte Darstellung der stromalen Ovararterien im Vergleich der Medikationsgruppen

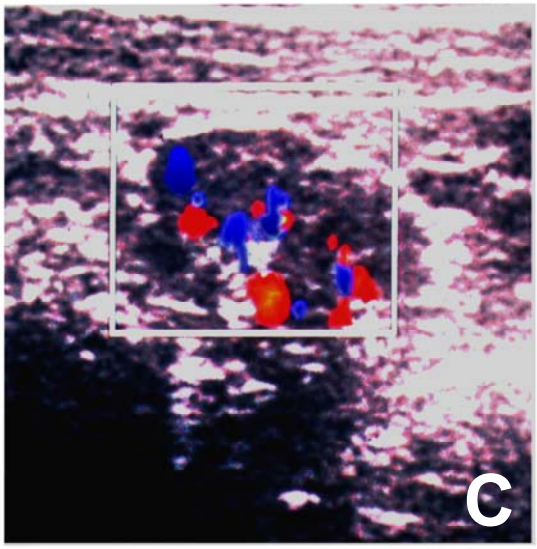
A: Hündin K2 (unbeeinflusste Trächtigkeit)
Tag 28 p.ov. (P_4: 36,2 ng/ml)

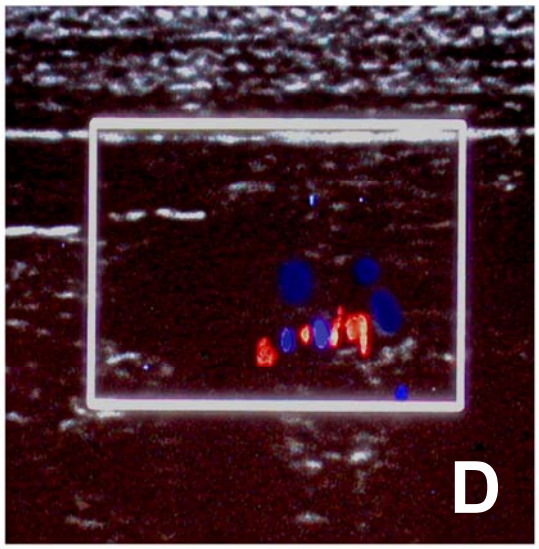
B: Hündin A3 (Aglepristone)
Tag 30 p.ov. (P_4: 40,4 ng/ml)

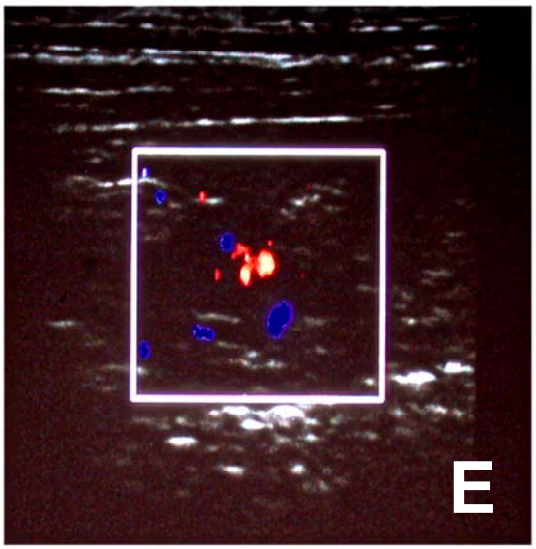
C: Hündin A1 (Aglepristone)
Tag 30 p.ov. (P_4: 16,3 ng/ml)

D: Hündin C1 (Cloprostenol/Cabergolin)
Tag 38 p.ov. (P_4: 3,0 ng/ml)

E: Hündin C2 (Cloprostenol/Cabergolin)
Tag 38 p.ov. (P_4: 4,0 ng/ml)







Befunde aller Hündinnen vom Tag 5 bis Tag 24 p.ov. (Gelbkörperanbildung und –blüte / Vor Medikationsbeginn):

Bei Untersuchungsbeginn am Tag 5 nach Ovulation wiesen die Ovarien maximale Farbigkeit auf. Die darstellbaren Farbpunkte befanden sich sowohl im Stroma als auch in den Wänden der jungen Gelbkörper und erschienen breit und lang gestreckt. Das farbkodierte Bild änderte sich bis Tag 15 p.ov. je nach Hündin nicht wesentlich. Bei Hündin K1 lag in der zweiten Trächtigkeit eine Einhorngravidität vor. Das rechte Uterushorn wies drei Früchte auf, das linke war leer. Entsprechend war im rechten Ovar eine starke Farbigkeit auszumachen, während im linken Ovar die Blutflüsse nur nach mehrmaligem Schwenken des Schallkopfes relativ schwach auszumachen waren, bei jeder Atembewegung verschwanden und neu eingestellt werden mussten. Bei allen anderen Hündinnen, bei denen die Fruchtkammern in unterschiedlicher Zahl auf beide Uterushörner verteilt waren, stimmte die Darstellung der Blutflüsse und intraovarialen Farbigkeit in beiden Eierstöcken überein.

Befunde ab Tag 26 p.ov. (Gelbkörperblüte und –regression / Unter und nach Medikation):

Hündinnen mit unbeeinflusster Trächtigkeit (K1 und K2)

Die ab Tag 10-15 p.ov. einsetzende allmähliche Reduktion der ovarialen Farbigkeit schritt bei beiden Hündinnen im weiteren Verlauf der Gelbkörperphase (Bildtafel 1, A) bis Tag 40 p.ov. langsam voran und beschleunigte sich danach bis zur herannahenden Geburt zusehends. Am Tag 55 und 60 p.ov. waren bei beiden Hündinnen kaum noch ovariale Blutflüsse detektierbar, die Farbpunkte waren nur kurzfristig als filigrane Pixel zu erkennen und hatten ihre lang gestreckte Form zu diesem Zeitpunkt vollends verloren. Bei Hündin K1 waren am Tag 60 p.ov. im linken Ovar nur bedingt schwache Farbpixel auszumachen, das rechte Ovar war aufgrund der Überlagerung mit Fruchtteilen nicht auffindbar.

Mit Aglepristone behandelte Hündinnen (A1-A3)

Die ovariale Farbigkeit der ab Tag 24 p.ov. mit Aglepristone medikierten Hündinnen unterschied sich bis Tag 40 p.ov. grobsinnlich nicht von der der Hündinnen mit unbeeinflusster Trächtigkeit (Bildtafel 1, B und C). Danach hatten die Farbpixel ihre lang gestreckte Form vollständig verloren, waren nunmehr punktförmig und erschienen kleiner und weniger zahlreich als im Vergleich zu den unbehandelten Hündinnen. Die Abnahme der Farbigkeit schien ab diesem Zeitraum schneller voranzuschreiten als bei der Kontrollgruppe. Um Tag 50 p.ov. waren Farbpunkte nur noch erschwert darstellbar, wobei die Blutgefäße der Hündin A2 im Vergleich zu den Hündinnen A1 und A3 ausgeprägter und länger darstellbar blieben.

Mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen (C1-C3)

Bei den Hündinnen C1 und C2 war ab Tag 28 p.ov. eine deutliche Reduktion der Farbigkeit und eine Verkleinerung und Verschmälerung der Farbpunkte zu verzeichnen. Bei der Hündin C1 waren in der ersten Trächtigkeit ab Tag 30 p.ov. kaum noch Farbpixel auszumachen. Ab Tag 38 p.ov. waren keine deutlichen Blutflüsse mehr detektierbar (Bildtafel 1, D). Bei der Hündin C2 konnten ab Tag 32 p.ov. bis zum Ende des Versuchszeitraumes nur sehr undeutliche Blutflüsse im farbkodierten Bild dargestellt werden (Bildtafel 1, E).
Auch die Ovarien der Hündin C3 wiesen ab Tag 28 p.ov. eine reduzierte Farbigkeit auf, jedoch war die Abnahme weniger ausgeprägt als bei den beiden anderen Tieren dieser Gruppe. Die Farbkodierung der Ovararterien nahm bei der Hündin C3 erst am Tag 34 p.ov. deutlich ab.

3.2.4.2. Flussmuster der stromalen Ovararterien

Die Veränderungen der arteriellen Dopplerkurven werden im Verlauf der Lutealphase (funktionelle Abschnitte 1-5) im Gruppenvergleich in den Abbildungen 7 bis 16 und im Anhang in den Tabellen 7 und 8 dargestellt. Die drei Flussgeschwindigkeiten SPV, DPV und EDV wiesen sehr ähnliche Verlaufsmuster während der Gelbkörperphase / Trächtigkeit auf, so dass hier stellvertretend nur die SPV (Abb. 7 und 8) und TAMAX (Abb. 9 und 10) graphisch dargestellt werden. Die Werte von DPV und EDV sind den Tabellen 7 und 8 im Anhang zu entnehmen. Ferner werden der Pulsatilitäts- und Widerstandsindex in einem Säulendiagramm veranschaulicht (Abb. 11 bis 14), während die Werte der S/D- und A/B-Quotienten tabellarisch im Anhang (Tab. 7 und 8) aufgeführt sind.

Befunde aller Hündinnen vom Tag 5 bis Tag 24 p.ov. (Gelbkörperanbildung und –blüte / vor Medikationsbeginn):

Die Flusskurven aller Hündinnen zeichneten sich während der Gelbkörperanbildung und frühen Blüte, wie bei KÖSTER et al. (2001) beschrieben, durch einen steilen systolischen Anstieg, einen wenig markanten frühdiastolischen Einschnitt, ein hohes diastolisches Maximum und einen allmählichen Übergang der Diastole in die vergleichsweise hohe Enddiastole aus.

Die systolische Maximalgeschwindigkeit war während der Gelbkörperanbildung (Phase 1) mit durchschnittlich 25,92 cm/sec am höchsten. Während der frühen Gelbkörperblüte (Phase 2) wiesen alle Hündinnen geringgradig niedrigere Werte auf (Abb. 7, 8, 15; Tab. 7 und 8, Anhang).

Der Pulsatilitäts- und der Widerstandsindex waren während der Gelbkörperanbildung mit im Durchschnitt 0,628 und 0,439 auf niedrigem Level und veränderten sich auch in der frühen Gelbkörperblüte nicht (Abb. 11 bis 14; Tab. 7 und 8, Anhang) Der S/D- und der A/B-Quotient waren im Verlauf der Gelbkörperanbildung ebenfalls niedrig und stiegen in der frühen Gelbkörperblüte nicht oder nur geringgradig an.

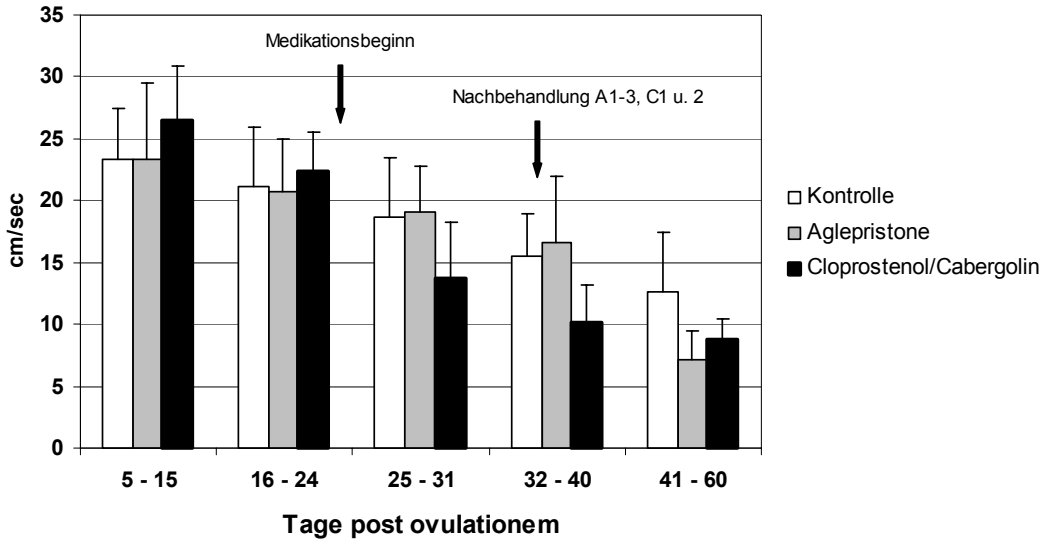


Abb. 7: **Systolische Maximalgeschwindigkeit (SPV $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der ersten Trächtigkeit.**

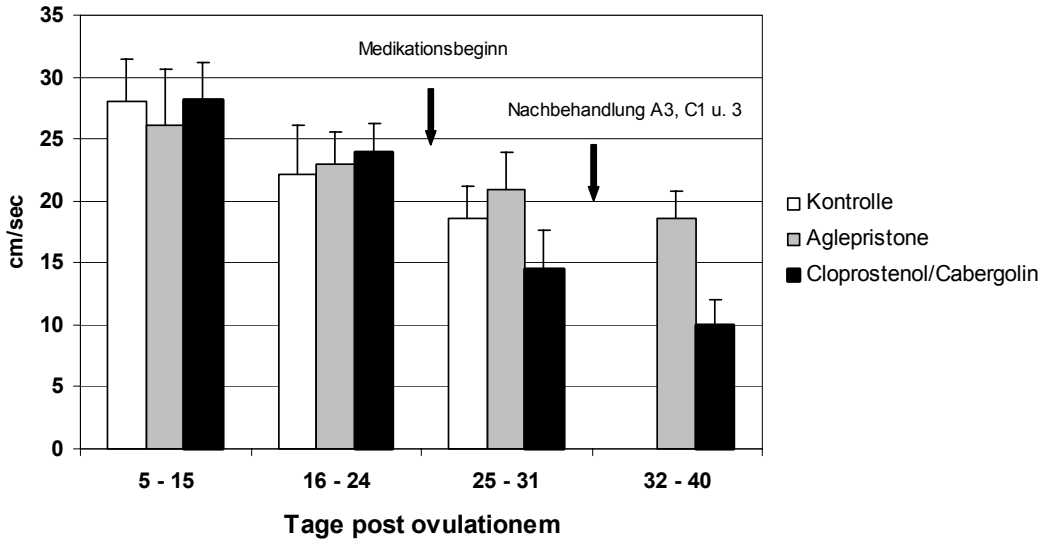


Abb. 8: **Systolische Maximalgeschwindigkeit (SPV $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der zweiten Trächtigkeit.**

Untersuchungen ab Tag 26 p.ov.:

Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (K1 und K2)

Das Geschwindigkeitsprofil der frühen Gelbkörperphase wurde bei den Kontrollhündinnen in der ersten Trächtigkeit bis Tag 40 oder 45 p.ov. beibehalten (Abb. 16). Bis zum Tag 60 p.ov. nahm die Flusskurve dann allmählich die Form der von KÖSTER et al. (2001) für die späte Lutealphase beschriebenen Flussmuster mit steilem systolischem Anstieg und Abfall, flacher Diastole und wenig über der Nulllinie liegender enddiastolischen Geschwindigkeit an. In individuell variabler Ausprägung änderte sich das Profil der Hüllkurve qualitativ durch einen Abfall des diastolischen Peaks und der enddiastolischen Geschwindigkeit.
In der späten Gelbkörperblüte und während der Gelbkörperregression sanken die Blutflussgeschwindigkeiten weiter ab, bis im Zuge der fortgeschrittenen Gelbkörperregression (Phase 5) Geschwindigkeiten entsprechend den von KÖSTER et al. (2001) beschriebenen erreicht waren (Abb. 7 und 9, Tab. 7a und 8a, Anhang).
PI und RI blieben in der Gelbkörperblüte und beginnenden –regression nahezu unverändert oder stiegen geringgradig an, während sie danach, besonders ab Tag 55 p.ov., einen deutlicheren Anstieg erfuhren (Abb. 11 und 13, Tab. 7a und 8a, Anhang). Der S/D- und A/B-Quotient zeigten einen entsprechenden Verlauf. (Tab. 7a und 8a, Anhang)
Bei der Hündin **K1** waren in Geburtsnähe die Ovarien von Fruchtanlagen überlagert, so dass am Tag 60 p.ov. am linken Ovar nur zwei Messungen, am rechten Ovar keine Messung möglich war. Beide Hündinnen warfen in der ersten Trächtigkeit am Tag 63 bzw. 62 p.ov. komplikationslos. In der zweiten Trächtigkeit lag bei Hündin K1 eine rechtsseitige Einhorngravidität vor, das linke Uterushorn war leer. Die Blutflussgeschwindigkeiten fielen korrespondierend zur ersten Trächtigkeit zum Ende der Gelbkörperblüte stetig leicht ab (Abb. 8 und 10). Die Hüllkurvenprofile und Blutflussparameter beider Ovarien waren trotz unterschiedlicher Farbintensität ähnlich. Die Fließgeschwindigkeiten sowie PI und RI wiesen in beiden Eierstöcken zu allen Messzeitpunkten annähernd identische Werte auf.

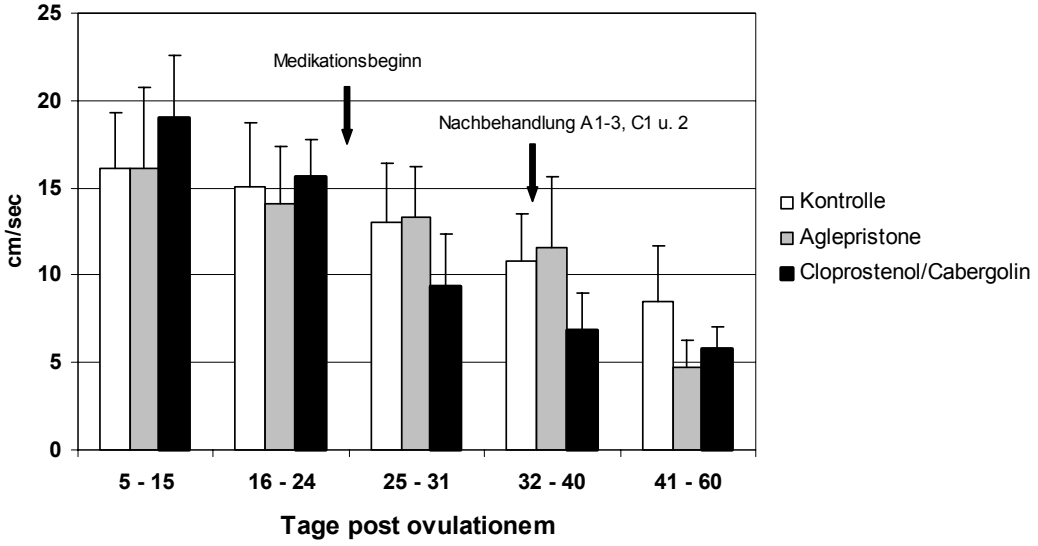


Abb. 9: **Mittlere Maximalgeschwindigkeit (TAMAX $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der ersten Trächtigkeit.**

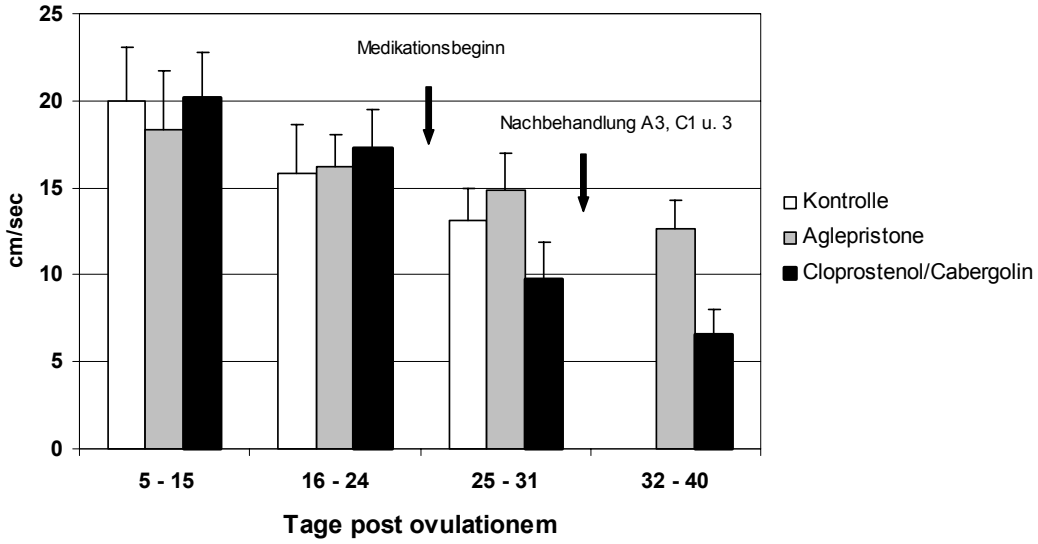


Abb. 10: **Mittlere Maximalgeschwindigkeit (TAMAX $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der zweiten Trächtigkeit.**

Bei Hündin **K2** starb von insgesamt acht Fruchtanlagen an den Tagen 24 und 33 p.ov. der ersten Trächtigkeit je eine Frucht spontan ab und wurde in der Folge resorbiert, ohne die ovarialen Blutflussgeschwindigkeiten zu beeinträchtigen. Die Indizes PI und RI sowie der S/D- und A/B-Quotient verhielten sich ähnlich unauffällig. Auch in der zweiten Trächtigkeit war bei Hündin K2 an den Tagen 21, 24 und 28 p.ov. bei einzelnen Embryonen ein spontaner Fruchttod zu beobachten (zwei von sechs Früchten im linken und eine von fünf Früchten im rechten Uterushorn). Die ovarialen Flussgeschwindigkeiten sowie PI und RI blieben in diesem Zeitraum und darüber hinaus bis zum Tag der Ovariohysterektomie weitestgehend unverändert (Abb. 8, 10, 12, 14; Tab. 8a, Anhang). Im Seitenvergleich der Ovarien konnte kein auffälliger Unterschied hinsichtlich der Geschwindigkeiten oder der Indizes verzeichnet werden.

Mit Aglepristone behandelte Hündinnen (A1-A3)

Das Geschwindigkeitsprofil der stromalen Ovararterien der mit Aglepristone behandelten Hündinnen ähnelte in der ersten Trächtigkeit bis Tag 40/45 p.ov. dem der Kontrollhündinnen (Abb. 15, B und 16, B). Danach änderte sich das Profil der Hüllkurve durch einen Abfall von SPV, DPV und EDV (Abb. 7; Tab. 7b, Anhang). Die mittlere systolische Maximalgeschwindigkeit (SPV) ähnelte während der Gelbkörperblüte (Phase 3) und frühen Gelbkörperregression (Phase 4) der der Kontrollhündinnen, fiel während der fortschreitenden Regression (Phase 5) aber auf Werte ab, die mit denen der Hündinnen der Gruppe C vergleichbar waren.
Die Indizes PI und RI waren während der Gelbkörperblüte und -regression denen der unbehandelten Hündinnen ähnlich, jedoch zeigte sich der relative Anstieg von PI und RI bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen schon um Tag 40 p.ov. und damit ca. fünf bis zehn Tage früher (Abb. 11 und 13; Tab. 7b, Anhang). Der S/D- und A/B-Quotient verhielten sich mit gleich bleibenden Werten während der Gelbkörperblüte und beginnenden –regression und einem Anstieg während der fortgeschrittenen Regression analog zu denen der unbehandelten Hündinnen (Tab 7b, Anhang).
Während des Auftretens der Resorptionen und Aborte schwankten die Blutflussgeschwindigkeiten in der ersten Trächtigkeit bei allen Hündinnen dieser Gruppe, ein Zusammenhang zwischen der Medikamentengabe oder dem Auftreten von Fruchttoden und der ovarialen Blutflussgeschwindigkeit war nicht zu erkennen. Nach dem Abort der jeweils letzten Frucht fielen

die ovarialen Blutflussgeschwindigkeiten bei den Hündinnen A1 und A2 relativ steil, bei Hündin A3 in flacherem Verlauf, ab. Die Indizes PI und RI sowie der S/D- und A/B-Quotient zeigten im Vergleich zu den Kontrolltieren keine Unterschiede.

Bei Hündin **A1** starben in der zweiten Trächtigkeit vier ihrer insgesamt sechs Früchte am Tag 28 p.ov. ab, die verbliebenen zwei am Tag darauf. Auch im Verlauf der zweiten Gravidität war ein stetiger und leichter Abfall in den Blutflussgeschwindigkeiten auszumachen (Abb. 8 und 10; Tab. 8b). Nach dem Absterben der ersten Früchte am Tag 28 p.ov. sanken sie ab, während PI und RI ab Tag 32 p.ov. geringfügig anstiegen. Am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 32 p.ov.) waren alle Fruchtkammern in einem fortgeschrittenen Stadium der Resorption. Die ovarialen Blutflussparameter unterschieden sich im Rechts-Links-Vergleich nicht.

Hündin **A2** resorbierte je eine ihrer acht Früchte an den Tagen 28 und 30 p.ov. der zweiten Trächtigkeit ohne erkennbare Beeinflussung der Blutflussparameter. Beide Resorptionen fanden im rechten Uterushorn statt. Im Seitenvergleich waren die Blutflussgeschwindigkeiten am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 30 p.ov.) im rechten Ovar geringgradig höher.

Bei der Hündin **A3** trat an den Tagen 26 und 27 p.ov. je ein Fruchttod auf. Nach Wiederholungsmedikation am Tag 31 p.ov. wurde am Tag 32 und 33 p.ov. wiederum je ein Fruchttod beobachtet. Die Blutflussgeschwindigkeiten blieben bis Tag 30 p.ov. weitgehend unverändert und fielen am Tag 32 p.ov. leicht ab, während PI und RI ab Tag 30 p.ov. geringgradig anstiegen (Abb. 12 und 14). In situ waren am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 33 p.ov.) im linken Uterushorn drei Resorptionen und eine intakte Fruchtkammer zu erkennen, im rechten Horn lagen eine ältere Resorption und eine intakte Fruchtkammer vor. Die ovarialen Blutflussparameter waren im Seitenvergleich annähernd identisch.

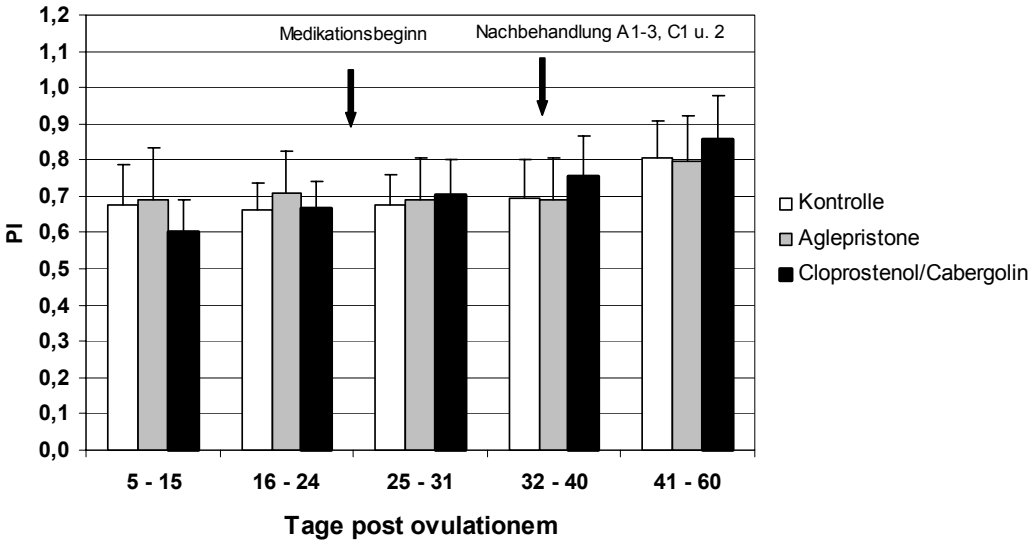


Abb. 11: **Mittlerer Pulsatilitätsindex (PI $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der ersten Trächtigkeit.**

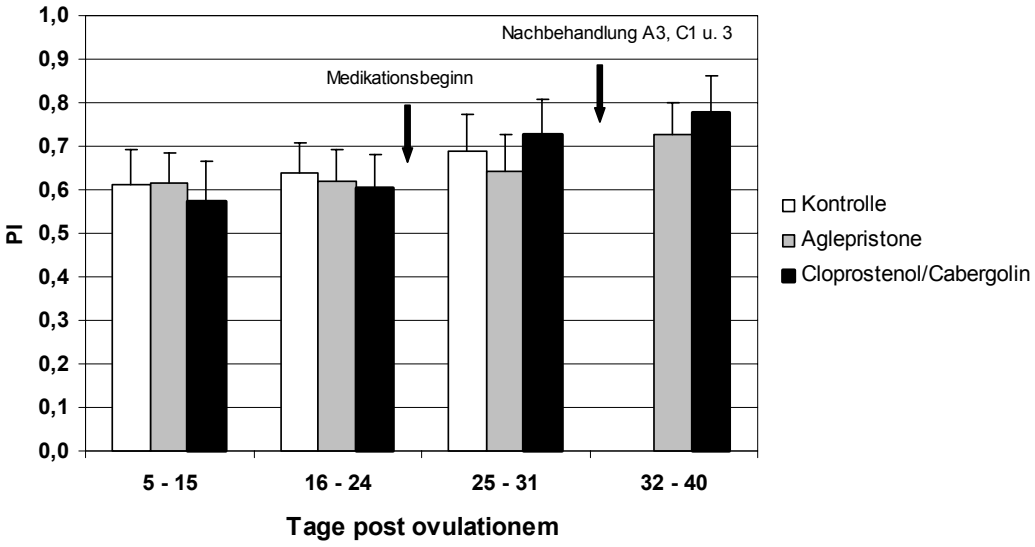


Abb.12: **Mittlerer Pulsatilitätsindex (PI $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der zweiten Trächtigkeit.**

Mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen (C1-C3)

Die Hüllkurvenprofile der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen veränderten sich in der ersten Trächtigkeit ab Tag 28 p.ov. und ähnelten somit um Tag 30 p.ov. denen, die die Kontroll- und Aglepristonegruppen erst während der fortgeschrittenen Gelbkörperregression aufwiesen (Abb. 15 und 16).

Die mittleren ovarialen Blutflussgeschwindigkeiten fielen nach Medikationsbeginn steil, dann im Verlauf der späten Gelbkörperblüte und beginnenden -regression kontinuierlich weiter ab und blieben bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf niedrigem Niveau (Abb. 7 und 9; Tab. 7c, Anhang). PI und RI fielen zwischen Tag 31 und 60 p.ov. höher aus als die der Kontrollgruppe und der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (Abb. 11 und 13). Der S/D- und A/B-Quotient verhielten sich ähnlich wie in der Kontrollgruppe (Tab. 7c, Anhang).

Die Blutflussgeschwindigkeiten der Hündin **C1** sanken in der ersten Trächtigkeit zwei Tage nach Medikationsbeginn markant ab. Am Tag 34 und 36 p.ov. waren am rechten Ovar keine Messungen möglich. Die letzten Flussmuster konnten am Tag 38 p.ov. an beiden Ovarien erstellt werden. Danach waren die ovarialen Gefäße kaum mehr darstellbar. In der zweiten Trächtigkeit fielen die Werte für SPV, TAMAX, DPV und EDV kontinuierlich von Tag 26 bis Tag 28 p.ov. ab und blieben bis zur Ovariohysterektomie am Tag 33 p.ov. auf niedrigem Niveau (Abb. 8 und 10; Tab. 8c, Anhang). Im Seitenvergleich der Ovarien konnte kein Unterschied in den Blutflussgeschwindigkeiten oder in den Indizes PI und RI festgestellt werden.

Die Reduktion der ovarialen Blutflussgeschwindigkeiten fiel bei den anderen Tieren moderater aus. Die Flussgeschwindigkeiten der Hündin **C2** sanken nach Medikationsbeginn langsam aber kontinuierlich bis Tag 32 p.ov. ab und stagnierten bis Tag 36 p.ov. Nach Wiederholungsbehandlung (Tag 36 p.ov.) sanken die Werte weiter ab und verblieben bis Tag 60 p.ov. auf niedrigem Niveau.

Hündin **C3** wies in der Trächtigkeit anfänglich vier Früchte auf, von denen am Tag 31 und 34 p.ov. je eine im linken Uterushorn abstarb. Im rechten Horn verblieben bis zur Ovariohysterektomie zwei intakte Fruchtkammern. Im Seitenvergleich der Ovarien wurden am Tag der OVH im rechten Ovar leicht erhöhte Geschwindigkeiten gemessen, nachdem sie zu Behandlungsbeginn markant abgefallen waren, um bis Tag 32 p.ov. auf einem im Vergleich zu den anderen Hündinnen dieser Gruppe relativ hohen Level zu bleiben. Am Tag 34 p.ov. war auch bei dieser Hündin eine deutliche Verlangsamung festzustellen.

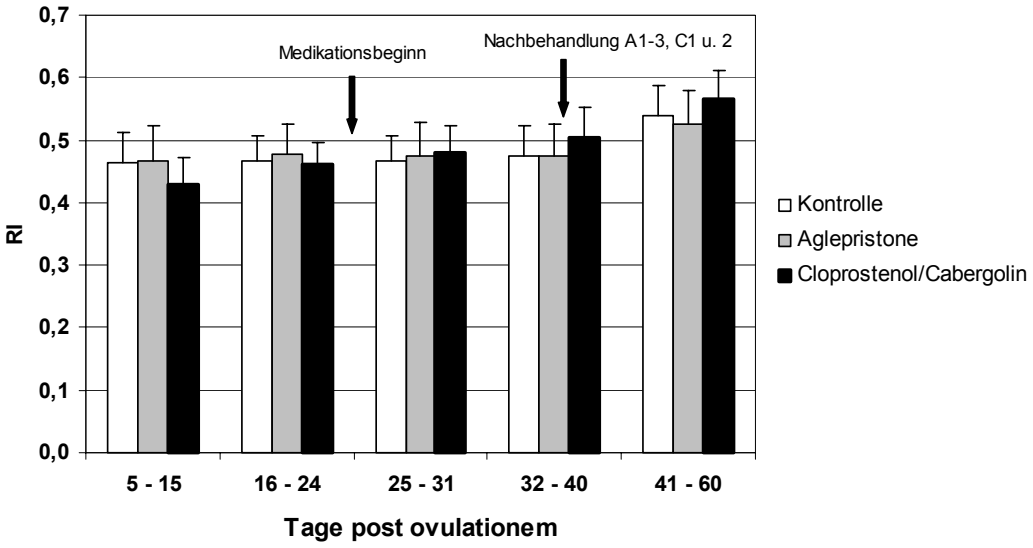


Abb. 13: **Mittlerer Widerstandsindex (RI $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der ersten Trächtigkeit.**

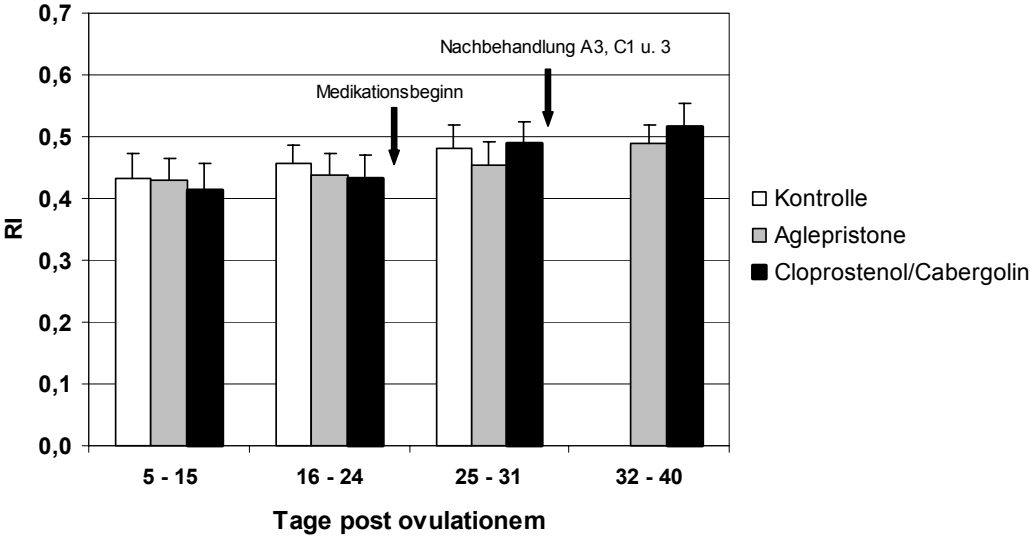


Abb.14: **Mittlerer Widerstandsindex (RI $\bar{x}$ ±SD) in den stromalen Ovararterien der Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit (n=2), der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (n=3) und der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (n=2) in der zweiten Trächtigkeit.**

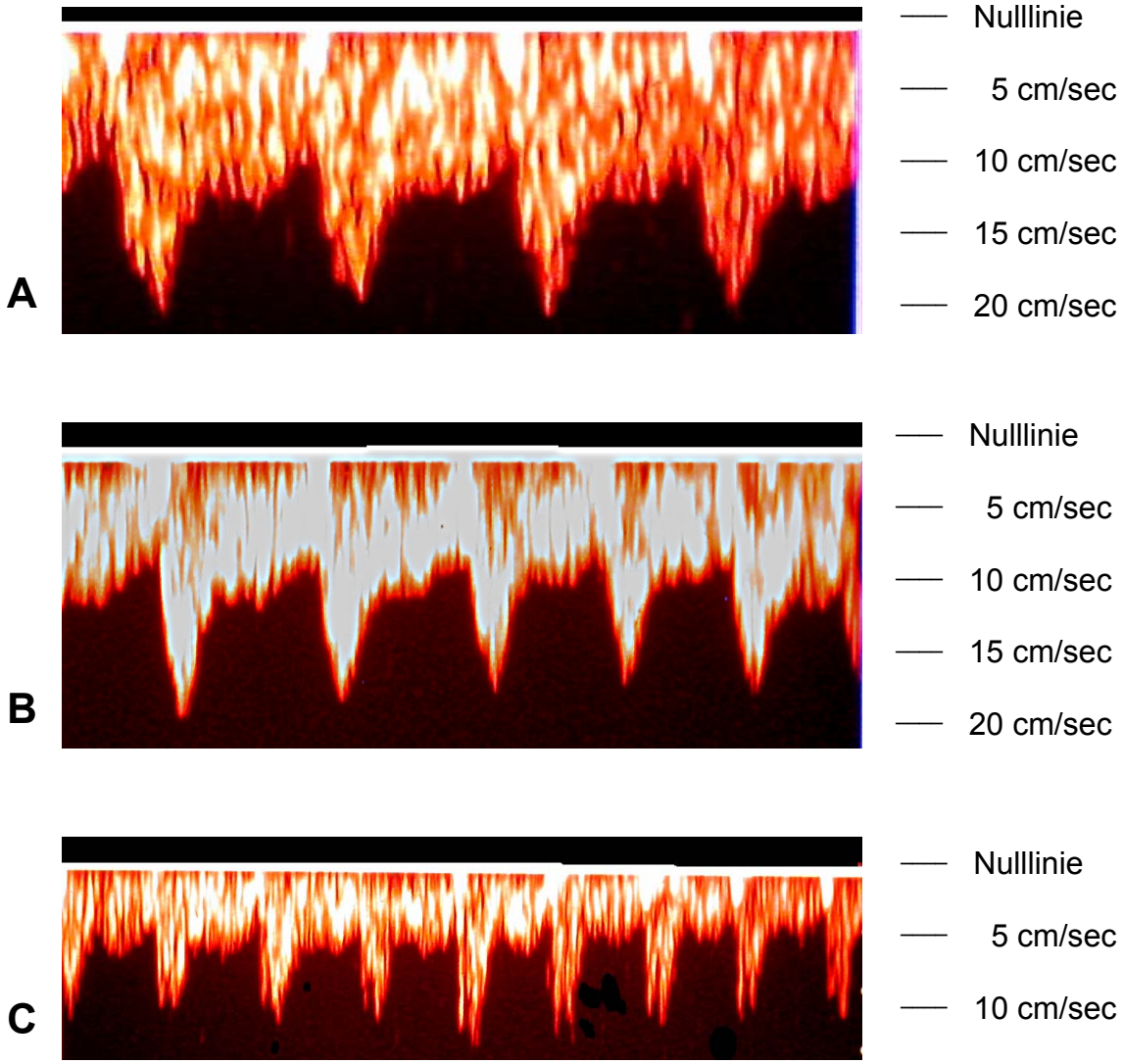


Abb. 15:
Gepulste Dopplersonogramme der Blutflüsse in den stromalen arteriellen Gefäßen im Gruppenvergleich

A: Hündin K1 (Kontrolle) Tag 26 p.ov.

B: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 28 p.ov.

C: Hündin C3 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 28 p.ov.

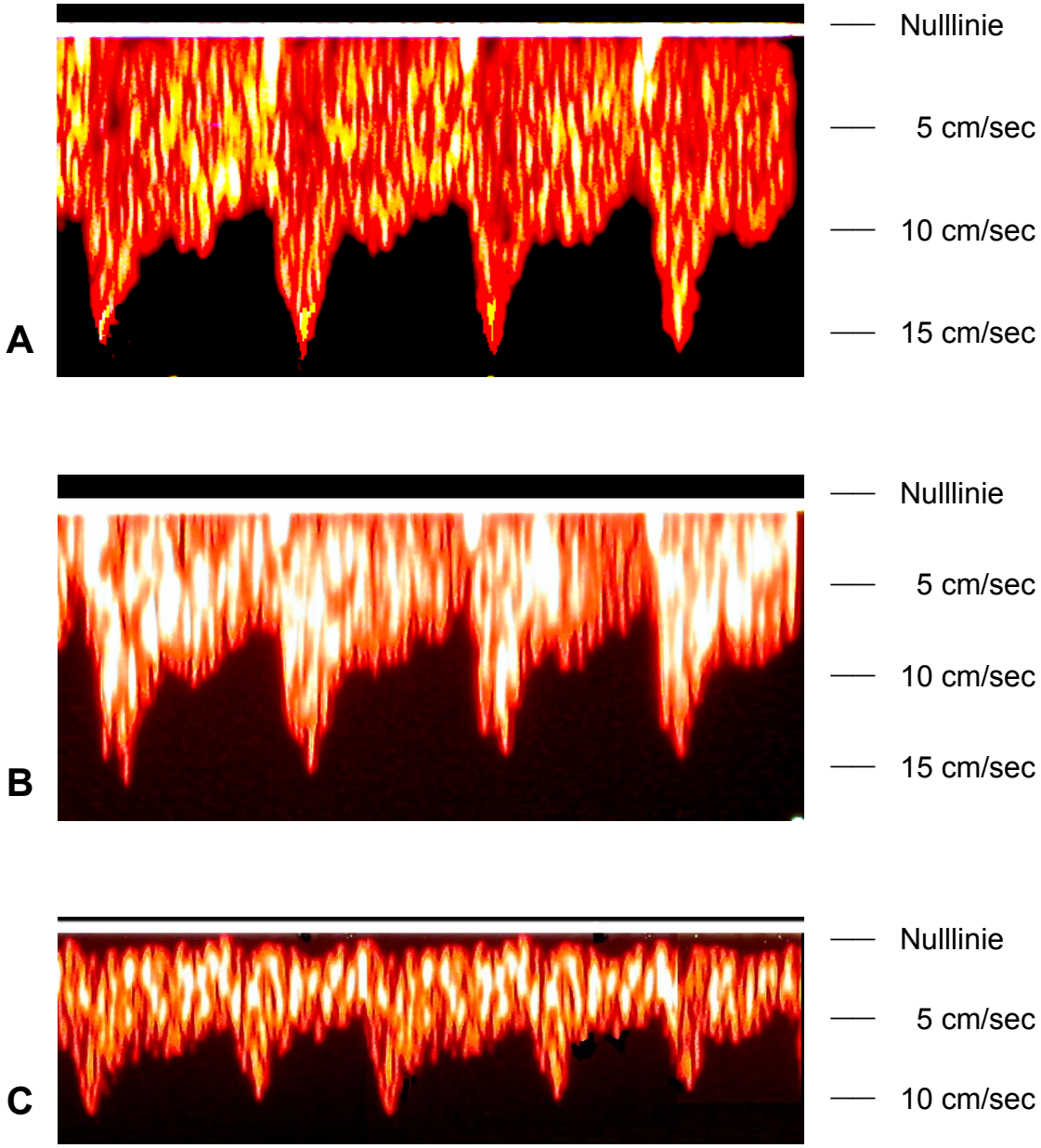


Abb. 16:
Gepulste Dopplersonogramme der Blutflüsse in den stromalen arteriellen Gefäßen im Gruppenvergleich

A: Hündin K1 (Kontrolle) Tag 36 p.ov.

B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 38 p.ov.

C: Hündin C2 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 38 p.ov.

3.2.5. Makroskopische Ovarbefunde

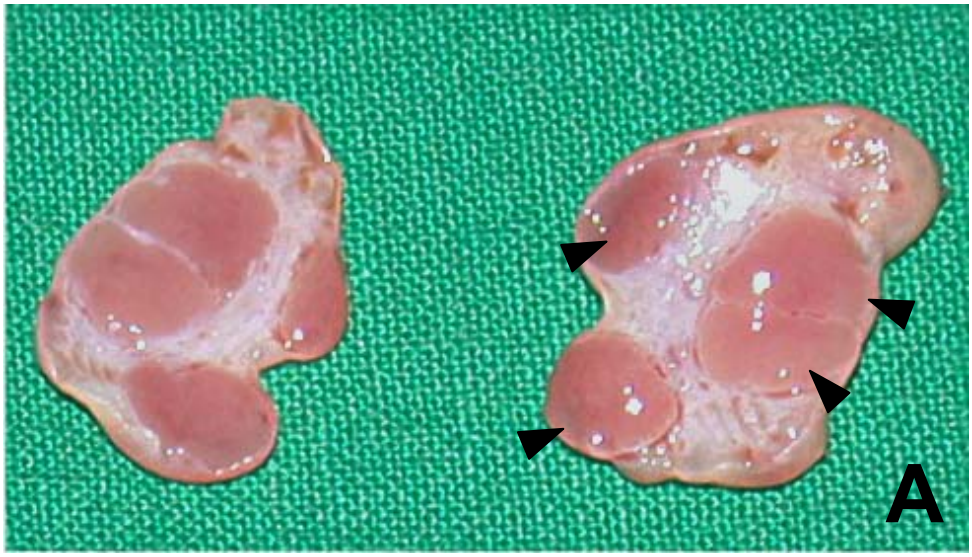
Die Größe der Ovarien und die Anzahl der Gelbkörper pro Ovar sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Die Befunde sind beispielhaft in Bildtafel 2 verdeutlicht. Zur Darstellung möglicher Interaktionen zwischen den medikationsbedingten ovarialen und endometrialen bzw. plazentären Veränderungen werden in der Tabelle 3 zusätzlich die im Rahmen der in der Einleitung erwähnten Parallelstudie (POLITT, E.) erhobenen makroskopischen Befunde am Uterus am Tag der OVH aufgeführt.

.

Tab. 3: Größe der Ovarien und Ausbildung von Gelbkörpern sowie makroskopische Befunde am Uterus[3] am Tag der Ovariohysterektomie

Hund	Tag p.ov.	P_4 (ng/ml)	Seite	größter Längs- und Querdurchmesser des Ovars	C.l.	intakte F	abgestorbene F	Fruchttod[4]
K1	31	46,7	links	1,6 x 1,2	4	0	0	-
			rechts	1,8 x 1,5	3	3	3	-
K2	30	36,3	links	1,9 x 1,2	4	4	2	9; 2 o. 4[5]
			rechts	1,9 x 1,4	6	4	1	2 o. 4[5]
A1	32	15,4	links	1,9 x 1,3	4	0	2	3-4[5]
			rechts	1,8 x 1,2	5	0	4	3-4[5]
A2	30	40,3	links	2,0 x 2,6	3	3	1	9
			rechts	2,3 x 2,1	4	3	2	2; < 1
A3	33	16,2	links	1,8 x 1,7	5	1	3	6; 1; < 1
			rechts	2,0 x 1,4	5	1	1	7
C1	33	1,9	links	1,8 x 1,1	3	1	2	10; < 1
			rechts	1,7 x 1,1	3	1	1	1
C3	34	0,7	links	1,9 x 1,3	4	0	2	3; < 1
			rechts	2,0 x 1,1	4	2	0	-

C.l.: Anzahl der Corpora lutea pro Ovar
F: Anzahl der Fruchtkammern pro Uterushorn
< 1 Fruchttod am Tag der OVH aufgetreten
[3] Angaben bezüglich der Fruchtkammern: pers. Mitteilung von E. POLITT vom 15.05.2004
[4] Fruchttod eingetreten vor … Tagen
[5] Fruchtkammern waren ultrasonographisch nicht eindeutig zuzuordnen

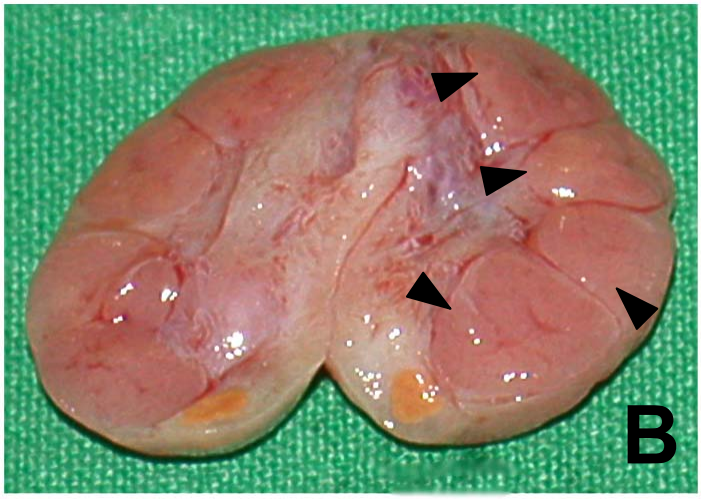


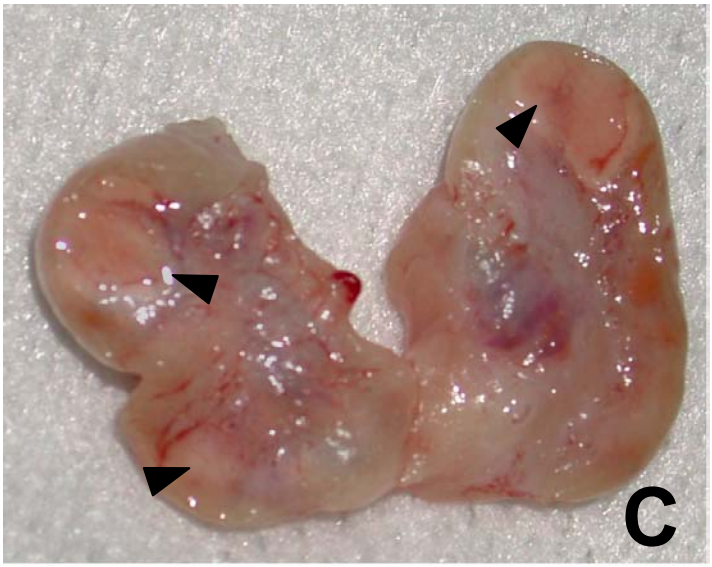
Bildtafel 2:
Makroskopische Ovarbefunde im Vergleich der Medikationsgruppen

A: linkes Ovar der Hündin K1 (Kontrolle) am Tag 31 p.ov. mit deutlich abgrenzbaren C.l.

B: linkes Ovar der Hündin A1 (Aglepristone) am Tag 32 p.ov. mit deutlich abgrenzbaren C.l.

C: rechtes Ovar der Hündin C1 (Cloprostenol/Cabergolin) am Tag 33 p.ov. mit undeutlich abgrenzbaren C.l.





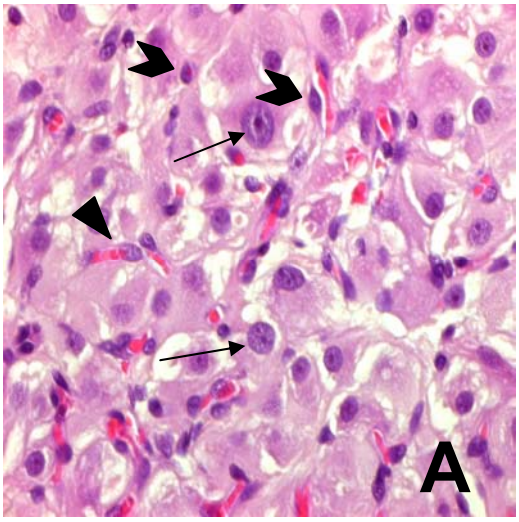
► Gelbkörper

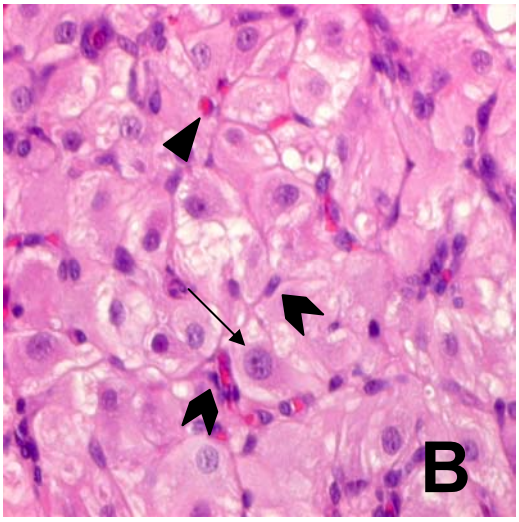
Bei allen Hündinnen wurde die Oberfläche der Ovarien durch zyklische Funktionsgebilde, wie z. B. Vorwölbungen durch Gelbkörper und narbige Einziehungen, wie bei LIEBICH (1999) beschrieben, unregelmäßig gestaltet.
Bei den Hündinnen K1-K2, A1-A3 und C3 ließen sich die Gelbkörper makroskopisch im sagittal geteilten Ovar gut abgrenzen (Bildtafel 2, A und B). Bei Hündin C1 wirkte die Schnittfläche verwaschen, die Grenzen der Corpora lutea waren undeutlich (Bildtafel 2, C).

3.2.6. Histologische Ovarbefunde

Die Befunde der histologischen Untersuchung sind beispielhaft in Bildtafel 3 dargestellt.

Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit / Ovarbefunde der Hündin K1 (Tag 31 p.ov.) und K2 (Tag 30 p.ov.)
Bei Hündin **K1** lag eine Einhorngravidität vor, im linken Uterushorn waren keine Fruchtkammern ausgebildet. Das rechte Horn enthielt drei intakte Früchte. Hündin **K2** hatte in der zweiten Gravidität ursprünglich insgesamt elf Fruchtkammern ausgebildet, von denen zwei im linken Uterushorn und eine im rechten Horn zwischen den Tagen 21 und 28 p.ov. spontan resorbiert wurden.
Die Gelbkörper der Hündinnen zeigten eine gute Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen. Es fanden sich große Luteinzellen von polyedrischer Form, die deutliche Zellgrenzen und einen großen, ovalen, hypochromatischen Zellkern mit prominentem Nucleolus aufwiesen. Die perinukleäre Region des Zytoplasmas war kompakt, mittelgradig eosinophil und fein granuliert. Das nach ANDERSEN und SIMPSON (1973) an die perinukleäre Region angrenzende Exoplasma färbte sich heller an und enthielt eine unterschiedliche Anzahl kleiner Vesikel, die teilweise amorphe Einschlüsse aufwiesen. Die Gelbkörper wurden von einem dichten Kapillargeflecht durchzogen, jede Luteinzelle war von mehreren Kapillaren umgeben (Bildtafel 3, A). Aus den Gefäßen traten Erythrozyten aus.





Bildtafel 3:
Histologische Gelbkörperbefunde im Vergleich der Medikationsgruppen (HE-Färbung, Gerätevergrößerung 125x)

A: Hündin K2 (Kontrolle) Tag 30 p.ov.

B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 30 p.ov.

C: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 33 p.ov.

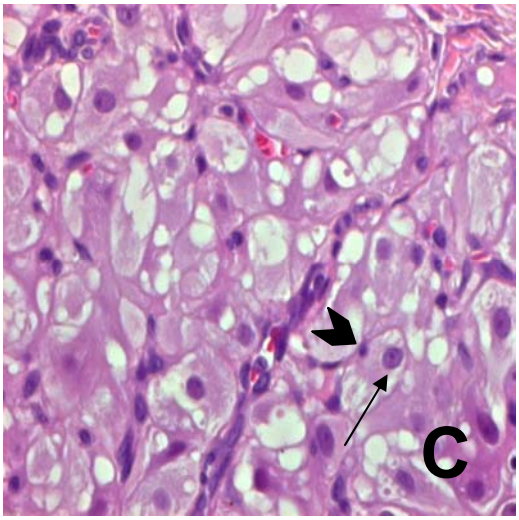
D: Hündin A1 (Aglepristone) Tag 32 p.ov.

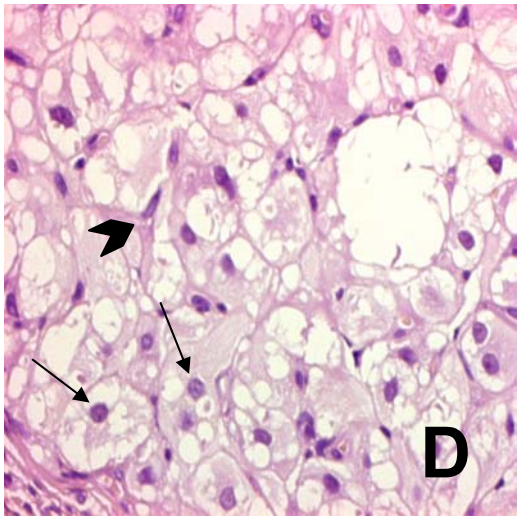
E: Hündin C1 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 33 p.ov.

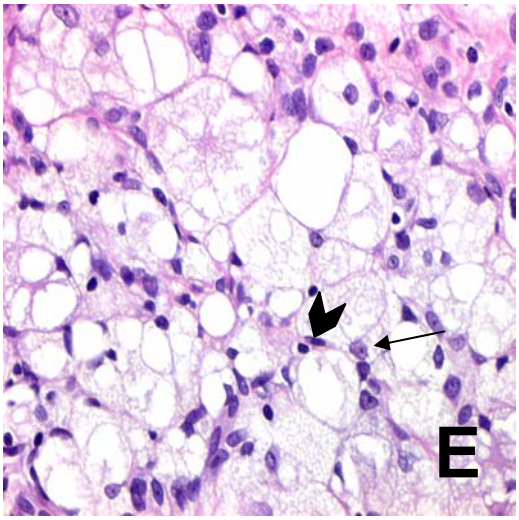
→ Luteinzellkern

➢ Endothelzellkern

► Erythrozyt







Insgesamt stellten sich die Luteinzellen der Gelbkörperzentren größtenteils intakt dar, es herrschte hier ein homogenes Zellbild mit engen, kompakten Strukturen, während in den Randbereichen einiger Gelbkörper einzelne Zellen mit hyperchromatischem, karyolytischem oder pyknotischem Kern zu finden waren. Der Randbereich der Gelbkörper stellte sich in einigen Lokalisationen als schmaler, weniger eosinophiler Saum dar. Bei stärkerer Vergrößerung fanden sich Zellen mit grobgranulärem Zytoplasma sowie mehr und größeren Vakuolen im Exoplasma. In den Bereichen stärkerer Vakuolisierung fanden sich mehr Zellkerne mit Anzeichen von Degeneration als in den kompakteren Bereichen.
Das Rindenstroma bestand aus relativ schmalen Zellen des spinozellulären Bindegewebes, in das die Follikel in ihren verschiedenen Stadien der An- und Rückbildung eingebettet waren. Es fanden sich wenige intakte Follikel sowie Primordial-, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel in unterschiedlichen Stadien der frühen bis mittleren Atresie.
Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Luteinzellen der Hündin K2 größtenteils intakt waren und die Gelbkörper eine gute Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen aufwiesen, was den von ANDERSEN und SIMPSON (1973) in diesem Gestationsstadium beschriebenen Befunden entspricht. Die Gelbkörper des rechten Ovars der Hündin K1 zeigten ein ähnliches Bild. Die Gelbkörperzellen des linken Ovars fielen durch ein inhomogeneres Gesamtbild auf. Sie waren allgemein stärker vakuolisiert und schienen sich im Vergleich zu denen des rechten Ovars in einem fortgeschritteneren Stadium der Regression zu befinden.

Mit Aglepristone behandelte Hündinnen / Ovarbefunde der Hündin A1 (Tag 32 p.ov.), A2 (Tag 30 p.ov.) und A3 (Tag 33 p.ov.)

Im direkten Vergleich zu den Kontrollhündinnen fiel auf, dass sich die Luteinzellen der Hündinnen dieser Medikationsgruppe größtenteils in einem fortgeschritteneren Stadium der Regression befanden. Bei allen drei Tieren fiel auf, dass zytoplasmatisch destrukturierte und vakuolisierte Luteinzellen in vielen Fällen intakt erscheinende Zellkerne besaßen. Sämtliche Gelbkörper der mit Aglepristone behandelten Tiere erschienen im Vergleich zu den Hündinnen K1 und K2 geringer kapillarisiert. Es fanden sich viele größere Gefäße, die von Ansammlungen kleiner Zellen mit dunkel angefärbten Zellkernen umringt waren und in dieser Färbung nicht näher klassifiziert werden konnten. Die Zellkerndichte erschien aufsteigend in der Reihenfolge A2-A3-A1 erhöht.

In der Rinde fanden sich auch bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen wenige intakte Follikel sowie Primordial-, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel in verschiedenen Stadien der frühen bis mittleren Atresie.

Die Hündin **A2** zeigte im Vergleich zu den beiden anderen mit Aglepristone behandelten Tieren die beste Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen und den am geringsten ausgeprägten Grad der Vakuolisierung. Sie hatte zu Beginn der zweiten Trächtigkeit neun Fruchtkammern ausgebildet, von denen sich vier im linken und fünf im rechten Uterushorn befanden. Eine spontane Resorption war am Tag 21 p.ov. im linken Uterushorn aufgetreten, zwei weitere Fruchttode wurden im rechten Uterushorn nach der Medikation an den Tagen 28 und 30 p.ov. ausgelöst. Am Tag der Ovariohysterektomie (d 30 p.ov.) lagen in jedem Uterushorn drei intakte Früchte. Die den Gelbkörper durchziehenden Spalten waren in einigen Fällen mit Detritus gefüllt und erschienen teilweise verschmälert. Die Zellen in den Zentren der Gelbkörper erschienen überwiegend intakt, die Zellkerne waren groß, oval und hypochromatisch, das Zytoplasma homogen und mittelgradig eosinophil. Die perinukleäre Region enthielt feine Granula, das Exoplasma zumeist mehrere kleine Vakuolen mit amorphen Einschlüssen. Die Zellen des Randbereichs zeigten zunehmend vakuolisiertes, gröber granuliertes und inhomogenes Zytoplasma. Die Zellkerne im Randsaum waren hyperchromatisch und teilweise geschrumpft. Kernorganellen waren kaum mehr auszumachen, die Kernmembran erschien unregelmäßig. Die Grenze zwischen Endo- und Exoplasma war verwaschen (Bildtafel 3, B).

Die Zellen der Corpora lutea des linken Ovars erschienen im Seitenvergleich intakter, das Gewebe war homogen, in den Zentren stellenweise kompakt und wenig vakuolisiert wie bei Hündin K2. In einigen Gelbkörpern des linken Ovars fand sich ein schmaler Randsaum mit aufgelockertem und stärker vakuolisiertem Gewebe, in dem auch mehr lytische Zellkerne zu erkennen waren. Die Gelbkörper des rechten Ovars erschienen im Ganzen aufgelockert und stärker vakuolisiert als im linken Ovar. Einige Gelbkörper zeigten einen breiten, stark aufgehellten Randsaum mit Zellen in verschiedenen Stadien der fortgeschrittenen Degeneration mit fädig aufgelöstem Zytoskelett und eingelagerten, teilweise konfluierenden Vakuolen.

Hündin **A3** trug zu Beginn der zweiten Trächtigkeit sechs Früchte, von denen vier im linken und zwei im rechten Uterushorn gelagert waren. Zwei Früchte aus je einem Horn starben an den Tagen 26 und 27 p.ov. ab und wurden resorbiert. An den Tagen 32 und 33 p.ov. starben zwei weitere Früchte im linken Uterushorn ab. Zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie (Tag 33 p.ov.) wies das linke Uterushorn demnach eine intakte und drei abgestorbene bzw. resor-

bierte Früchte auf. Im rechten Horn befand sich eine intakte Frucht und eine ältere Resorption. In beiden Ovarien dieser Hündin war das Zellbild und die Gefäßversorgung divergent. Es fanden sich auf beiden Seiten Lokalisationen mit kompaktem, intakt erscheinendem Gewebe und guter kapillärer Versorgung sowie Zellhaufen in fortgeschrittenen Stadien der Degeneration bei schlechterer Gefäßausprägung. Einige Gelbkörper zeigten ein homogenes, aufgelockertes Gesamtbild, andere enthielten ein intakt erscheinendes Zentrum und einen stark vakuolisierten, degenerierten Randbereich. Im Vergleich zu Hündin A2 erschienen weniger Zellen intakt (Bildtafel 3, C).

Die Gelbkörper der Hündin **A1** zeigte im Vergleich zu den Hündinnen A2 und A3 die stärksten Ausmaße an Degeneration. Hündin A1 hatte in der zweiten Trächtigkeit ursprünglich insgesamt sechs Fruchtkammern ausgebildet, von denen sich zwei im linken und vier im rechten Uterushorn befanden. Alle Früchte waren vier bis fünf Tage nach Medikationsbeginn abgestorben und demnach zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie (d 32 p.ov.) seit drei bis vier Tagen resorbiert. Es fand sich in mehreren Gelbkörpern ein breiter heller Randsaum, dessen Bereich größtenteils von Vakuolen beherrscht wurde. Intakte Zellkerne waren vor allem in den Zentren der Gelbkörper auszumachen, allerdings erschien das Zytoplasma in Zentrum und Peripherie schwach eosinophil, fädig, stärker vakuolisiert und gröber granuliert als bei den Hündinnen mit unbeeinflusster Trächtigkeit. Zahlreiche Kerne im Randbereich waren hyperchromatisch oder in Auflösung begriffen, insgesamt erschienen im Zentrum und in der Peripherie viele Zellen kernlos (Bildtafel 3, D). Das Endoplasma zeigte sich grob granuliert, das Exoplasma mit mittleren bis großen, zusammengeflossenen Vakuolen größtenteils ausgefüllt, wobei die Vakuolen nicht mehr die typischen amorphen Einschlüsse enthielten, sondern häufig leer erschienen. Bei denjenigen Zellen, deren Kerne morphologisch noch intakt erschienen, war die Grenze zwischen Endo- und Exoplasma jedoch kaum bis nicht mehr zu erkennen. Ein großer Teil der Luteinzellen zeigte statt eines kompakten, feingranulären bis filamentösen Zytoplasma ein fädiges, aufgelöstes Zytoskelett. In Bereichen mit degenerativ erscheinenden Luteinzellen fanden sich einzelne intakt erscheinende Zellen. Des Weiteren fanden sich Lücken, vermutlich ehemals Luteinzellen, Proteine und Detritus zugrunde gegangener Luteinzellen. Die Spalten innerhalb der Gelbkörper waren größtenteils verschmälert oder kollabiert und mit Detritus angefüllt. Im Vergleich beider Ovarien dieser Hündin erschienen die Luteinzellen des rechten Ovars in einem fortgeschritteneren Prozess der Lyse.

Mit Cloprostenol / Cabergolin behandelte Hündinnen / Ovarbefunde der Hündin C1 (Tag 33 p.ov.) und C3 (Tag 34 p.ov.)

Die Gelbkörper der Hündinnen dieser Medikationsgruppe waren durchweg in einem degenerativen Zustand. Im Vergleich zu den mit Aglepristone behandelten Hündinnen waren sie mit weniger Gefäßen versorgt, die Luteinzellen waren zu einem Großteil von nurmehr einer oder zwei Kapillaren umgeben. Das Zytoplasma war in den weniger degenerierten Luteinzellen inkompakt und fädig, in Zellen mit weiter fortgeschrittener Degeneration ausschließlich von Vakuolen durchsetzt. Intakte Zellkerne wurden nur vereinzelt gefunden. Bei beiden Hündinnen fanden sich rund um die Gefäße Cluster von in dieser Färbung nicht näher klassifizierbaren Zellen mit dunklem runden bis ovalen Zellkern und wenig Zytoplasma. Die Kerndichte war stark erhöht, die Kern-Zytoplasma-Relation stark erniedrigt.

Bei Hündin **C1** wurden insgesamt fünf Früchte nachgewiesen, von denen sich drei im linken und zwei im rechten Uterushorn befanden. Am Tag 23 p.ov. starb eine Frucht aus dem linken Uterushorn spontan ab. Je eine induzierte Resorption trat an den Tagen 32 und 33 p.ov. in je einem Uterushorn auf. Zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie befanden sich im linken Horn somit eine intakte Fruchtkammer, eine ältere Resorption und eine kurz vorher abgestorbene Frucht. Das rechte Horn wies eine intakte Frucht und eine frische Resorption auf.

Bei dieser Hündin befanden sich die Gelbkörper in einem Zustand der fortgeschrittenen Regression. Nur vereinzelt war eine intakt erscheinende Zelle auszumachen, insgesamt war das Zytoplasma der Luteinzellen stark vakuolisiert und grob granuliert, wobei sich die größten Vakuolen im Randbereich fanden. An annähernd allen Zellkernen waren Anzeichen von Untergang wie Hyperchromasie, Schrumpfung oder Auflösung zu erkennen, mehrere Zelltrümmer waren auszumachen. Endo- und Exoplasma waren verwaschen und nicht zu differenzieren. Strukturen des Zytoskeletts waren nicht mehr identifizierbar und durch Vakuolen ersetzt (Bildtafel 3, E). Das gesamte Corpus luteum war von Zelllücken durchdrungen. Die typischen Spalten waren zum größten Teil kollabiert, eine bindegewebige Induration des Gewebes schien begonnen zu haben. Im Vergleich beider Ovarien zeigten sich die Gelbkörper des rechten Ovars stärker degeneriert als die des linken Ovars.

Hündin **C3** hatte zu Beginn der Trächtigkeit vier Fruchtkammern, die sich gleichmäßig auf beide Uterushörner verteilten. Drei Tage vor Ovariohysterektomie wurde eine Frucht im linken Horn resorbiert, die andere starb am Tag der OVH (Tag 34 p.ov.) ab. Zum Zeitpunkt der

OVH befanden sich somit zwei intakte Früchte im rechten und eine Resorption und eine frisch abgestorbene Frucht im linken Uterushorn.
Die Befunde bei Hündin C3 korrelierten weitestgehend mit denen der Hündin C1, wenngleich das Ausmaß der Vakuolisierung und Degeneration etwas weniger ausgeprägt war. Die Anzahl der kleinen Gefäße erschien verringert. Auch hier fanden sich nur vereinzelt intakte Luteinzellkerne, jedoch war das Zytoplasma der meisten Luteinzellen insgesamt strukturierter und etwas weniger vakuolisiert als bei Hündin C1. In nahezu allen Zellen waren noch fädige Strukturen (vermutlich Überreste des ehemaligen Zytoskeletts) zu erkennen, zwischen denen Vakuolen eingelagert waren. Im Vergleich der Ovarien befanden sich die Luteinzellen des rechten Ovars in mehreren Lokalisationen in einem etwas früheren Stadium der Degeneration und zeigten bezüglich des Zytoplasmas ein homogeneres Gesamtbild als die der linken Seite.
In der Rinde fanden sich auch bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen wenige intakte Follikel sowie Primordial-, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel in verschiedenen Stadien der frühen bis mittleren Atresie.

Im Vergleich der Hündinnen untereinander erschienen die Gelbkörper der Hündin K2 und die Gelbkörper des rechten Ovars der Hündin K1 größtenteils intakt und entsprachen den Angaben der Literatur (ANDERSEN u. SIMPSON 1973) über Gelbkörper in der Mitte der Lutealphase.
Die Gelbkörper des linken Ovars der Hündin K1 sowie die Gelbkörper der Hündin A2 zeigten sich mit allgemein aufgelockertem Zellverband im frühen Stadium der Regression. Der Grad der Vakuolisierung sowie die Anzahl an Kernveränderungen schien stärker ausgeprägt als bei den oben genannten Eierstöcken. Bei diesen drei Hündinnen war eine gute Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen in den Gelbkörperzentren und teilweise auch in der Peripherie zu beobachten. Die Gelbkörper der Hündinnen A1 und A3 zeigten sich in verschiedenen Stadien der fortgeschrittenen Degeneration. Es fanden sich vermehrt Areale mit stark vakuolisiertem Zytoplasma und veränderten Kernen sowie Zelllücken und Detritus. Die Anzahl vor allem der kleinen Gefäße erschien verringert. Die Corpora lutea der Hündin C1 zeigten die stärksten Ausmaße von Degeneration. Das Gesamtbild wurde von vakuolisierten und lytischen Zellen sowie Zelldetritus beherrscht, es fanden sich nur sehr wenige, einzeln liegende, intakte Luteinzellen und Zellkerne. Die Anzahl kleiner Gefäße erschien verringert, die überwiegende Zahl der großen Gefäße war kollabiert und mit Detritus angefüllt.

3.2.7. Befunde der immunhistologischen und biochemischen Untersuchungen

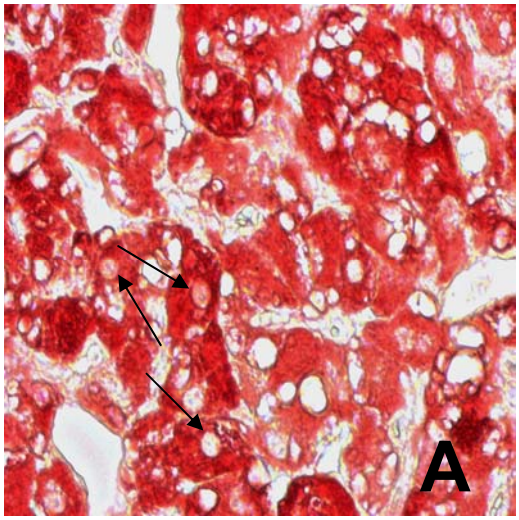
Die Befunde der immunhistologischen und biochemischen Untersuchungen sind beispielhaft in den Bildtafeln 4 bis 7 aufgeführt.

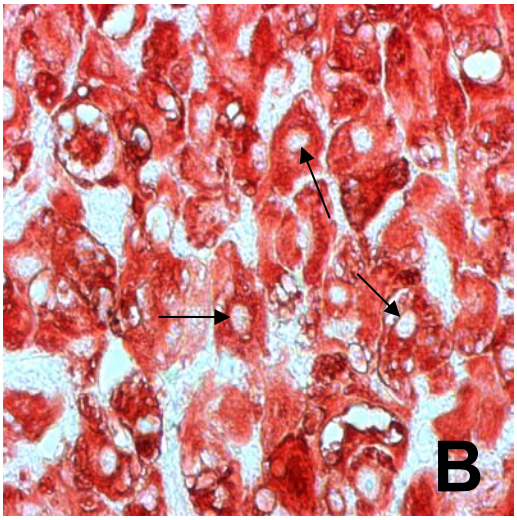
3.2.7.1 3-β-HSD

Das Enzym 3-β-HSD katalysiert die Konversion der Steroide Pregnenolon und Dehydroepiandrosteron zu Progesteron beziehungsweise Androstendion. 3-β-HSD ist für die Produktion aller Steroidhormone essentiell (BAIN et al. 1991). Laut DREIER et al. (1975) ist 3-β-HSD zur Altersbestimmung des Gelbkörpers bei der Hündin geeignet.

Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit / Gelbkörperbefunde der Hündin K1 (Tag 31 p.ov.) und K2 (Tag 30 p.ov.)

Die Gelbkörper der Hündinnen **K1** und **K2** zeigten durchgehend eine deutliche und starke zytoplasmatische Immunreaktion für 3-β-HSD sowie ein homogenes Gesamtbild (Bildtafel 4, A). Nur in den Gelbkörpern des linken Ovars der Hündin K1 war das Signal im Allgemeinen schwächer ausgeprägt. Weniger Zellen zeigten eine deutlich positive Reaktion für 3-β-HSD, und es fanden sich mehrere nur schwach positive Zellen. Einige Gelbkörper zeigten ein einheitlich starkes Signal, während andere eine durchgehend schwächere Expression aufwiesen.
Die Befunde bezüglich der 3-β-HSD-Reaktion korrelierten mit den Ergebnissen aus der H.-E.-Färbung. Die lichtmikroskopisch intakt erscheinenden Luteinzellen der Hündin K2 und die des rechten Ovars der Hündin K1 zeigten eine kräftig positive Immunreaktion für 3-β-HSD. Die Intensität der Immunreaktion schien mit dem Grad der Vakuolisierung negativ korreliert zu sein.





Bildtafel 4 :
Immunhistologischer Nachweis von 3-β-HSD in den Gelbkörpern im Vergleich der Medikationsgruppen (Gerätevergrößerung 125x)

A: Hündin K2 (Kontrolle) Tag 30 p.ov.

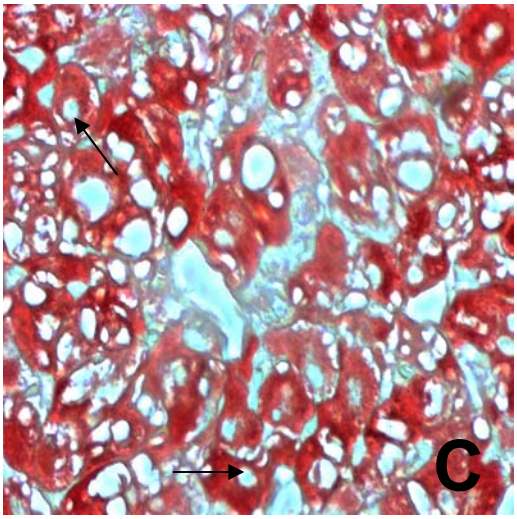
B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 30 p.ov.

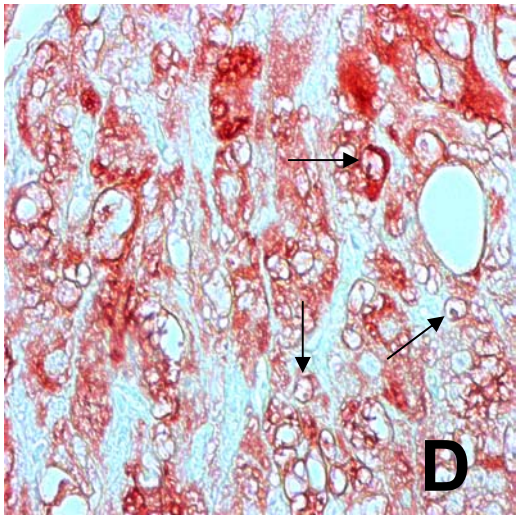
C: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 33 p.ov.

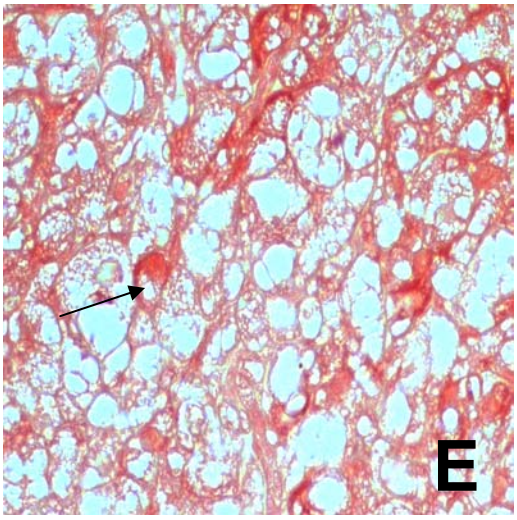
D: Hündin A1 (Aglepristone) Tag 32 p.ov.

E: Hündin C3 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 34 p.ov.

→ Luteinzellkern







Mit Aglepristone behandelte Hündinnen / Gelbkörperbefunde der Hündin A1 (Tag 32 p.ov.), A2 (Tag 30 p.ov.) und A3 (Tag 33 p.ov.)

Bei allen Tieren dieser Medikationsgruppe waren im Vergleich zu den Hündinnen K1 und K2 weniger Zellen 3-β-HSD-positiv, wobei Hündin A2 im Gegensatz zu A1 und A3 mehr und deutlichere Signale zeigte.

Bei der Hündin **A2** war das Gesamtbild in den Gelbkörpern des linken Ovars insgesamt unruhig und im Vergleich zu den Hündinnen K1 und K2 durch leicht vermehrte Auflockerung und Vakuolenbildung weniger homogen, jedoch zeigten die Zellen größtenteils noch ein deutliches Signal für 3-β-HSD. In den Zellen der Gelbkörper des rechten Ovars fand sich trotz beginnender Vakuolenbildung und des Vorhandenseins einiger geschädigter Kerne in den meisten Zellen eine gute Expression von 3-β-HSD. In beiden Ovarien waren Areale mit schwächerer Immunreaktion auszumachen (Bildtafel 4, B).

Bei Hündin **A3** war das Bild divergent und inhomogen. Die Anzahl der Zellen mit positiver Immunreaktion lag zwischen der der Hündinnen A1 und A2. In den meisten Luteinzellen beider Ovarien wurde 3-β-HSD nachgewiesen, jedoch war das Signal in vielen Zellen nur schwach ausgeprägt. Eine deutliche Expression fand sich vornehmlich in Zellen mit weniger ausgeprägter Vakuolisierung (Bildtafel 4, C).

Bei Hündin **A1** waren nur wenige Bereiche positiv. Die Mehrzahl der Zellen zeigte keine Expression von 3-β-HSD. Die Gelbkörper des linken Ovars zeigten im Vergleich zu den Kontrollhündinnen insgesamt eine weniger kräftige Immunreaktion für 3-β-HSD, im Ganzen trat das Signal in weniger Zellen auf. In den Gelbkörpern des rechten Ovars waren nur vereinzelt positive Zellen aufzufinden, hier war das Signal im Allgemeinen schwächer ausgeprägt (Bildtafel 4, D).

Mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen / Gelbkörperbefunde der Hündin C1 (Tag 33 p.ov.) und C3 (Tag 34 p.ov.)

Die Luteinzellen der Hündin **C1** waren in beiden Eierstöcken von Vakuolen durchsetzt und wiesen keine oder nur eine sehr schwache Immunreaktion für 3-β-HSD auf. Nur vereinzelt waren verstreute, isolierte, für 3-β-HSD schwach oder deutlich positive Zellen zu erkennen.

Bei Hündin **C3** waren die Luteinzellen sämtlicher Gelbkörper ebenfalls stark mit Vakuolen durchsetzt. Eine Vielzahl an Zellen exprimierte kein positives Signal für 3-β-HSD, jedoch zeigten allgemein mehr Luteinzellen eine positive Immunreaktion als bei Hündin C1. Im Seitenvergleich wiesen die Gelbkörper der rechten Seite in mehreren Lokalisationen mehr positive Reaktionen auf als die der linken Seite (Bildtafel 4, E).

3.2.7.2 Relaxin

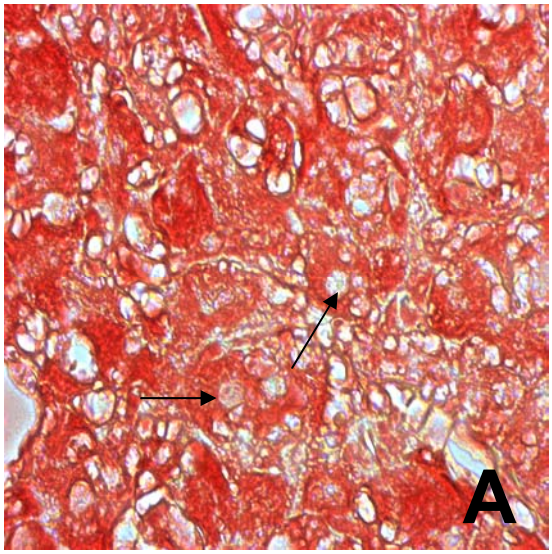
Relaxin wird bei der Hündin hauptsächlich in der Plazenta und in geringem Maße auch in den Corpora lutea der Ovarien produziert (STEINETZ et al. 1989; STEWART 1992; KLONISCH et al. 1999).

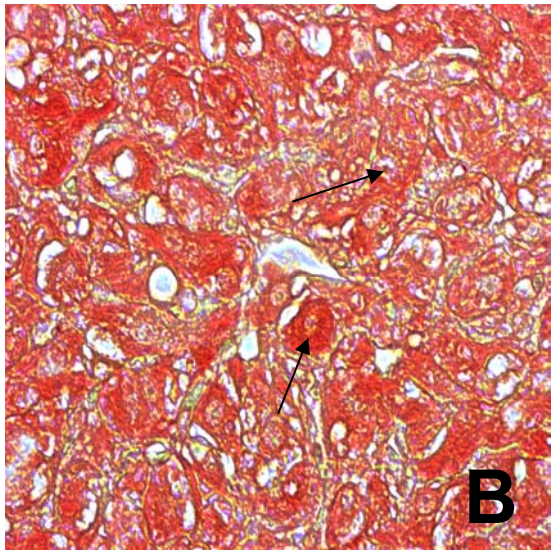
Hündinnen mit medikamentös unbeeinflusster Trächtigkeit / Gelbkörperbefunde der Hündin K1 (Tag 31 p.ov.) und K2 (Tag 30 p.ov.)

Bei den Kontrolltieren K1 und K2 exprimierten die in der H.-E.-Übersichtsfärbung intakt erscheinenden Luteinzellen ein deutliches Signal für Relaxin, während der Anteil negativ reagierender Zellen gering war und eine negative Immunreaktion ausschließlich in stärker vakuolisierten Luteinzellen auftrat.

Die Gelbkörper des rechten Ovars der Hündin **K1** zeigten durchgehend eine deutliche zytoplasmatische Immunreaktion für Relaxin sowie ein homogenes Gesamtbild. In den Gelbkörpern des linken Ovars dominierten schwach Relaxin-positive Zellen. Vereinzelt waren Zellen mit deutlichem Signal und Zellen ohne Signal auszumachen. Allgemein zeigten Zellen mit stärkerer Vakuolisierung eine schwächere Reaktion.

In annähernd allen Zellen der Gelbkörper der Hündin **K2** war ein deutlich positives Signal für Relaxin im Zytoplasma auszumachen (Bildtafel 5, A). In einigen Lokalisationen, vor allem in den Gelbkörpern des linken Ovars, fanden sich stärker vakuolisierte Zellen, deren Zytoplasma eine weniger intensive bis fehlende Expression aufwies.





Bildtafel 5 :

Immunhistologischer Nachweis von Relaxin in den Gelbkörpern im Vergleich der Medikationsgruppen (Gerätevergrößerung 125x)

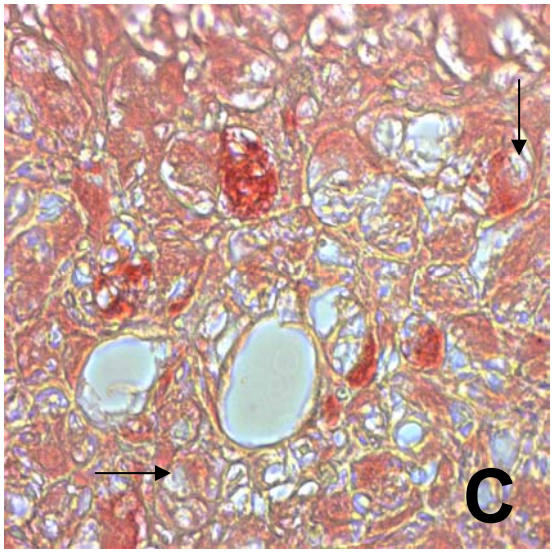
A: Hündin K2 (Kontrolle) Tag 30 p.ov.

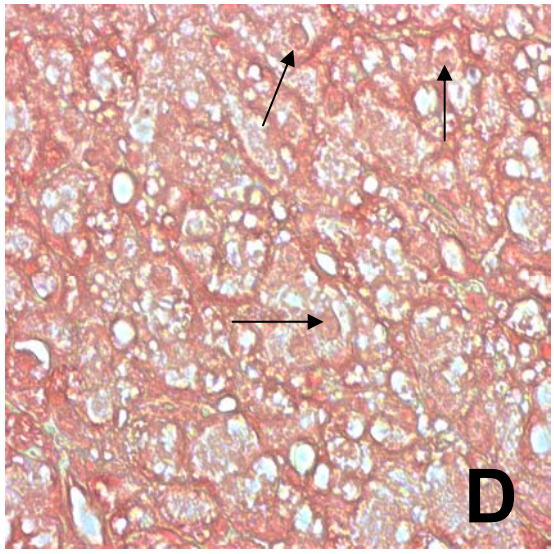
B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 30 p.ov.

C: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 33 p.ov.

D: Hündin C1 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 33 p.ov.

→ Luteinzellkern





Mit Aglepristone behandelte Hündinnen / Gelbkörperbefunde der Hündin A1 (Tag 32 p.ov.), A2 (Tag 30 p.ov.) und A3 (Tag 33 p.ov.)

Im Vergleich zu den Kontrollhündinnen wiesen die Gelbkörper der Hündinnen dieser Medikationsgruppe eine deutlich erniedrigte Anzahl Relaxin-positiver Luteinzellen auf. Aufgelockerte und vakuolisierte Bereiche zeigten eine negative Immunreaktion. Im Vergleich der Hündinnen untereinander zeigte Hündin **A2** die meisten Relaxin-positiven Luteinzellen (Bildtafel 5, B). Die Mehrzahl der Zellen zeigte noch ein deutliches, wenn im Vergleich zu den Kontrollhündinnen jedoch schwächeres Signal für Relaxin. In den Zellen der Gelbkörper des rechten Ovars erschien das Gesamtbild homogener. Trotz beginnender Vakuolenbildung und des Vorhandenseins einiger geschädigter Zellen fand sich in den meisten Zellen eine deutliche Immunreaktion.

Hündin **A3** zeigte ein inhomogenes Bild. Die meisten Luteinzellen beider Ovarien waren Relaxin-positiv, jedoch war das Signal in vielen Zellen nur schwach ausgeprägt. Vornehmlich in Zellen mit weniger ausgeprägter Vakuolisierung fand sich eine deutliche Expression. Insgesamt lagen überwiegend Areale mit nur schwacher Immunreaktion vor, wohingegen in einigen Bereichen ein deutliches Signal vorhanden war (Bildtafel 5, C). Im Allgemeinen wiesen die Luteinzellen des rechten Ovars eine stärkere Immunreaktion für Relaxin auf.

Hündin **A1** wies großflächige Bereiche Relaxin-negativer Luteinzellen auf. In wenigen intakt erscheinenden Arealen konnte ein deutliches Signal für Relaxin nachgewiesen werden.

Mit Cloprostenol / Cabergolin behandelte Hündinnen / Gelbkörperbefunde der Hündin C1 (Tag 33 p.ov.) und C3 (Tag 34 p.ov.)

Die Luteinzellen der Hündin **C1** waren in beiden Eierstöcken in erheblichem Maße von Vakuolen durchsetzt und wiesen im Allgemeinen keine Immunreaktion für Relaxin auf. Nur vereinzelt waren verstreute schwach positive Zellen zu erkennen (Bildtafel 5, D).

Bei Hündin **C3** waren die Luteinzellen sämtlicher Gelbkörper wie bei Hündin C1 stark mit Vakuolen durchsetzt. Eine Vielzahl an Zellen zeigte keine positive Immunreaktion für Relaxin, jedoch exprimierten allgemein mehr Luteinzellen ein positives Signal als bei Hündin C1. Im Seitenvergleich waren in den Gelbkörpern des rechten Ovars in mehreren Lokalisationen mehr Relaxin-positive Luteinzellen zu erkennen.

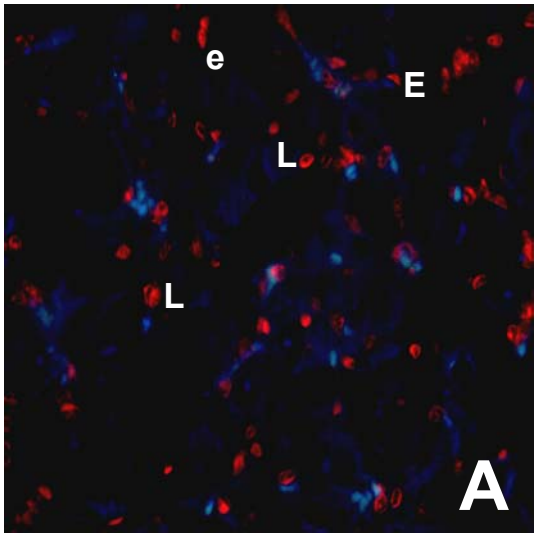
3.2.7.3. Progesteronrezeptor

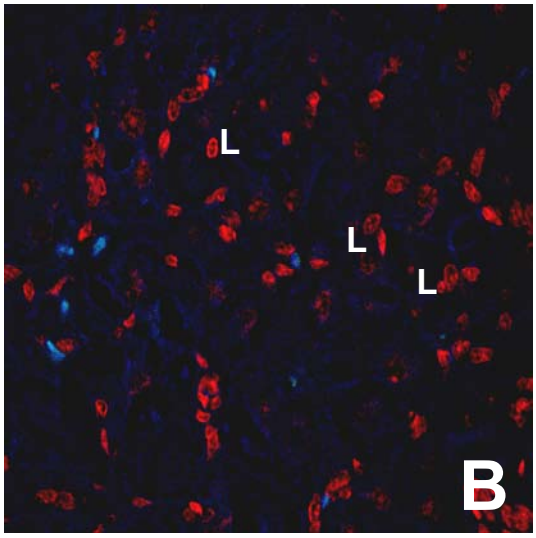
Der verwendete Progesteronrezeptor-Antikörper zeigte nur eine zytoplasmatische Immunreaktion. Die Zellkerne aller Ovarstrukturen waren PR-negativ. Daher konnte dieser immunhistologische Parameter nicht ausgewertet werden.

3.2.7.4. Apoptose / Nekrose

Annexin-V-Fluorescein-Methode®

Der Annexin-V-Fluos Staining Kit® dient der Sichtbarmachung und Unterscheidung apoptotischer und nekrotischer Zellen.
Bei beiden Kontrollhündinnen (**K1 und K2**) waren wenige einzelne Luteinzellen Nekrose-positiv. Vereinzelt zeigten Endothelzellkerne eine kräftige Fluoreszenz und waren sowohl bezüglich Nekrose, als auch in geringerem Maße bezüglich Apoptose, positiv (Bildtafel 6, A).
Die Luteinzellen der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (**A1-A3**) zeigten im Allgemeinen mehr Nekrose-positive Reaktionen als die der Kontrolltiere. Hier waren vor allem mehrere Endothelzellkerne pro Sichtfeld Nekrose- und, in geringerem Maße, Apoptose-positiv, wobei die Anzahl Nekrose-positiver Kerne im Vergleich zu den Kontrollhündinnen erhöht erschien und in der Reihenfolge A2-A3-A1 zunahm. Die Anzahl Apoptose-positiver Endothelzellkerne verhielt sich ähnlich wie bei den Kontrolltieren (Bildtafel 6, B, C, D).
Bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Tieren (**C1 und C3**) wies ein Großteil der in der H.-E.-Färbung deutlich pyknotischen Lutealzellkerne eine positive Reaktion für Nekrose auf. Die Kerne vieler Endothelzellen waren hier Nekrose-positiv, die Anzahl war gegenüber den mit Aglepristone behandelten Hündinnen wiederum weitaus erhöht. Eine positive Reaktion für Apoptose wurde nur an vereinzelten Endothelzellen beobachtet (Bildtafel 6, E).
Bei keiner Hündin konnte in den Luteinzellen eine deutlich positive Reaktion für Apoptose nachgewiesen werden.





Bildtafel 6:
Biochemischer Nachweis von Nekrose und Apoptose in den Gelbkörpern im Vergleich der Medikationsgruppen (Annexin-V-Methode, Fluoreszenzmikroskop, Gerätevergrößerung 125x)

A: Hündin K2 (Kontrolle) Tag 30 p.ov.

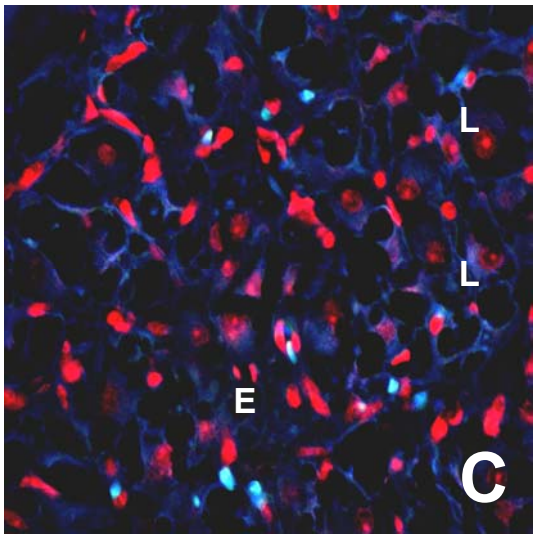
B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 30 p.ov.

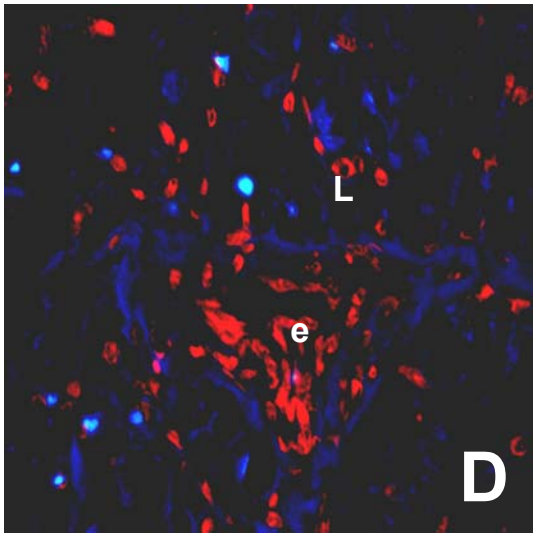
C: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 33 p.ov.

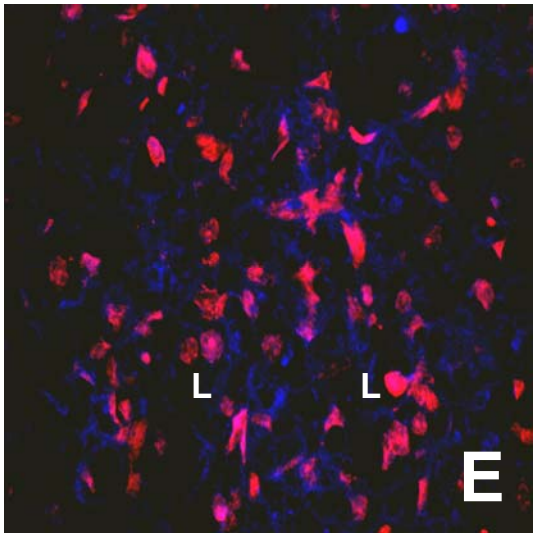
D: Hündin A1 (Aglepristone) Tag 32 p.ov.

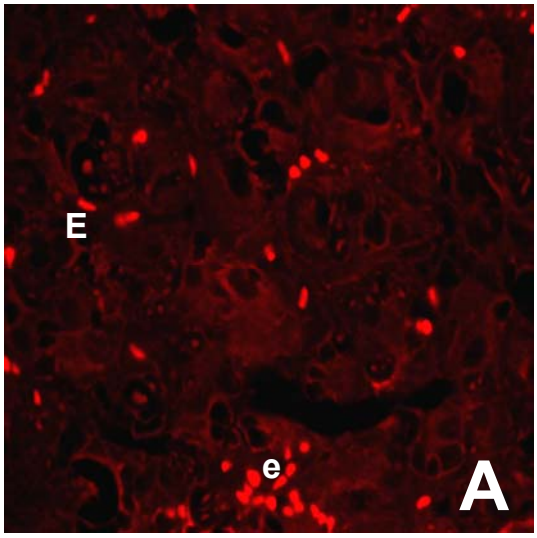
E: Hündin C3 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 34 p.ov.

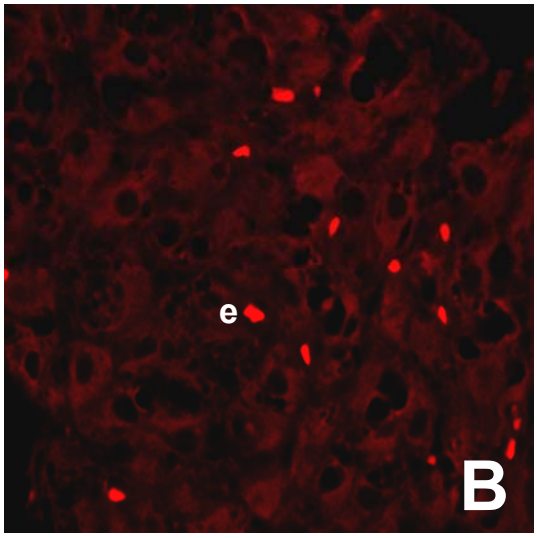
rot: Nekrose
hellblau: Apoptose
L: Luteinzellkern
E: Endothelzellkern
e: Erythrozyt(en)











Bildtafel 7:
Biochemischer Nachweis von Apoptose in den Gelbkörpern im Vergleich der Medikationsgruppen (TUNEL-Methode, Fluoreszenzmikroskop, Gerätevergrößerung 125x)

A: Hündin K1 (Kontrolle) Tag 31 p.ov.

B: Hündin A2 (Aglepristone) Tag 30 p.ov.

C: Hündin A3 (Aglepristone) Tag 33 p.ov.

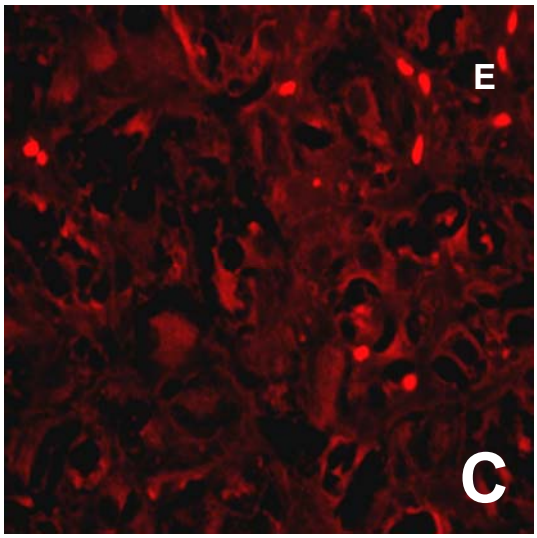
D: Hündin A1 (Aglepristone) Tag 32 p.ov.

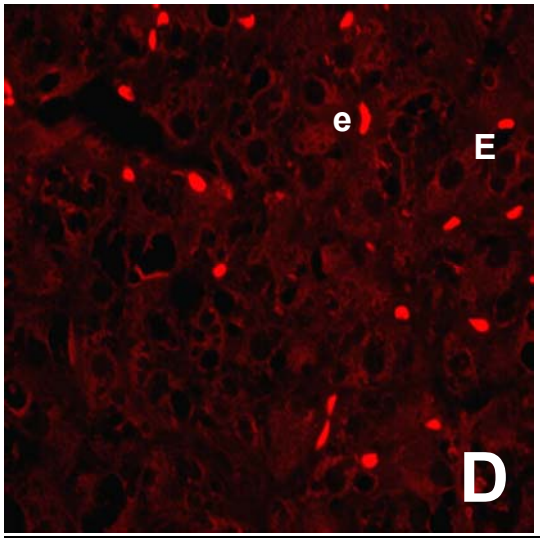
E: Hündin C3 (Cloprostenol/Cabergolin) Tag 34 p.ov.

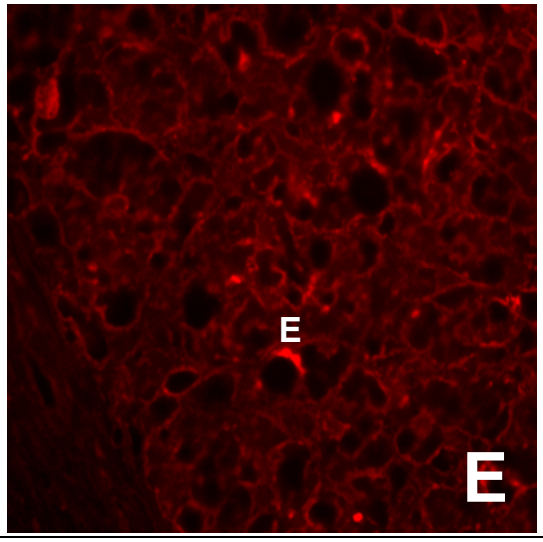
rot: Apoptose

E: Endothelzellkern

e: Erythrozyt(en)







TUNEL-Methode

Mittels der TUNEL-Methode gelingt der Nachweis apoptotischer Zellen. Das Prinzip der Methode basiert auf der Sichtbarmachung spezifischer apoptosebedingter DNA-Fragmente (nicks) mittels einer enzymatischen Reaktion und deren Identifikation im Fluoreszenzmikroskop.

Eine deutlich positive Reaktion für Apoptose konnte bei keiner Hündin in den Luteinzellen nachgewiesen werden. Bei den Kontrollhündinnen zeigten vereinzelte Endothelzellkerne eine kräftige Fluoreszenz für Apoptose. Die Anzahl Apoptose-positiver Endothelzellkerne verhielt sich bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen ähnlich wie bei den Kontrolltieren. Bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen fanden sich insgesamt weniger Apoptose-positive Endothelzellkerne als bei den beiden anderen Gruppen (Bildtafel 7, A - E).

4 DISKUSSION

4.1. Ziel der Arbeit

Obwohl die canine Trächtigkeit und die Vorgänge während spontaner oder medikamentös induzierter Fruchtverluste unter klinischen Aspekten relativ gut erforscht sind, sind bislang wenige Details über die damit verknüpften Funktionsabläufe und -veränderungen bekannt. Bei dem klinisch relevanten Phänomen der Gelbkörperinsuffizienz ist die luteale Aktivität aus bislang unbekannten Gründen herabgesetzt und/oder nimmt vorzeitig ab, so dass es zu einem unphysiologischen Absinken der Progesteronkonzentration kommt, der im Falle einer Gravidität zum Absterben und zur Resorption oder zum Abort einzelner oder aller Früchte führt (GÜNZEL-APEL et al. 2003).
Ziel dieser Orientierungsstudie war es, bei graviden Hündinnen die physiologische Lutealfunktion einerseits und medikamentös in ihrer Funktion gestörte Gelbkörper andererseits vergleichend zu untersuchen, um genauere Einblicke in luteale Funktionsmechanismen im Hinblick auf die wichtige Aufgabe des Progesterons als so genanntes „Trächtigkeitsschutzhormon“ zu gewinnen.

4.2. Untersuchungsmaterial, klinische, endokrinologische und sonographische Untersuchungsverfahren

Aufgrund der geringen Tierzahl pro Gruppe (zwei Kontrolltiere, drei mit Aglepristone und drei mit Cloprostenol/Cabergolin behandelte Hündinnen) wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet. Die endokrinologischen und dopplersonographischen Befunde wurden deskriptiv dargestellt und jeweils von einem unabhängigen Gutachter bestätigt.
Mit Hilfe regelmäßiger Zykluskontrollen (GÜNZEL-APEL 1997) und präovulatorischer sonographischer Untersuchungen (GÜNZEL-APEL u. DIETERICH 2001) war es möglich, den Ovulationstermin und den Besamungszeitpunkt präzise einzugrenzen.
Zur klinischen Erfassung ovarialer Funktionszustände und –veränderungen wurde pro Hündin eine komplette Trächtigkeit bzw. die damit einhergehende Lutealphase endokrinologisch, sonographisch und dopplersonographisch untersucht. Da in der mit Cloprostenol/Cabergolin

behandelten Gruppe die Hündin C2 nach der ersten Trächtigkeit eine Endometritis entwickelte, musste sie in der zweiten Gravidität durch eine nullipare Hündin (C3) ersetzt werden.
In der zweiten Trächtigkeit wurden die Hündinnen zunächst den selben Untersuchungen unterworfen wie während der ersten Gravidität, bevor zwischen Tag 30 und 34 p.ov. eine Ovariohysterektomie erfolgte. Der Zeitpunkt der Ovariohysterektomie richtete sich bei den mit Aglepristone bzw. Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen nach dem Eintritt von Fruchttoden und –resorptionen und wurde bei den Kontrolltieren entsprechend festgelegt.
Mit Hilfe der von BEHRENDS et al. (1993) für Estradiol-17β und Progesteron und der von EINSPANIER et al. (1999) für Relaxin etablierten und bewährten endokrinologischen Analyseverfahren war es möglich, den Einfluss der unterschiedlichen Medikationsformen im Hinblick auf Veränderungen der Ovarfunktion und der Integrität der endokrinen Plazentafunktion (Studie POLITT, E.) zu charakterisieren.
Für die dopplersonographischen Untersuchungen der stromalen Ovararterien der Hündin erwies sich die von KÖSTER et al. (2001) etablierte Vorgehensweise als gut geeignet, da sie die Erhebung reproduzierbarer Ergebnisse gewährleistete.
Die begleitende Erfassung von Fruchtverlusten erfolgte im Rahmen einer zeitgleich an den selben Tieren durchgeführten Studie, der die in der vorliegenden Arbeit erwähnten diesbezüglichen Daten entnommen wurden (POLITT, E., pers. Mitteilung vom 15.05.2004).

4.3. Histologische, immunhistologische und biochemische Untersuchungsverfahren

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen und die Befunde der immunhistologischen und biochemischen Untersuchungen bezüglich der Anzahl positiv reagierender Zellen wurden subjektiv geschätzt und deskriptiv erfasst. Ausschätzung und Wertung der Befunde wurden von zwei unabhängigen Gutachtern bestätigt.
Da die Organe während des Eingriffs nicht perfundiert wurden, wurde in der histologischen Untersuchung auf eine Beurteilung des Weitungszustandes der intralutealen Gefäße verzichtet.

Der verwendete monoklonale Progesteronrezeptor-Antikörper zeigte nur eine zytoplasmatische Immunreaktion. Da die Kerne in sämtlichen Ovarzellen PR-negativ waren, wurden die immunhistologischen Reaktionen als fraglich eingestuft und nicht ausgewertet. Um ein Austrocknen während der Vermessung und Probennahme zu verhindern, wurden die Ovarien nach Exenteration mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchtet, innerhalb von 10 bis 15 Minuten in 4%igem gepuffertem Formalin fixiert und nach ca. 50 bis 72 Stunden in Paraffin eingebettet. Als Ursache für das Fehlschlagen einer nukleären PR-Reaktion könnte eine zu lange Fixation der Organe in 4%igem gepufferten Formalin in Frage kommen. Die Hormonrezeptoren besitzen laut BOJAR (1988) eine sehr geringe Halbwertszeit von unter einer Stunde. Bei längerer Fixierungsdauer werden die Proteinstrukturen stark vernetzt, so dass die Antigene durch die üblichen Demaskierungsmethoden für die Primärantikörper unzugänglich werden (NOLL u. SCHAUB-KUHNEN 2000). Weiterhin ist eine Inkompatibilität der eingesetzten Marker mit den caninen Zellkernen und Antigenen in Betracht zu ziehen. Der Einsatz eines bereits bewährten (PAULSMEIER 1998; VERMEIRSCH 2001) oder eines anderen hundespezifischen Markers könnte hierüber Aufschluss geben. Laut ROTHCHILD (1996) besteht überdies die Möglichkeit, dass neben den klassischen kernständigen Rezeptoren schneller reagierende zytoplasmatische Reaktionswege bestehen. In weiterführenden Studien wäre demnach zu klären, ob und warum bei der immunhistologischen Untersuchung ausschließlich eine zytoplasmatischen Reaktion auftrat.

4.4. Behandlungsverfahren

Zur Untersuchung der ovarialen Reaktionen im Rahmen medikamentöser Behandlungsverfahren zum Trächtigkeitsabbruch wurde zum einen das Antiprogestin Aglepristone zweimal im Abstand von 24 Stunden an den Tagen 24 und 25 p.ov. s.c. in einer Dosierung von 10 mg/kg KGW (GALAC et al. 2000; FIENI et al. 2001a, c), zum anderen das $PGF_{2\alpha}$-Analogon Cloprostenol (1 µg/kg KGW s.c. am Tag 24 und 27 p.ov.) in Kombination mit dem Dopaminagonisten Cabergolin (5 µg/kg KGW p.os. täglich von Tag 24 bis 30 p.ov.) nach ONCLIN und VERSTEGEN (1996) gewählt.

Neben der kompetitiven Hemmung der uterinen Progesteronrezeptoren durch die Antiprogestine (FIENI et al. 2001c) werden weitere Wirkmechanismen vermutet, die über die Hypothalamus-Hypophyse-Ovar-Achse (GALAC 2000; FIENI et al. 2001a), möglicherweise aber auch über einen Anstieg von plazentärem $PGF_{2\alpha}$ infolge Beendigung der Trächtigkeit (FIENI et al. 2001b, c) oder durch direkte ovariale Mechanismen (DIMATTINA et al. 1986, 1987; SPITZ et al. 1994) eine Luteolyse hervorrufen.

Das synthetische $PGF_{2\alpha}$-Analogon Cloprostenol zeichnet sich durch höhere, spezifisch luteolytische Eigenschaften aus als natürliches $PGF_{2\alpha}$ und führt über eine drastische Herabsetzung der ovarialen Progesteronsekretion zum Trächtigkeitsabbruch (JACKSON et al. 1982; SHILLE et al. 1984). Die zeitgleiche Applikation eines Dopaminagonisten unterbindet die hypophysäre Sekretion des luteotropen Prolaktin und verstärkt somit den luteolytischen Effekt am Ovar (ONCLIN et al. 1995; ONCLIN u. VERSTEGEN 1996, 1999). Trotz der Einhaltung der o.g. bewährten Behandlungsschemata und Dosierungen gelang es in der ersten Gravidität bei keiner Hündin, Tod und Resorption aller Früchte innerhalb eines angemessenen Zeitraums herbeizuführen. In der zweiten Trächtigkeit hatte zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie nur eine Hündin (A1) alle Früchte resorbiert.

Laut FIENI et al. (2001a) und GALAC et al. (2000) führt eine Behandlung mit Aglepristone von Tag 26 bis 45 p.ov. in ca. 95 % der Fälle zum Absterben aller Früchte innerhalb von sieben Tagen. Da aus Rücksichtnahme auf die Fertilität der Tiere und die Vergleichbarkeit alle Hündinnen in der ersten Gravidität an den Tagen 36 und 37 p.ov. nachbehandelt wurden, bleibt die Frage, ob die verbliebenen Früchte auch ohne Wiederholungsbehandlung abgestorben wären, unbeantwortet.

Nach LEIN et al. (1989) sind die Corpora lutea der Hündin im Vergleich zu anderen Spezies resistenter gegenüber dem Einfluss von Prostaglandin $F_{2\alpha}$. Außerdem wurde nachgewiesen, dass die Induktion einer kompletten Luteolyse eher von der Behandlungsdauer als von der Höhe der Dosis abhängig ist (CONCANNON u. HANSEL 1977; JACKSON et al. 1982; LEIN et al. 1989). Trotz des Einsatzes des im Vergleich zum natürlichen Prostaglandin $F_{2\alpha}$ potenteren synthetischen Analogons Cloprostenol in Kombination mit dem Dopaminagonisten Cabergolin konnte bei keiner Hündin in der ersten Behandlungsphase der ersten Trächtigkeit eine vollständige funktionelle Luteolyse mit dauerhaft basalen Progesteronkonzentrationen < 2 ng/ml erzielt werden.

Trotz eines steilen Abfalls der Progesteronkonzentrationen nach Medikationsbeginn lagen die Progesteronwerte am Tag 35 p.ov. (fünf Tage nach Medikationsende) mit 4,3 ng/ml (C1) bzw. 6,6 ng/ml (C2) deutlich höher. Die Nachmedikation führte zu einem weiteren Absinken der Progesteronwerte auf 3,0 ng/ml (C1) bzw. 4,0 ng/ml (C2) und zum Tod der noch lebenden Früchte jeweils am folgenden Tag. Am Tag 60 p.ov. wurden Progesteronkonzentrationen von 2,2 (C1) bzw. 4,1 ng/ml (C2) gemessen. Hündin C3 hatte am Tag 31 p.ov. trotz anfänglich steilen Abfalls der Progesteronkonzentration nur eine ihrer vier Früchte resorbiert. Obwohl die Progesteronwerte nach weiterer Behandlung mit Cloprostenol und Cabergolin auf bis zu 0,5 ng/ml (Tag 33 p.ov.) absanken, überlebten zwei Früchte bis zur Ovariohysterektomie am Tag 34 p.ov. Ähnliche Beobachtungen machten auch CONCANNON und HANSEL (1977), VICKERY und McRAE (1980) und JACKSON et al. (1982) bei mit $PGF_{2\alpha}$ behandelten Hündinnen, die die Trächtigkeit nach Erreichen basaler Progesteronkonzentrationen < 2 ng/ml für einige weitere Tage aufrechterhielten.

Die zum Trächtigkeitsabbruch verwendeten Behandlungen riefen nur in geringem Maße die von HUBLER und ARNOLD (2000) und FIENI et al. (2001a) für Aglepristone, von VICKERY und McRAE (1980) und JACKSON et al. (1982) für Cloprostenol und ONCLIN und VERSTEGEN (1996) und HARVEY et al. (1997) für Cabergolin beschriebenen Nebenwirkungen hervor. Das bei einer Hündin einmalig aufgetretene Erbrechen nach Applikation von Cloprostenol und Cabergolin ist mit der kontrahierenden Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ auf die glatte Muskulatur des Gastrointestinaltraktes zu erklären (BUSSE 1997). Die bei einer mit Aglepristone behandelten Hündin beschriebene subkutane knotige walnussgroße Hautirritation an der Injektionsstelle ist vermutlich auf eine entzündliche Reaktion zurückzuführen. Auch bei FIENI et al. (2001a) wurden lokale entzündliche Gewebeveränderungen nach Aglepristone-Gabe beschrieben, die wahrscheinlich auf der ölig-alkoholischen Lösung des Medikamentes beruhen. Die mit Aglepristone oder Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen zeigten zwischen Tag 28 und 35 p.ov., parallel zum fortschreitenden Fruchtsterben, erstes Auftreten eines bräunlich-roten vaginalen Ausflusses, der einen bis zwei Tage nach dem Absterben der jeweils letzten Frucht verschwand. Trotz der bei allen Tieren durchgeführten Endometritis-Prophylaxe entwickelte eine Hündin (C2) in dem der ersten Trächtigkeit folgenden Zyklus eine mittelgradige Endometritis. Es ist nicht auszuschließen, dass die Endometritis durch die mit dem Trächtigkeitsabbruch einhergehenden entzündlichen Prozesse hervorgerufen worden ist.

4.5. Ovarfunktion in den medikamentös unbeeinflussten Trächtigkeiten

Die ermittelten **Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen** im peripheren Blutserum ergaben die für die Spezies Hund typischen Sekretionsmuster (SMITH u. McDONALD 1974; CONCANNON 1984, 1986; STEWART et al. 1994; EINSPANIER et al. 1999) und lassen auf eine physiologische Funktion von Ovar und Plazenta im Trächtigkeitsverlauf schließen. Das Auftreten spontaner Fruchtresorptionen war nicht mit Veränderungen der endokrinologischen Parameter verknüpft.

Im Stadium der Gelbkörperblüte (Tag 16 bis 30 p.ov.) war die **dopplersonographisch** erfassbare Perfusion des ovarialen Parenchyms als Zeichen gesteigerter Stoffwechselaktivität auf einem hohen Niveau. Da den nach der Ovulation neu gebildeten Gefäßen eine Muskelschicht fehlt, wird die Perfusion des komplexen lutealen Gefäßnetzes nicht durch Autoregulation gesteuert, sondern hängt primär vom Blutdruck vorgeschalteter präkapillärer Arterien und Arteriolen ab, die unter dem vasodilatativen Einfluss endo- und parakriner Substanzen die Blutversorgung der Luteinzellen gewährleisten (WILTBANK et al. 1990). Dadurch wird nicht nur die Zufuhr von Stoffen für die Progesteronsynthese (Sauerstoff, Lipoproteine, Glukose etc.) optimiert, sondern auch das Angebot an luteotropen Hormonen (LH, Prolaktin) erhöht, die wiederum einen proliferativen Effekt auf vaskuläre Strukturen und luteale Zellen ausüben (NISWENDER et al. 1976; ELLINWOOD et al. 1978).

Die intraovariale Vaskularisation nahm im Zuge der Gelbkörperregression allmählich ab. Die systolischen und diastolischen Blutflussgeschwindigkeiten sanken, während Pulsatilitäts- und Widerstandsindex anstiegen. Im Kurvenverlauf kam die Abnahme der Durchblutung und die gleichzeitige Zunahme des peripheren Widerstandes in einer relativ stärkeren Verminderung der diastolischen und enddiastolischen Komponenten zum Ausdruck. Damit bestätigen die dopplersonographischen Befunde der vorliegenden Arbeit die Ergebnisse histologischer (ANDERSEN u. SIMPSON 1973; ELLINWOOD et al. 1978; PETERS u. McNATTY 1980) und dopplersonographischer (KÖSTER et al. 2001) Studien beim Hund.

Histologisch befanden sich die Luteinzellen der anlässlich der Ovariohysterektomie am Tag 31 (K1) und 30 p.ov. (K2) entnommenen Ovarien weitestgehend in dem von ANDERSEN und SIMPSON (1973) für dieses Gestationsstadium beschriebenen, größtenteils intakten Zustand. Die Gelbkörper wiesen eine gute Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen auf.

Die Luteinzellen der Gelbkörperzentren stellten sich mehrheitlich intakt dar; es herrschte hier ein homogenes Zellbild mit engen, kompakten Strukturen, während in den Randbereichen stellenweise einzelne stärker vakuolisierte Zellen mit degeneriert erscheinenden Kernen zu finden waren. Nach ANDERSEN und SIMPSON (1973) beginnt die physiologische Gelbkörperregression in den Zentren der Corpora lutea. Nach den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie ist jedoch davon auszugehen, dass die stärker vakuolisierten Zellen in den Randbereichen der Gelbkörper den Beginn der physiologischen Luteolyse darstellen. Diese Vermutung wird durch die schwächere Immunreaktion von 3-β-HSD und Relaxin in den peripheren Bereichen nahezu aller untersuchten Hündinnen untermauert.

Die Befunde der **immunhistologischen** 3-β-HSD- und Relaxinreaktion korrelierten mit den Ergebnissen aus der histologischen Untersuchung. Die lichtmikroskopisch intakt erscheinenden Luteinzellen zeigten durchgehend eine positive zytoplasmatische Immunreaktion für 3-β-HSD und Relaxin sowie ein homogenes Gesamtbild, das auf eine intensive Produktion von Progesteron und Relaxin hinweist und mit den peripheren Blutbefunden korreliert. Die Intensität der Immunreaktion nahm mit dem Grad der Vakuolisierung ab. Vor allem in den Randbereichen mit stärker vakuolisierten Luteinzellen war die Immunreaktion schwächer ausgeprägt.

Bei beiden Hündinnen waren wenige einzelne Lutealzellkerne Nekrose-positiv. Einige wenige Endothelzellkerne wiesen eine kräftige Fluoreszenz auf und waren sowohl Nekrose- als auch in geringerem Maße, Apoptose-positiv.

Bei uniparen Tieren und der Frau wird an dem den dominanten Follikel tragenden Eierstock eine erheblich stärkere Zunahme des Blutflusses beobachtet (NISWENDER et al. 1975; BROWN et al. 1980; HATA et al. 1990). TAYLOR et al. (1985a) erfassten bei der Frau einen im Gegensatz zu der kontralateralen Seite erniedrigten Pulsatilitätsindex, der auf einen erhöhten Blutfluss hinweist. Bei der in dieser Studie untersuchten rechtsseitigen Einhorngravidität der Hündin K1 erschienen die Gelbkörper des rechten Ovars histologisch intakter und endokrin aktiver als die der linken Seite. Mit Hilfe der farbkodierten Dopplersonographie war im rechten Ovar eine starke Farbigkeit auszumachen, während im linken Ovar die farbigen Blutflüsse nur nach mehrmaligem Schwenken des Schallkopfes auszumachen waren. Andererseits zeigten die Blutflussmuster im Seitenvergleich keine Unterschiede. Aufgrund des seltenen Vorkommens einer caninen Einhornträchtigkeit dürften weiterführende Untersuchungen zu dieser Thematik schwierig sein.

4.6. Ovarfunktion in den durch Aglepristone gestörten Trächtigkeiten

Antiprogestine sind synthetische Progesteronrezeptor-Antagonisten, die nachweislich beim Hund, anders als bei z. B. Mensch oder Ratte (DIMATTINA et al. 1986; CROXATTO et al. 1987; GARZO et al. 1988; YAMABE et al. 1989), keine von einem unmittelbaren Abfall der Progesteronkonzentration begleitete Luteolyse induzieren und somit das Absterben der Früchte in erster Linie durch Blockade der uterinen Progesteronrezeptoren hervorrufen (GALAC et al. 2000; FIENI et al 2001a, c).

Bei allen behandelten Hündinnen nahmen die **Estradiol-17-β-**Konzentrationen einen ähnlichen Verlauf und wiesen die für den Hund typischen (EDQUIST et al. 1975; AUSTAD et al. 1976; KÖSTER 1999) Verlaufsmuster in der physiologischen Trächtigkeit auf. Demnach konnte anhand der Estradiol-17β-Konzentration kein Einfluss der Medikation auf die Ovarfunktion abgeleitet werden. Ähnliche Beobachtungen machten auch FIENI et al. (2004) bei mit Aglepristone behandelten Katzen. Im Gegensatz dazu hat die Behandlung mit Mifepristone in der mittleren Lutealphase der Frau eine Verringerung der Estradiol-17β- und LH-Sekretion zur Folge (GARZO et al. 1988; CURRY u. NOTHNICK 1996). Nach den von HOPPEN (1990) zusammengefassten Erkenntnissen erniedrigen basale Estradiol-17β-Konzentrationen, wie sie in der Lutealphase der Hündin vorliegen, die Plasmaspiegel von LH und FSH auf hypophysärer Ebene, während Progesteron Einfluss auf die hypothalamische Pulsfrequenz ausübt. Als Ursache für die vorzeitige Luteolyse und das in vielen Fällen verkürzte Interöstrusintervall bei mit Aglepristone behandelten Hündinnen wird ein Effekt des Antiprogestins auf hypothalamisch-hypophysärer Ebene vermutet (CONCANNON et al. 1990; GALAC et al. 2000; FIENI et al. 2001a, b, c). Ein hypophysärer Effekt auf den Regelkreis der Estradiol-17β-Produktion kann demnach aufgrund der in dieser Studie erzielten Ergebnisse während der Lutealphase der graviden Hündin ausgeschlossen werden. Inwiefern eine Wirkung des Aglepristones auf hypothalamischer Ebene zu verzeichnen ist, muss in weiterführenden Untersuchungen unter Einbeziehung von GnRH, FSH und LH geklärt werden.

Nach der Ovulation stiegen die **Progesteronkonzentrationen** im Zuge der Gelbkörperanbildung (Tag 0 bis 15 p.ov.) steil an und blieben während der Gelbkörperblüte (Tag 16 bis 30 p.ov.), wie bei SMITH und McDONALD (1973) und CONCANNON (1984, 1986) beschrieben, korrespondierend zu den Kontrollhündinnen, auf hohem Niveau. Dies blieb auch unter der Medikation (Tag 24 und 25 p.ov.) und in den darauf folgenden Tagen der Gelbkörperblüte

unverändert. Somit war ein deutliches Absinken der Progesteronkonzentration in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von GALAC et al. (2000) und FIENI et al. (2001a, c), während oder kurz nach der Behandlung bei keiner der Hündinnen zu beobachten. Auch die Wiederholungsmedikation (Tag 36 und 37 p.ov.) in der Phase der frühen Gelbkörperregression blieb ohne unmittelbare Reaktion auf die Progesteronkonzentration. Dagegen war ein deutlicher Abfall der Progesteronwerte in Koinzidenz mit dem Tod der jeweils letzten Frucht zu verzeichnen, der beim Vergleich des entsprechenden Zeitraums der Lutealphase der Kontrolltiere für eine Beschleunigung bzw. Verstärkung der Gelbkörperregression im Sinne einer Luteolyse spricht. Ähnliche Beobachtungen machten auch FIENI et al. (2001c) in Studien mit Aglepristone bzw. CONCANNON et al. (1990) mit Mifepristone. Die Ergebnisse zeigen, dass wie bereits von CONCANNON et al. (1990) diskutiert wurde, die Funktion des caninen Gelbkörpers in der Trächtigkeit auch von der Integrität des feto-plazentären Gewebes abhängig ist.

Bei einem mit Aglepristone herbeigeführten Trächtigkeitsabbruch in der fortgeschrittenen Gravidität wird die Austreibung der Feten von einem Anstieg an $PGF_{2\alpha}$-Metaboliten begleitet (FIENI et al. 2001b, c). Ob dem in der vorliegenden Studie beobachteten vorzeitigen Abfall der Progesteronkonzentration ein entsprechender Zusammenhang zugrunde liegt, kann nicht belegt werden, da begleitende Messungen von $PGF_{2\alpha}$-Metaboliten fehlen. Bei der Frau und bei der Ratte löst die Gabe von Mifepristone Uteruskontraktionen bei zeitgleicher Zunahme an uterinem PGE_2 und $PGF_{2\alpha}$ aus, was offensichtlich Folge und nicht Auslöser der uterinen Aktivitäten ist (HILL et al. 1990; ARKARAVICHIEN u. KENDLE 1992). Laut CSAPO (1973) zeigt der nicht gravide Uterus der Frau während der Lutealphase spontane Kontraktionen, während die Aktivität des graviden Uterus durch die Balance zwischen dem intrinsischen Suppressor, Progesteron, und dem Stimulator, $PGF_{2\alpha,}$ reguliert wird. Diesem Phänomen müsste bei der Hündin durch Bestimmung von endogenem $PGF_{2\alpha}$ und Progesteron bei Verkürzung der Blutprobenentnahmeintervalle nachgegangen werden. Auf diese Weise wäre auch die Frage zu klären, ob intrauteriner Fruchttod und –resorption oder –abort mit einer Ausschüttung von $PGF_{2\alpha}$ einhergeht und wie die ovariale Progesteronsekretion darauf reagiert.

Die mit Aglepristone behandelten Hündinnen A1 und A3 wiesen Interöstrusintervalle von sechs Monaten, Hündin A2 von vier Monaten, auf, was mit den Angaben von CONCANNON et al. (1990), GALAC et al. (2000) und FIENI et al. (2001a, c) über eine mögliche Verkürzung des Läufigkeitsintervalls nach Gabe von Antiprogestinen übereinstimmt.

GALAC et al. (1999) und FIENI et al. (2001c) vermuten, dass Aglepristone hypothalamische Progesteronrezeptoren besetzt und somit dem negativen Feedback-Effekt des Progesterons durch vermehrten Ausstoß gonadotroper Hormone entgegenwirkt, so dass eine Verkürzung des Läufigkeitsintervalls nicht nur auf eine vorzeitige Luteolyse, sondern auch auf eine Verkürzung des Anöstrus durch vorzeitige FSH-Ausschüttung zurückzuführen ist.

Bei allen drei Hündinnen war in der ersten Trächtigkeit in der Phase der fortschreitenden Fruchtverluste (Tag 31 bis 46 p.ov.) ein Abfall der peripheren **Relaxinkonzentration** zu verzeichnen. Es gilt als erwiesen, dass Relaxin beim Hund überwiegend in der Plazenta und nur in geringerem Maße in den Ovarien gebildet wird (STEINETZ et al. 1989; STEWART 1992; KLONISCH et al. 1999), wobei genaue Angaben über den ovarialen Relaxinanteil an der Gesamtrelaxinkonzentration im peripheren Blut fehlen. Im Corpus luteum des ingraviden Weißbüschelaffen wird die Steroidproduktion durch Relaxin in allen Stadien der Gelbkörperphase angeregt (BEINDORFF et al. 2001). Dieser Effekt ist dosisabhängig. Mit zunehmender Reife des Gelbkörpers wird eine höhere Relaxindosis benötigt, um die Steroidproduktion auf hohem Niveau zu halten, womit bei dieser Spezies eine lokale luteotrope Wirkung des Relaxins belegt wird (VERHAGEN 2002).

Die **dopplersonographisch** ermittelten Profile der Blutflussgeschwindigkeit der mit Aglepristone behandelten Hündinnen ähnelten bis Tag 40/45 p.ov. denen der Kontrollhündinnen. Danach sanken die Flussgeschwindigkeiten ab. Die Flusskurve erreichte in individuell unterschiedlicher Ausprägung im Vergleich zu den unbehandelten Hündinnen fünf bis zehn Tage früher die von KÖSTER et al. (2001) für die späte Lutealphase beschriebene Form. Die Flussgeschwindigkeiten fielen während der Gelbkörperregression auf Werte ab, die mit denen der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen vergleichbar waren. Die Indizes PI und RI waren während der Gelbkörperblüte und -regression denen der unbehandelten Hündinnen ähnlich, jedoch zeigte sich der relative Anstieg von PI und RI bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen schon um Tag 40 p.ov. und damit fünf bis zehn Tage früher als bei den Kontrolltieren. Die S/D- und A/B-Quotienten verhielten sich mit gleich bleibenden Werten in den Phasen der Gelbkörperblüte und frühen -regression und einem Anstieg während der fortgeschrittenen Regression ähnlich wie die der unbehandelten Hündinnen. Wie in analoger Weise von KÖSTER et al. (2001) bei tragenden Hündinnen beschrieben, unterschieden sich die Flussgeschwindigkeiten und Indizes der Ovarien im Rechts-Links-Vergleich nicht deutlich.

Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Medikation und dopplersonographischen Parametern konnte nicht hergestellt werden, jedoch nahmen die ovarialen Blutflussgeschwindigkeiten (SPV, EDV und DPV) nach dem Verlust der letzten Frucht, korrespondierend mit dem Absinken der Progesteron- und Relaxinwerte, deutlich ab.

Obwohl von KÖSTER et al. (2001) beim Hund eine positive Korrelation zwischen Progesteronkonzentration und ovarialem Blutfluss nachgewiesen wurde, hat Progesteron im Allgemeinen keinen perfusionsfördernden Effekt im Ovargewebe. Vielmehr scheint die Zufuhr von Nährstoffen und luteotropen Hormonen die Produktion von Progesteron zu steigern (NISWENDER et al. 1975; ELLINWOOD et al. 1978). Dem LH wird eine durchblutungssteigernde Wirkung zugeschrieben, die bei verschiedenen Spezies vor allem durch eine rasche, präovulatorische Zunahme der ovarialen Durchblutung zum Zeitpunkt des LH-Peaks charakterisiert ist (WURTMAN 1964; PIACSEK u. HUTH 1971; JANSON 1975; NISWENDER et al. 1975; LEE u. NOVY 1978; WEINER et al. 1993) und auch für den Hund beschrieben wird (KÖSTER et al. 2001). So resultiert die Gabe von anti-LH-Serum beim Schaf in einer signifikanten Abnahme des ovarialen Blutflusses (NISWENDER et al. 1976). Dopplersonographische Untersuchungen des ovarialen Blutflusses Aglepristone-behandelter und zeitgleich LH-substituierter Hündinnen könnten das Ausmaß der durch Antiprogestine gehemmten LH-Stimulation am Ovar näher charakterisieren und zur Klärung der Frage beitragen, ob der fehlende luteotrope Stimulus allein oder in Verbindung mit weiteren durchblutungshemmenden Faktoren für die verminderte Perfusion der Ovarien verantwortlich zu machen ist.

OKKENS et al. (1985) haben bewiesen, dass der Uterus der zyklischen Hündin keinen Einfluss auf die Lebensspanne des Corpus luteum hat, jedoch vermuten SMITH u. McDONALD (1974), dass ein plazentäres Luteotropin bei der tragenden Hündin die Aufrechterhaltung der Corpus-luteum-Funktion zusätzlich gewährleistet. Bei Callithrix jacchus handelt es sich bei diesem plazentären Luteotropin laut BEINDORFF et al. (2001) und VERHAGEN (2002) um Relaxin. Relaxin ist offensichtlich an der Dezidualisierung endometrialer Stromazellen beteiligt und schafft durch die entsprechende Gewebemodellierung die Voraussetzung für die Implantation (ZHU et al. 1990; CHEN et al. 1998). Es beeinflusst die für die Einnistung notwendige Gewebevorbereitung, indem es die Angiogenese fördert (EINSPANIER et al. 2001) und gewebemodulierende Enzyme aktiviert (HWANG et al. 1996). Ähnliche Vorgänge sind auch am Ovar denkbar, da für die Formation des Corpus luteum ebensolche Remodulierungsvorgänge wie Umbau und Angiogenese wichtig sind (DICKSON et al. 2001). In weiterfüh-

renden Untersuchungen ist somit zu klären, ob eine verminderte Ovarperfusion durch eine mit dem Verlust der feto-plazentären Integrität einhergehenden verringerten Stimulation mit Relaxin ausgelöst wird oder ob der Rückgang der ovarialen Durchblutung ursächlich durch andere Faktoren (z. B. Ausschüttung von $PGF_{2\alpha}$ aus dem uterinen Gewebe) eingeleitet wird und nachfolgend eine Unterversorgung des Ovars infolge herabgesetzter luteotroper Stimulation die angiostatischen Abbauvorgänge weiter unterhält.

Im **histologischen** Bild fiel im direkten Vergleich zu den Kontrollhündinnen auf, dass sich die Mehrzahl der Luteinzellen der mit Aglepristone behandelten Hündinnen am Tag der OVH (Tag 30 bis 33 p.ov.) in einem fortgeschritteneren Stadium der Regression befanden. Nur Hündin A2, die zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie die geringste Zahl an Fruchtresorptionen aufwies, zeigte im Vergleich zu den Hündinnen A1 und A3 eine bessere Versorgung mit großen und kleinen Gefäßen und die geringste Vakuolisierung der Luteinzellen. Das Zellbild war überwiegend mit dem der Kontrollhündinnen vergleichbar. Dagegen ähnelte das histologische Bild der Gelbkörper der Hündin A1, die zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie bereits alle Früchte resorbiert hatte, in mehreren Lokalisationen dem der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Tiere.

Bei allen drei Hündinnen waren viele der kleineren Gefäße von Ansammlungen kleiner Zellen umgeben, die nicht näher charakterisiert werden konnten, und deren Ursprung in weiterführenden Untersuchungen zu klären ist.

Aus welchem Grund sich die Gelbkörper der Hündin A1 in einem fortgeschritteneren Stadium der Regression befanden als die der Hündinnen A2 und A3, bleibt weiteren Studien vorbehalten. Insbesondere zur Frage, ob das Einsetzen degenerativer Veränderungen einer individuell vermehrten Sensibilität gegenüber dem Medikament, dem massiven Absterben der Früchte oder einem verringerten Stimulus durch luteotrope Substanzen entspringt, könnte hier eine weitere Analyse des stromalen Gefäßbettes sowie der Relaxin- und Progesteronrezeptoren und weiterer Komponenten des Cholesteroltransportes und der Progesteronproduktion weitere Erkenntnisse bringen. Weiterhin wäre zu klären, ob bei der Hündin A1 eine im Gruppenvergleich massivere Luteolyse eingesetzt hatte, oder ob die degenerativen Veränderungen früher eingesetzt haben als bei den Hündinnen A2 und A3, und demnach zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie zeitlich weiter fortgeschritten waren.

Nach Abschluss der Resorptionen/Aborte findet nach CONCANNON et al. (1990) und FIENI et al. (2001c) eine vorzeitige Luteolyse statt, die möglicherweise durch einen Wegfall luteotroper Substanzen ausgelöst wird. Da die Luteotropine LH und Prolaktin in dieser Studie nicht ermittelt wurden, können diesbezüglich keine Angaben gemacht werden. Die histologischen Bilder aller mit Aglepristone behandelten Hündinnen weisen jedoch, anders als die Progesteronkonzentrationen, auf bereits vor dem Verlust der letzten Frucht einsetzende luteolytische Veränderungen der Gelbkörper hin, da die Trächtigkeiten der Hündinnen A2 und A3 zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie nicht komplett beendet waren. Zudem muss zwischen der funktionellen und der strukturellen Luteolyse unterschieden werden, da das Absinken der Progesteronkonzentrationen als Zeichen der funktionellen Luteolyse dem Beginn der strukturellen Luteolyse offensichtlich folgt.

Die **immunhistologischen** Untersuchungen erbrachten bei allen mit Aglepristone behandelten Tieren weniger 3-β-HSD- und Relaxin-positive Zellen als bei den Kontrollhündinnen, wobei die Gelbkörper der Hündin A2 im Vergleich zu A1 und A3 mehr und deutlichere Signale zeigten. Aufgelockerte und vakuolisierte Bereiche wiesen meist eine negative Immunreaktion auf, doch waren bei zytoplasmatisch destrukturiert erscheinenden Luteinzellen in vielen Fällen positive Signale und intakt erscheinende Zellkerne zu erkennen. Wie von ANDERSEN und SIMPSON (1973) beim Hund für die physiologische Gelbkörperregression beschrieben, fand dieser Prozess auch bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen nur an einzelnen Zellen statt. Entsprechend den beim Weißbüschelaffen (FRASER et al. 1999) und Menschen beschriebenen (ADAMS u. HERTIG 1969) Befunden, waren bei der Hündin sowohl in geringerem Maße während der physiologischen Gelbkörperregression, als auch nach Aglepristone-Gabe, stark vakuolisierte Zellen zu finden, die jedoch noch einen lichtmikroskopisch intakten Zellkern aufwiesen und trotz stärkerer Vakuolisierung größtenteils in der Lage waren, Progesteron und Relaxin zu synthetisieren.

Nach GALAC et al. (2000) und FIENI et al. (2001a, b, c) kommt es beim Hund durch die Gabe von Aglepristone zu einer Blockade hypothalamisch-hypophysärer Progesteronrezeptoren und damit unter der Medikation zu einem vorgetäuschten Abfall der Blut-Progesteronkonzentration, woraufhin der Organismus zunächst auf hypothalamisch-hypophysärer Ebene durch Ausschüttung von Prolaktin und LH eine Stimulation der Luteinzellen zu vermehrter Progesteronsekretion anregt.

Mit Hilfe des Nachweises von 3-β-HSD konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass die Luteinzellen, korrespondierend mit den Progesteronkonzentrationen, nach Auftreten der ersten Fruchtresorptionen noch in der Lage sind, Progesteron zu sezernieren. Diese Fähigkeit scheint mit dem Fortschreiten luteolytischer Veränderungen zu schwinden, da von Tag 46 bis 60 p.ov. der ersten Trächtigkeit alle drei mit Aglepristone behandelten Hündinnen deutlich geringere Progesteronkonzentrationen als die Kontrolltiere aufwiesen. Die mittlere Progesteronkonzentration entsprach in dieser Phase den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Tieren und deutet somit auf eine vorzeitige funktionale Luteolyse hin.

Letztlich kann ein direkter ovarialer Effekt von Aglepristone nicht ausgeschlossen werden, da Mifepristone die Aktivität der 3-β-HSD im menschlichen Ovargewebe in vitro zu unterdrücken vermag (DIMATTINA et al. 1986) und auch die mit Aglepristone behandelten Hündinnen eine geringere Immunreaktion für 3-β-HSD zeigten als die Kontrolltiere. SPITZ et al. (1994) vertreten die Hypothese, dass Mifepristone beim Menschen direkt am Ovar wirkt, jedoch werden zur kompletten Blockade der ovarialen Progesteronsekretion große Mengen an Antiprogestinen benötigt, was eine Luteolyse ausschließlich durch ovariale Effekte unwahrscheinlich macht. Vielmehr wird der hauptsächliche luteolytische Effekt in einer Drosselung der Luteotropinsekretion liegen, da Endometrium und Hypophyse des Menschen eine höhere Sensitivität gegenüber Antiprogestinen aufweisen als das Ovar. Verlaufskontrollen von LH und Prolaktin unter Aglepristone-Medikation bis nach Komplettierung der Luteolyse könnten in weiterführenden Studien weiteren Aufschluss bringen. Da im Gelbkörper des Hundes in der mittleren Lutealphase Progesteronrezeptoren zu finden sind (PAULSMEIER 1998; VERMEIRSCH et al. 2001) und laut ROTHCHILD (1981 u. 1996) die Möglichkeit einer autokrinen Stimulation der Progesteronsekretion über Progesteronrezeptoren und darüberhinaus vermutlich über weitere Wege besteht, können Antiprogestine möglicherweise auch beim Hund direkt am Ovar agieren und sind somit für den degenerativeren Zustand der Luteinzellen nicht auszuschließen.

Eine sinkende Relaxinkonzentration mit nachfolgend abfallenden Progesteronwerten und die Tatsache, dass das canine Ovar, wie schon bei STEINETZ et al. (1989) und KLONISCH et al. (1999) beschrieben und in der hier vorliegenden Studie bestätigt, zu erheblicher Relaxinproduktion fähig ist, könnte auch beim Hund als ein Hinweis auf eine luteotrope Funktion des Relaxins gewertet werden.

Das bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen in Koinzidenz mit den degenerativen Veränderungen an den Luteinzellen nachgewiesene Absinken der ovarialen Relaxinproduktion kann ferner Anlass zu der Vermutung geben, dass nicht nur das in der Plazenta, sondern auch das im Ovar gebildete Relaxin seine eigene Synthese und die Funktion der Gelbkörper stimuliert.
Die Luteinzellen der Hündinnen A1 bis A3 zeigten im Allgemeinen mehr positive Reaktionen für Nekrose als die der Kontrollen. Außerdem erschien die Anzahl nekrose-positiver Endothelzellkerne erhöht. Diese Befunde deuten darauf hin, dass Aglepristone beim Hund an den Luteinzellen der tragenden Hündin keine Form des programmierten Zelltodes ausgelöst hat, die mit den hier angewandten Verfahren identifiziert werden konnte. Die degenerativen Veränderungen schienen vor allem nekrosebedingt zu sein, was mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen genauer zu charakterisieren wäre. Das im Vergleich zu den Kontrolltieren vermehrte Auftreten nekrotischer Veränderungen in den Endothelzellen der Gelbkörper könnte ein Anzeichen für einen gefäßlokalisierten Ursprung der Luteinzell-Degeneration bedeuten.

4.7. Ovarfunktion in den durch Cloprostenol/Cabergolin gestörten Trächtigkeiten

Die **Estradiol-17β**-Konzentrationen wiesen den für die canine Lutealphase typischen Verlauf auf (EDQUIST et al. 1975; AUSTAD et al. 1976) und zeigten somit keine Reaktion auf die Cloprostenol/Cabergolin-Medikation oder den Verlust der Früchte.
Entsprechend den Beobachtungen von JACKSON et al. (1984), SHILLE et al. (1984), FIENI et al. (1989), SALPIGTIDOU (1998) u. a. zeigten die **Progesteronkonzentrationen** einen Tag nach Medikationsbeginn einen steilen Abfall. Der Wiederanstieg der Progesteronwerte drei bis sieben Tage nach Behandlungsbeginn und das erneute Absinken unter der Wiederholungsmedikation auf ein konstant niedriges Niveau bestätigt die Ausführungen von LEIN et al. (1989), CONCANNON und MEYERS-WALLEN (1991), ROMAGNOLI et al. (1991) und SALPIGTIDOU (1998), wonach die Gelbkörper der Hündin im Vergleich zu anderen Spezies weniger ansprechbar für die Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ sind und eine vollständige Luteolyse nur durch wiederholte $PGF_{2\alpha}$-Gaben zu erzielen ist. Eine unmittelbare Reaktion der Progesteronkonzentration in Zusammenhang mit Fruchtverlusten war in keinem Fall zu erkennen.

Zwischen den Läufigkeiten der mit Cloprostenol und Cabergolin behandelten Hündinnen C1 und C2 lagen 3 ½ bzw. 10 Monate. Eine Verkürzung des Östrusintervalls wird nach OETTLE et al. (1985) im Allgemeinen bei Hündinnen beobachtet, die während der ersten acht Wochen der Lutealphase mit $PGF_{2\alpha}$ in einer Dosierung von 60-500 µg/kg/Tag für drei bis sechs Tage behandelt wurden, jedoch konnte diese Beobachtung von LANGE (1995) und SALPIGTIDOU (1998) nicht in jedem Fall bestätigt werden. Nach LANGE (1995) ist es nicht möglich, die Verkürzung des Östrusintervalls nach einer $PGF_{2\alpha}$-Behandlung vorauszusagen, wobei möglicherweise auch das Alter der Hündin und das individuell unterschiedliche natürliche Läufigkeitsintervall eine Rolle spielen können. Auch eine Kombinationsbehandlung mit $PGF_{2\alpha}$ und Prolaktinantagonisten führt nicht in jedem Fall zu einer Verkürzung des Östrusintervalls (ONCLIN et al. 1995; ONCLIN u. VERSTEGEN 1999).

Die Ergebnisse der **dopplersonographischen** Untersuchungen bestätigen die Ergebnisse von KÖSTER et al. (2001). Die durch Cloprostenol und Cabergolin erfolgte Hemmung der Gelbkörperfunktion ging mit einem drastischen Rückgang der Ovarperfusion einher. Zwei bis vier Tage nach Medikationsbeginn verschlechterte sich die Darstellbarkeit der ovarialen Strukturen mit deutlicher Reduktion der Farbkodierung. Bei einer Hündin (C1) waren die Blutflüsse am Tag 38 p.ov. der ersten Trächtigkeit, wie auch schon von KÖSTER et al. (2001) beobachtet, auf ein mit dem verwendeten Dopplersystem nicht mehr detektierbares Niveau gesunken. Die Hüllkurvenprofile der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen veränderten sich ab Tag 28 p.ov. und ähnelten bereits in dieser Phase den Flussmustern, die bei der Kontroll- und Aglepristonegruppe erst im letzten Abschnitt der graviden Lutealphase (Tag 41 bis 60 p.ov.) auftraten. Die Indizes PI und RI waren zwischen Tag 32 und 60 p.ov. höher als bei den Kontrollhündinnen und den mit Aglepristone behandelten Tieren. Der S/D- und A/B-Quotient verhielten sich ähnlich wie in der Kontrollgruppe und erwiesen sich aus diesem Grunde in Bestätigung der Aussagen von KÖSTER et al. (2001) als ungeeignet für die Charakterisierung ovarialer Funktionsveränderungen. Im Seitenvergleich der Ovarien war bei keiner der Hündinnen ein Unterschied in den Blutflussgeschwindigkeiten oder in den Indizes PI und RI festzustellen.

Es ist bekannt, dass die Gabe von $PGF_{2\alpha}$ beim Hund zu einer mit drastisch verminderter ovarialer Durchblutung einhergehenden Luteolyse führt (KÖSTER et al. 2001). Der durchblutungsvermindernde Effekt von $PGF_{2\alpha}$ wird einer vasokonstriktorischen Wirkung im Bereich der extralutealen Arterien zugeschrieben, wodurch die Perfusion des Gelbkörpers reduziert wird. Durch die Umverteilung des Blutflusses kommt es innerhalb des Corpus luteum zu einer lokalen Ischämie, die den Abbau des Gewebes induziert (WILTBANK et al. 1990). KÖSTER et al. (2001) unterstützten die Vermutung, dass $PGF_{2\alpha}$ bei der Hündin in der Gelbkörperphase einen direkten oder indirekten durchblutungsvermindernden Effekt ausübt, der sich hemmend auf die Funktionsfähigkeit der Luteinzellen und damit auf die Progesteronsekretion auswirkt.
Die Blutflussgeschwindigkeiten sowie die farbige Darstellbarkeit der intraovarialen Gefäße blieben bei der Hündin C3 im Vergleich zu den beiden anderen Tieren dieser Gruppe am längsten auf relativ hohem Niveau. Bis zur Ovariohysterektomie (Tag 34 p.ov.) war im dopplersonographischen Bild kaum eine Abnahme der Farbigkeit festzustellen, während bei den Hündinnen C1 und C2 ab Tag 28 p.ov. eine deutliche Reduktion der Farbigkeit und eine Verkleinerung und Verschmälerung der Farbpunkte festgestellt werden konnte, und die Reduktion der Farbigkeit mit dem Einsetzen der ersten Fruchttode einherging. Bei Hündin C3 trat eine Resorption nach Erstmedikation am Tag 31 p.ov. auf, ein weiterer Fruchttod konnte danach am Tag 34 p.ov. erst nach Zweitmedikation beobachtet werden, wobei an diesem Tag auch die Intensität der Farbigkeit erstmals nennenswert abnahm. Die dopplersonographischen und histologischen Befunde der Hündin C3 geben Anlass zu der Vermutung, dass neben der speziestypischen relativen Unempfänglichkeit für die Wirkung des $PGF_{2\alpha}$ (LEIN et al. 1989) auch Unterschiede innerhalb der Individuen eine Rolle spielen. Weiterführende mikroskopische Untersuchungen auf einen unterschiedlichen Grad ischämischer Schädigungen bei den Hündinnen der Gruppe C könnten diese Vermutung bestätigen.
Histologisch befanden sich die Gelbkörper am Tag der OVH (C1 Tag 33 p.ov., C3 Tag 34 p.ov.) wie schon bei SHILLE et al. (1984) beschrieben in einem Zustand der fortgeschrittenen Regression. Nur vereinzelt war eine intakt erscheinende Zelle auszumachen. Insgesamt war das Zytoplasma der Luteinzellen stark vakuolisiert und grob granuliert. Fast alle Zellkerne wiesen Anzeichen des Untergangs auf, wobei sich die Gelbkörper der Hündin C1 in einem weiter fortgeschrittenen Stadium der Degeneration befanden als die der Hündin C3.

Bei beiden Tieren wiesen nur vereinzelte Luteinzellen eine positive **Immunreaktion** für 3-β-HSD und Relaxin auf, wobei im rechten Ovar der Hündin C3, die im rechten Uterushorn zum Zeitpunkt der Ovariohysterektomie zwei intakte Fruchtkammern und im linken Horn eine Resorption und eine frisch abgestorbene Fruchtkammer aufwies, die meisten positiven Signale zu erkennen waren. Die immunhistologischen 3-β-HSD-Befunde zeigen somit in Verbindung mit den drastisch abgefallenen Progesteronkonzentrationen eine kaum noch bis nicht mehr vorhandene Progesteronsekretion. Analog zu den Hündinnen der Gruppe A blieb auch bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Tieren, wie schon bei EINSPANIER et al. (2002) beobachtet, die periphere **Relaxinkonzentration** trotz einsetzender Fruchttode und -resorptionen konstant und fiel in der ersten Trächtigkeit erst nach Verlust der letzten Frucht ab. Dagegen konnte durch immunhistologischen Nachweis ovarialen Relaxins nachgewiesen werden, dass die Gelbkörper bereits wenige Tage nach Beginn der Cloprostenol- und Cabergolin-Behandlung kaum noch Relaxin produzierten und somit allenfalls eine verschwindend geringe Menge zu dem in der Blutzirkulation gemessenen Relaxin beigesteuert haben können.
Ein großer Anteil der in der H.-E.-Färbung deutlich pyknotischen Luteinzellkerne waren bei beiden Hündinnen Nekrose-positiv. Ferner waren die Kerne zahlreicher Endothelzellen positiv. Im Vergleich zu den Kontrollhündinnen wurden weniger Apoptose-positive Endothelzellkerne gefunden. Auffallend ist hier die im Vergleich zu den Hündinnen der Gruppe A gesteigerte Anzahl neu aufgetretener Zellkerne in der Nachbarschaft der Gefäße. DORE (1989) beschreibt in den Gelbkörpern von Hündinnen in der fortgeschrittenen Regression ein vermehrtes Auftreten von Makrophagen, die sich zu Riesenzellen zusammenschließen. Somit bleibt zu klären, ob es sich bei den in der vorliegenden Studie beobachteten Infiltraten möglicherweise um Zellen des immunologischen Systems wie Makrophagen und Lymphozyten handelt, die ähnlich wie bei der physiologischen Gelbkörperregression über den Blutweg antransportiert wurden, um den vermehrten Zelldetritus zu phagozytieren, oder ob die Kerne anderen Zellen zuzuordnen sind.
Das Ovar unterliegt auch unter physiologischen Bedingungen zyklischen Umbauvorgängen, deren periodische Durchblutungsdynamik durch ein Wechselspiel zwischen angiogenetischen und angiostatischen Faktoren sowie vasoaktiven Mediatoren reguliert wird (REYNOLDS et al. 1992). Die präpartale Luteolyse wird einer plazentären Ausschüttung von $PGF_{2\alpha}$ zugeschrieben (OKKENS et al. 1985; CONCANNON et al. 1988; HOFFMANN et al. 1996).

Der in diesem Zusammenhang von WILTBANK et al. (1990) und ROMAGNOLI et al. (1993) beschriebene vasokonstriktorische Effekt scheint sich durch die in der vorliegenden Studie erhobenen Befunde der dopplersonographischen Untersuchungen zu bestätigen, welche an die Ergebnisse von KÖSTER et al. (2001) anknüpfen. Eine durch die Ischämie hervorgerufene nutritive Unterversorgung könnte auch für die nekrotischen Veränderungen der Lutein- und Endothelzellen verantwortlich sein, wohingegen eine damit einhergehende verminderte luteotrope Stimulation eine Erklärung für das Einsetzen endogener degenerativer Mechanismen bedeuten könnte. Weiterführende Untersuchung des ovarialen Gefäßsystems und detailliertere Erkenntnisse über die Veränderungen angiogenetischer Faktoren könnten die Hypothese einer durch Ischämie hervorgerufenen Nekrose der Lutein- und Endothelzellen untermauern.

4.8. Zusammenfassende Schlussbetrachtung des aktuellen Kenntnisstandes über die canine Luteolyse

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie haben gezeigt, dass die Luteolyse beim Hund sowohl im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression als auch im Zuge medikamentöser Induktion auch mit nekrotischen Veränderungen einher zu gehen scheint.
In allen drei Gruppen wurde eine Nekrose der Lutein- und Endothelzellkerne nachgewiesen, wobei die Anzahl der Nekrose-positiven Zellkerne in der Kontrollgruppe am geringsten war, gefolgt von den mit Aglepristone und den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen. Bei allen Tieren waren Apoptose-positive Endothelzellkerne gleichermaßen vereinzelt zu finden. Auffallend ist, dass in den in dieser Studie untersuchten Gelbkörpern weder mit der Annexin-V-, noch mit der TUNEL-Methode Luteinzellen dargestellt werden, die als deutlich Apoptose-positiv einzustufen waren. Auch im Gelbkörper zyklischer Hündinnen konnten SONNACK et al. (2003) mit der TUNEL-Methode keine Apoptosen nachweisen. Als Ursache für das Fehlschlagen einer deutlichen Reaktion könnte, wie auch im Falle der o. g. Progesteronrezeptoren, eine für die angewandten Methoden zu lange Fixation der Organe in 4%igem gepufferten Formalin in Frage kommen, die möglicherweise auf eine Empfindlichkeit des Gewebes gegenüber längerer Fixierung hindeutet, die in folgenden ähnlichen Untersuchungen berücksichtigt werden sollte.

Bei längerer Fixierungsdauer werden zelluläre Proteinstrukturen stark vernetzt, so dass die nachzuweisenden Komponenten durch die üblichen Demaskierungsmethoden für die Nachweisreagenzien unzugänglich werden (NOLL u. SCHAUB-KUHNEN 2000) und möglicherweise ein zu schwaches oder falsch-negatives Signal resultiert.

Hingegen konnten AIUDI et al. (2004) mittels DNA-laddering und Gel-Elektrophorese sowohl bei zyklischen, als auch bei tragenden und mit $PGF_{2\alpha}$ behandelten Hündinnen eine apoptosebedingte DNA-Fragmentierung in Corpora lutea verschiedener Gelbkörperphasen auffinden, wobei sich die Anzahl apoptotischer Zellen im Laufe der Gelbkörperphase erhöhte und bei den mit $PGF_{2\alpha}$ behandelten Hündinnen höchste Werte beobachtet wurden, jedoch Angaben über die Verteilung lutealer und nicht lutealer Zellen (z. B. Endothelzellen) fehlen. Im Gegensatz dazu konnten SONNACK et al. (2003) mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen und dem Nachweis von Caspase-3, einem Effektor im apoptotischen Prozess, in Gelbkörpern ingravider Hündinnen erst ab Tag 60 p.ov. erste Anzeichen apoptotischer Veränderungen der Luteinzellen nachweisen. Diese divergenten Ergebnisse beruhen wahrscheinlich auf den unterschiedlichen Untersuchungsmethoden und untermauern die Relevanz weiterer Studien.

SPERANDIO et al. (2000) sind der Ansicht, dass eine Unterteilung von Zelltod in Apoptose und Nekrose nicht ausreicht, um alle Formen des Zellunterganges exakt zuzuordnen. So fanden sie im Zentralen Nervensystem Zellen, die Merkmale sowohl von Apoptose als auch von Nekrose aufwiesen, jedoch keiner Zelluntergangsform eindeutig zugeordnet werden konnten. Sie nannten diese Form des Zelltodes wegen seiner Ähnlichkeit mit der Apoptose *Paraptose* und vermuten neben der Apoptose eine Form des nichtapoptotischen, aber trotzdem programmierten Zelltodes, der durch unterschiedliche Mechanismen reguliert wird.

Die Anwesenheit apoptotischer Luteinzellen im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression ist auch bei Schaf (KENNY et al. 1994), Rind (JUENGEL et al. 1993; ZHENG et al. 1994), Pferd (AL-ZI'ABI et al. 2002), Ratte (BRUCE et al. 2001), Hase (DHARMARAJAN et al. 1994) und Hamster (McCORMACK et al. 1998) erwiesen. Die Behandlung des Weißbüschelaffen (YOUNG et al. 1997), der Ratte (BOONE u. TSANG 1998; WANG et al. 2003) und des Schafs (RUEDA et al. 1995) mit $PGF_{2\alpha}$, und die Gabe eines Antiprogestins bei der Ratte (TELLERIA et al. 2001) führt zu einer Zunahme apoptotischer Luteinzellen.

Dagegen wurden bei Stuten (AL-ZI'ABI et al. 2002) und Weißbüschelaffen während der natürlichen Gelbkörperregression und auch nach einer Behandlung mit $PGF_{2\alpha}$ (FRASER et al. 1999) Luteinzellen aufgefunden, die nicht den Kriterien des apoptotischen Zelltodes entsprachen und morphologisch den von SPERANDIO et al. (2000) und in der vorliegenden Arbeit beim Hund beschriebenen Zellen ähnelten. Sie wurden als stark vakuolisiert und mit teilweise intakt erscheinendem Zellkern beschrieben und als eine vermutlich bislang unbekannte Form des Zelluntergangs charakterisiert (FRASER et al. 1999). Während die Form des mit $PGF_{2\alpha}$ provozierten Zelluntergangs bei Schafen (SAWYER et al. 1990) und Kühen (JUENGEL et al. 1993) dem der natürlichen Regression ähnelt, findet sich bei Weißbüschelaffen (FRASER et al. 1999) ein divergentes Bild. Speziesunterschiede werden dadurch erklärt, dass die luteale Regression einiger Spezies physiologischerweise durch $PGF_{2\alpha}$ uteriner (Schaf, Rind) bzw. ovarialer Herkunft (Primaten) ausgelöst wird (McCRACKEN et al. 1999). Dieser Zusammenhang besteht bei der ingraviden Hündin jedoch nicht.

Die Gelbkörper der in der vorliegenden Studie untersuchten Kontrollhündinnen befanden sich im Stadium der beginnenden Gelbkörperregression, definiert nach ANDERSEN und SIMPSON (1973). Inwiefern sich die Anzahl apoptotischer und/oder nekrotischer Luteal- und Endothelzellen in der fortgeschrittenen Gelbkörperregression des Hundes erhöht, muss in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Gelbkörperzellen in verschiedenen Stadien der natürlichen und induzierten Regression könnten zur Charakterisierung der bei der Hündin vorliegenden Form des Zelluntergangs beitragen.

Beim Schaf geht die natürliche Luteolyse mit einem apoptosebedingten Untergang der lutealen Endothelzellen einher (SAWYER et al. 1990). Dagegen wurde beim Weißbüschelaffen, wie in der hier vorliegenden Studie beim Hund, kein massiver apoptotischer Tod der Endothelzellen nachgewiesen (FRASER et al. 1999). Eine Studie an regressiven bovinen Gelbkörpern zeigte, dass sich die meisten Endothelzellen schon vor Einsetzen apoptotischer Veränderungen von ihrer Basalmembran lösen und mit dem Blutstrom abtransportiert werden (MODLICH et al. 1996). Ähnliche Vorgänge könnten den beim Hund erhobenen Befunden zugrunde liegen.

Beide hier verwendeten Behandlungen führten in unterschiedlicher Ausprägung zu degenerativen Veränderungen im lutealen Gewebe. Während $PGF_{2\alpha}$ einen direkten luteolytischen Effekt ausübt, der durch ein annähernd synchrones Einsetzen der strukturellen und funktionellen Luteolyse gekennzeichnet ist, findet die funktionelle Luteolyse beim Einsatz von Aglepristone mit einer zeitlichen Verzögerung zur strukturellen Degeneration des Gelbkörpergewebes statt. Dennoch sind, wie vor allem bei Hündin A1 erkennbar, degenerierende Luteinzellen noch für einige Zeit in der Lage, die für die Aufrechterhaltung der Trächtigkeit erforderliche Progesteronproduktion zu gewährleisten. Im Rahmen des provozierten Zelltodes durch irreversible Stoffwechselstörungen beginnt die letale Zellschädigung, je nach Art der Noxe, mit frustranen Proliferationsvorgängen und anderen adaptiven Zellveränderungen (RIEDE 1995). Ob und in welcher Weise derartige Kompensationsmechanismen die Progesteronsekretion der degenerierenden Luteinzelle sicherstellen, muss elektronenmikroskopischen Studien vorbehalten bleiben.

Bei allen degenerativ veränderten Luteinzellen schien die Lyse von der Zellperipherie auszugehen und von einer Destabilisierung des Zytoskeletts begleitet zu sein. Daher bleibt fraglich, ob der Zelluntergang bei den drei Gruppen, begleitend oder ausschließlich, durch eine toxinartige Wirkung, möglicherweise durch die Ausschüttung endogener Enzyme, ausgelöst worden ist.

Im Falle der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen konnte die Beteiligung vasokonstriktiver Einflüsse an der Luteolyse dopplersonographisch erfasst werden. Der immunhistologische Nachweis wahrscheinlich durch ischämische Prozesse bedingter nekrotischer Lutein- und Endothelzellen unterstützt somit die Vermutungen anderer Autoren (PHARRISS et al. 1971; SHILLE et al. 1984; KÖSTER et al. 2001). Dem Vorkommen apoptotischer Endothelzellen und dem Grad der Gefäßschädigung muss in weiterführenden Untersuchungen nachgegangen werden.

Nach neueren Erkenntnissen von BEINDORFF et al. (2001) und VERHAGEN (2002) sollte dem Relaxin und seinen ovarialen Rezeptoren beim Hund in Hinblick auf eine mögliche luteotrope Funktion besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Erste diesbezügliche Hinweise sind bei den mit Antiprogestin behandelten Hündinnen abzuleiten, bei denen Progesteronabfall und Grad der Luteolyse mit fortschreitendem Fruchtverlust und Absinken der peripheren Konzentration des beim Hund vor allem im Synzytiotrophoblasten produzierten Relaxins einher zu gehen scheinen (STEINETZ et al. 1989; STEWART et al. 1992; KLONISCH et al. 1999).

Die divergenten histologischen und immunhistologischen Befunde an den Gelbkörpern des rechten bzw. linken Ovars der Hunde K1, A1, A2 und C3 geben auch bei dieser Spezies erste Hinweise auf eine mögliche Beeinflussung der lutealen Beschaffenheit durch gleichseitige uterine Faktoren. Bei Rind, Schwein und Schaf wurde ein direktes, lokales arterio-venöses Gegenstromprinzip („counter-current transfer“) nachgewiesen, über welches biologisch wirksame Stoffe des Uterus zwischen V. uterina und A. ovarica ausgetauscht werden können, die somit die ovarialen Funktionen beeinflussen (BAIRD 1987; KRZYMOWSKI et al. 1982, 1990). Bei diesen Tierarten ist unter anderem der Transfer von $PGF_{2\alpha}$ (McCRACKEN et al. 1972; McCRACKEN 1980; GUTHRIE u. REXROAD 1981; ZÖTTL 1988; CLAUS 1990; KRZYMOWSKI et al. 1990; HAFEZ 1993), Estradiol-17β und Progesteron (KRZYMOWSKI et al. 1981) erwiesen. So gelangt endometriales $PGF_{2\alpha}$ durch direkte lokale Passage der Wand der V. utero-ovarica in die A. ovarica und bewirkt beim Schaf Luteolyse (McCRACKEN et al. 1972; McCRACKEN 1980), während es beim Schwein gemeinsam mit dem ovarial gebildeten $PGF_{2\alpha}$ die Ovulation unterstützt (CLAUS et al. 1987; ZÖTTL 1988; CLAUS 1990; WEILER u. CLAUS 1991). Auch bei Meerschweinchen, Ratte und Hamster besteht aufgrund der Nähe sowie der Anastomosierung uteriner und ovarialer Gefäße offensichtlich die Möglichkeit eines direkten, unilateralen uterolutealen Transportmechanismus für Substanzen, die zur Regression des gleichseitigen Gelbkörpergewebes führen (DEL CAMPO u. GINTHER 1972).

Beim Pferd gelangt uterines $PGF_{2\alpha}$ offensichtlich ausschließlich über die systemische Zirkulation zum Ovar. Ein lokaler utero-ovarialer Transportmechanismus wurde hier bislang nicht nachgewiesen (GINTHER u. FIRST 1971; DEL CAMPO u. GINTHER 1973; GINTHER 1992; HAFEZ 1993).

Im Unterschied zu der arterio-venösen Gefäßkopplung bei Rind, Schaf und Schwein, bei denen die A. ovarica in gewundenem, engen Kontakt in einem Gefäßgeflecht zu den utero-ovarialen Venen verläuft, ist der Verlauf der ovarialen Arterien bei der Stute nicht in engerer, ausgeprägter Verflechtung zu den Uterusvenen lokalisiert, womit nur begrenzte Möglichkeiten für den Transport luteolytischer Substanzen zwischen Uterushorn und gleichseitigem Ovar möglich sind (GINTHER et al. 1972; DEL CAMPO u. GINTHER 1973; GINTHER 1974; GINTHER u. DEL CAMPO 1974). Bei der Hündin besteht trotz wenig ausgeprägter Anastomosen zwischen Uterus- und Ovargefäßen aufgrund der Nähe und der breiten Kontaktflächen zwischen Arterien und Venen in Ovarnähe die anatomische Voraussetzung für einen venoarteriellen Transportmechanismus (DEL CAMPO u. GINTHER 1974). Zudem wiesen GERBER et al. (1979) im Uterusvenenblut von Hündinnen in der späten Gravidität Prostaglandin E_2, und CONCANNON et al. (1988) $PGF_{2\alpha}$-Metaboliten in hoher Konzentration nach, denen durchaus eine biologische Wirkung zukommen könnte. GINTHER und FIRST (1971) haben gezeigt, dass beim Pferd die Lebensdauer des gleichseitigen Corpus luteum durch Entfernung des ipsilateralen Uterushorns nicht verlängert wird. Mit Hilfe ähnlicher Versuchsanordnungen könnte unter Einbeziehung histologischer und immunhistologischer Untersuchungen des ipsi- und contralateralen Ovars auch bei der Hündin der Frage nach einem lokalen Stoffaustausch zwischen Uterus und Ovar nachgegangen werden.

Der komplette oder partielle Fruchtverlust geht bei der caninen Gelbkörperinsuffizienz, ähnlich wie bei einem durch $PGF_{2\alpha}$ herbeigeführten Trächtigkeitsabbruch, mit einem oftmals dramatischen Absinken der Progesteronkonzentration einher (SOKOLOWSKI 1971; PURSWELL 1992; GÜNZEL-APEL et al. 2003). Die Befunde der mit Aglepristone behandelten Tiere geben darüberhinaus wertvolle Hinweise auf die Existenz indirekter Einflüsse auf die canine Gelbkörperfunktion und tragen somit zum Verständnis der ovarialen und uterinen Funktionsmechanismen in der caninen Trächtigkeit bei.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die physiologische sowie die medikamentös gestörte Gelbkörperfunktion tragender Beaglehündinnen mit Hilfe endokrinologischer, dopplersonographischer, histologischer, immunhistologischer und biochemischer Methoden untersucht.

Dazu wurden acht institutseigene Hündinnen in drei Gruppen unterteilt und in zwei aufeinander folgenden Trächtigkeiten untersucht. In der Kontrollgruppe (n = 2, K1 und K2) erfolgte keine Medikation. Die Hündinnen der Gruppe A (n = 3, A1 bis A3) wurden an den Tagen 24 und 25 p.ov. mit je 10 mg/kg s.c. des Antigestagens Aglepristone (Alizine®, Fa. Hoechst Roussel Vet, Carros, Frankreich) behandelt. Am Tag 36 und 37 p.ov. der ersten Trächtigkeit erfolgte die Wiederholung der Aglepristone-Gabe, da bis dahin eine bis mehrere Früchte nicht abgestorben waren. Dasselbe war bei der Hündin A3 in der zweiten Trächtigkeit am Tag 31 p.ov. der Fall.

Die Hündinnen der Gruppe C (n = 3, C1 bis C3) erhielten am Tag 24 und 27 p.ov. 1 µg/kg s.c. des $PGF_{2\alpha}$-Analogons Cloprostenol (Estrumate®, Fa. Essex Tierarznei, München) in Kombination mit dem Prolaktinhemmer Cabergolin (Galastop®, Fa. CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf) in der Dosierung 5 µg/kg p.os. täglich von Tag 24 bis 30 p.ov. Die Hündinnen C1 und C2 wurden in der ersten Trächtigkeit erneut am Tag 36 p.ov. mit Cloprostenol und am Tag 36 und 37 p.ov. mit Cabergolin behandelt, um den vollständigen Trächtigkeitsabbruch herbeizuführen. Ebenso wurde bei den Hündinnen C1 und C3 in der zweiten Trächtigkeit vom Tag 31 p.ov. bis zur Ovariohysterektomie verfahren.

Während der Trächtigkeiten erfolgten Verlaufskontrollen der peripheren Konzentrationen von Estradiol-17β, Progesteron und Relaxin sowie mit Hilfe der farbkodierten und gepulsten Dopplersonographie der Durchblutung der stromalen ovarialen Arterien. Nach Ovariohysterektomie zwischen Tag 30 und 34 p.ov. wurden die Ovarien mittels histologischer, immunhistologischer und biochemischer Verfahren untersucht.

Die Estradiol-17-β-Konzentrationen nahmen bei allen Hündinnen einen ähnlichen Verlauf. Eine Reaktion auf Medikation oder Fruchttod war nicht zu erkennen.

Bei allen Hündinnen stieg die Progesteronkonzentration nach der Ovulation steil an und blieb bis zum Medikationsbeginn auf hohem Niveau.

Während die Progesteronwerte bei den Kontrollhündinnen bis zur Mitte der Lutealphase hoch blieben und danach bis zur Geburt langsam absanken, war bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen in Koinzidenz mit dem Verlust der letzten Frucht eine deutliche Abnahme der Progesteronkonzentration zu verzeichnen. Alle drei mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen zeigten bereits einen Tag nach Medikationsbeginn einen steilen Abfall der Progesteronkonzentration. Eine komplette Luteolyse wurde jedoch nur bei zwei der drei Hündinnen im Zuge der Wiederholungsbehandlung erreicht.

Die Relaxin-Einzelwerte wiesen starke intraindividuelle Schwankungen auf. Die Kontrollhündinnen zeigten im Verlauf der ersten Trächtigkeit einen konstanten Anstieg der Relaxinkonzentration und warfen bei hohen Werten. Bei keiner der mit Aglepristone oder Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen war anhand der Relaxinkonzentration eine unmittelbare Reaktion auf die Medikation zu beobachten, jedoch fielen die Werte in Koinzidenz mit dem Absinken der Progesteronkonzentration und dem Absterben der letzten Frucht steil ab.

Kurz nach der Ovulation wiesen die stromalen ovarialen Arterien maximale Farbigkeit und hohe Blutflussgeschwindigkeiten bei niedrigen PI- und RI- Werten auf. In der Folge setzte eine allmähliche Reduktion der ovarialen Farbigkeit und der Strömungsgeschwindigkeiten bei Zunahme der Indizes PI und RI ein, die bei den Kontrollhündinnen im weiteren Verlauf der Gelbkörperphase bis zur Geburt voranschritt. Die Abnahme der Farbigkeit und der Blutflussgeschwindigkeiten schien bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen nach dem Verlust der letzten Früchte schneller zu erfolgen. Der relative Anstieg von PI und RI fand bei den mit Aglepristone behandelten Hündinnen fünf bis zehn Tage früher als bei den Kontrolltieren statt. Bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen wurde bereits zwei bis vier Tage nach Medikationsbeginn eine deutliche Reduktion der ovarialen Durchblutung, begleitet von abnehmenden Blutflussgeschwindigkeiten, beobachtet. Die Indizes PI und RI fielen in der späten Lutealphase höher aus als bei den Kontrolltieren und der Aglepristone-Gruppe.

Histologisch erschienen die Gelbkörper der Kontrollhündinnen am Tag der Ovariohysterektomie (Tag 31 bzw. 30 p.ov.) größtenteils intakt, während sich die Gelbkörper der mit Aglepristone behandelten Hündinnen (Tag 32, 30 bzw. 33 p.ov.) im Stadium der frühen bis mittleren Regression befanden und starke individuelle Unterschiede aufwiesen. Die Gelbkörper der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen (Tag 33 bzw. 34 p.ov.) zeigten das stärkste Ausmaß der Degeneration. Die Befunde der immunhistologischen Untersuchungen (3-β-HSD, Relaxin) korrelierten mit den histologischen Ergebnissen.

Bei den Kontrollhündinnen waren nur vereinzelte Luteinzellen Nekrose-positiv. Einzelne Endothelzellkerne zeigten eine kräftige Fluoreszenz und waren sowohl Nekrose-, als auch in geringerem Maße Apoptose-positiv. Die Lutein- und Endothelzellen der mit Aglepristone behandelten Hündinnen wiesen mehr positive Reaktionen für Nekrose auf. Bei den mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Tieren waren mehr Lutein- und Endothelzellkerne Nekrose-positiv als bei der Aglepristone-Gruppe. Die Anzahl Apoptose-positiver Endothelzellen entsprach in beiden Medikationsgruppen den Verhältnisse der Kontrolltiere.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass der Fruchtverlust bei einem durch $PGF_{2\alpha}$ herbeigeführten Trächtigkeitsabbruch mit einer funktionalen und strukturellen Luteolyse und einem Absinken der ovarialen Durchblutung einhergeht. Die Befunde der mit Aglepristone behandelten Tiere geben darüberhinaus wertvolle Hinweise auf die Existenz indirekter Einflüsse auf die canine Gelbkörperfunktion und liefern die Grundlage für künftige Untersuchungen hinsichtlich der Funktionsmechanismen des Ovars in der Gravidität und der Pathogenese der Gelbkörperinsuffizienz.

6 SUMMARY

Tatjana Höftmann

Endocrinological, Doppler sonographical, histomorphological and immunohistochemical investigations on physiology and pathology of luteal function in the pregnant bitch

In the present study the physiological and medicamentally impaired luteal function of pregnant beagle bitches was investigated by endocrinological, Doppler sonographical, histomorphological, immunohistochemical and biochemical methods.

Eight bitches were divided into three groups and examined in two subsequent gestations. The two bitches of group K (K1 and K2) were not treated. The bitches of group A (n = 3, A1-A3) were injected 10 mg/kg bodyweight of the antigestagene aglepristone (Alizine®, Hoechst Roussel Vet, Carros, France) s.c. at days 24 and 25 after ovulation. The treatment was repeated in all bitches at days 36 and 37 of the first pregnancy, because one or more conceptuses were still intact after the first treatment. In the second gestation, bitch A3 was given aglepristone again at day 31 after ovulation for the same reason.

The bitches of group C (n = 3, C1-C3) received 1 µg/kg bodyweight of the prostaglandin $F_{2\alpha}$-analogue cloprostenol (Estrumate®, Essex Tierarznei, Munich) s.c. at days 24 and 27 after ovulation, combined with the prolactin-antagonist cabergoline (Galastop®, CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf) at a dosage of 5 µg/kg bodyweight orally daily from day 24 to 30 after ovulation. Bitches C1 and C2 had to be further treated with cloprostenol on day 36 after ovulation and cabergoline from day 36 to 37 after ovulation for complete pregnancy termination. In the second pregnancy bitches C1 and C3 received cloprostenol at day 31 and cabergoline from day 31 after ovulation until ovariohysterectomy for the same reason.

Patterns of estradiol-17β, progesterone and relaxin were monitored and the changes in ovarian arterial blood flow were investigated by colour coded and pulsed Doppler ultrasound. After ovariohysterectomy, performed between days 30 and 34 of the second pregnancy, the ovaries were examined histomorphologically, immunohistochemically and biochemically.

The concentrations of estradiol-17β were similar in all bitches, not showing any reaction on either medication or death of the conceptuses. The progesterone concentration rose sharply after ovulation and remained at a high level until the start of treatment.

While in control bitches progesterone concentrations remained high until mid luteal phase and then declined slowly until whelping, the aglepristone-treated bitches showed a distinct decrease in progesterone concentration coinciding with death of the last fetus. All bitches of group C showed a marked drop in progesterone concentration one day after the onset of cloprostenol/cabergoline treatment. In two of the three bitches, complete luteolysis could be obtained with further treatment.

Relaxin concentrations varied strongly within bitches. The control bitches showed a constant rise in relaxin concentration during progressing gestation and whelped at high relaxin concentrations. No direct changes in relaxin values were observed either in the aglepristone or cloprostenol/cabergoline treated bitches, but relaxin concentrations dropped as sharply as progesterone concentrations coinciding with death of the last fetuses.

The ovaries of the control bitches showed maximum colour staining immediately after ovulation, accompanied by highest blood flow velocities and low PI and RI, followed by a gradual decrease in blood flow during the subsequent luteal phase until whelping. The reduction of blood flow seemed to progress more rapidly in the aglepristone-treated bitches. The relative increase of PI and RI occurred five to ten days earlier than in control group. Bitches treated with cloprostenol/cabergoline showed a distinct reduction of ovarian perfusion and blood flow velocities within 2-4 days after the onset of medication. In the late luteal phase PI and RI were higher than in the control group or group A.

At ovariohysterectomy, the corpora lutea of the control bitches (day 31/30 after ovulation) were histomorphologically intact to a large extent, while those of the aglepristone-treated group (day 32/30/33 after ovulation) were in different stages of early to mid-regression and showed marked individual differences. The corpora lutea of the bitches treated with cloprostenol/cabergoline (day 33/34 after ovulation) showed the highest degree of degeneration. The immunohistochemical findings regarding 3-β-HSD and relaxin correlated with the histomorphological results. In control bitches, few luteal cells were positive for necrosis. Isolated endothelial cells were positive for necrosis and, in a smaller number, for apoptosis. The luteal and endothelial cells of the aglepristone-treated bitches showed more positive staining for necrosis. In the ovaries of the bitches treated with cloprostenol/cabergoline more luteal and endothelial cells showed positive staining for necrosis as in group A. The number of endothelial cells with positive staining for apoptosis was about the same in both treatment groups as in the controls.

The results of the present study show that in case of a $PGF_{2\alpha}$-induced termination of pregnancy, loss of conceptuses is accompanied by functional and structural luteolysis and a drop in ovarian perfusion. Furthermore the findings of the aglepristone-treated bitches support the possibility of indirect control mechanisms on corpus luteum function and serve as the basis for further studies on canine luteal insufficiency.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ACOSTA T.J., K.G. HAYASHI, M. OHTANI u. A. MIYAMOTO (2003):
Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows.
Reproduction 125, 759-767

ACOSTA, T.J., N. YOSHIZAWA, M. OHTANI u. A. MIYAMOTO (2002):
Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F (2 alpha) injection in the cow.
Biol. Reprod. 66, 651-658

ADAMS, E.C. u. A.T. HERTIG (1969):
Studies on the human corpus luteum. Observations on the ultrastructure of development and regression of the luteal cells during the menstrual cycle.
J. Cell. Biol. 41, 696-715

AGRAWAL, P. u. M.M. LALORAYA (1978):
Comparative histochemical study of the enzyme changes in the ovary and uterus of mammals with special references to steroidogenesis.
Acta Anat. (Basel) 102, 276-293

AIUDI, G., M. ALBRIZIO, M. CAIRA u. M. CINONE (2004):
Apoptosis in bitch corpus luteum during spontaneous and prostaglandin induced luteal regression.
5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Aug. 4-6, 2004, Sao Paulo, Brazil, Abstract Book S. 158-160

ALCAZAR, J.L., M.J. GALAN, C. CEAMANOS u. M. GARCIA-MANERO (2003):
Transvaginal grey scale and colour Doppler sonography in primary ovarian cancer and metastatic tumors of the ovary.
J. Ultrasound Med. 22, 243-247

ALI, S.M., J.P. McMURTY, C.A. BAGNELL u. G.D. BRYANT-GREENWOOD (1986):
Immunocytochemical localization of relaxin in corpora lutea of sows throughout the estrous cycle.
Biol. Reprod. 34, 139-143

ALILA, H.W. u. W. HANSEL (1984):
Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies.
Biol. Reprod. 31, 1015-1025

AL-ZI'ABI, M.O., H.M. FRASER u. E.D. WATSON (2002):
Cell death during natural and induced luteal regression in mares.
Reproduction 123, 67-77

ANDERSEN, A.C. u. M.E. SIMPSON (1973):
The ovary and reproductive cycle of the dog (Beagle).
Verlag Geron-X Inc., Los Altos, California.

ANDERSON, L.L., K.P. BLAND u. R.M. MELAMPY (1969):
Comparative aspects of uterine-luteal relationships.
Rec. Prog. Horm. Res. 25, 57-104

ANDERSON, M.B. u. O.D. SHERWOOD (1984):
Ultrastructural localization of relaxin immunoreactivity in corpora lutea of pregnant rats.
Endocrinology 114, 1124-1127

ANDERSON, M.B., M.R. VAUPEL u. O.D. SHERWOOD (1984):
Pregnant mouse corpora lutea: immunocytochemical localization of relaxin and ultrastructure.
Biol. Reprod. 31, 391-397

ARAKAWA, S., A. KAMBEGAWA, S. OKINAGA u. K. ARAI (1990):
Luteolytic effect of the antiprogestin and antiglucocorticoid agent RU 486 in rats.
J. Steroid. Biochem. 14, 479-483

ARKARAVICHIEN, W. u. K.E. KENDLE (1992):
Uterine contractile activity in rats induced by mifepristone (RU 486) in relation to changes in concentrations of prostaglandins E-2 and F-2 alpha.
J. Reprod. Fertil. 94, 115-120

ARBEITER, K., W. BRASS, R. BALLABIO u. W. JÖCHLE (1988):
Treatment of pseudopregnancy in the bitch with cabergoline, an ergoline derivative.
J. Small Anim. Pract. 29, 781-788

ARFUSO, F. u. G.T. MEYER (2003):
Apoptosis does not affect the vasculature of the corpus luteum of pregnancy in the rat.
Apoptosis 8, 665-671

AUSTAD, R., A. LUNDE u. O.V. SJAASTAD (1976):
Peripheral plasma levels of oestradiol-17 beta and progesterone in the bitch during the oestrus cycle, in normal pregnancy and after dexamethasone treatment.
J. Reprod. Fertil. 46, 129-136

BAGNELL, C.A., E. AYAU, B.R. DOWNEY, B.K. TSANG u. L. AINSWORTH (1989):
Localization of relaxin during formation of the porcine corpus luteum.
Biol. Reprod. 40, 835-841

BAIN, P.A., M. YOO, T. CLARKE, S.H. HAMMOND u. A.H. PAYNE (1991):
Multiple forms of mouse 3β-hydroxysteroid dehydrogenase and differential expression in gonads, adrenal glands, liver and kidneys of both sexes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 8870-8875

BAIRD, D. T. (1987):
The Ovary.
In: C. R. AUSTIN u. R. V. SHORT (Hrsg.): Reproduction in mammals. Hormonal control of reproduction. 2nd Ed.
Cambridge University Press, Cambridge, book 3, S. 91-115

BALAPURE, A.K., I.C. CAICEDO, K. KAMADA, D.S. WATT, C.E. REXROAD Jr. u. T.A. FITZ (1989):
Multiple classes of prostaglandin $F_{2\alpha}$ binding sites in subpopulations of ovine luteal cells.
Biol. Reprod. 41, 385-392

BARTSCH, O., B. BARTLICK u. R. IVELL (2001):
Relaxin signalling links tyrosine phosphorylation to phosphodiesterase and adenylyl cyclase activity.
Mol. Hum. Reprod. 7, 799-809

BASSET, D.L. (1943):
The changes in the vascular pattern of the ovary of the albino rat during the estrous cycle.
Am. J. Anat. 73, 251-291

BEAVIS, E.L.G., J.B. BROWN u. M.A. SMITH (1969):
Ovarian function after hysterectomy with conservation of the ovaries in premenopausal women.
J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw. 76, 969-978

BEHRENDS, C., J.E. AURICH, E. KLUG, H. NAUMANN u. H.-O. HOPPEN (1993):
Inhibition of gonadotropin release in mares during the luteal phase of the oestrous cycle by endogenous opioids.
J. Reprod. Fertil. 98, 509-514

BEHRMAN, H.R. (1979):
Prostaglandins in hypothalamo-pituitary and ovarian function.
An. Rev. Physiol. 41, 685-700

BEINDORFF, N., S. VERHAGEN u. A. EINSPANIER (2001):
Luteotrophic support by relaxin: a dose- and time-related process.
34th annual meeting of physiology and pathology of reproduction and 26th veterinary and human medicine meeting, Feb. 22-23, 2001, Gießen

BELFIORE, C.J., D.E. HAWKINS, M.C. WILTBANK u. G.D. NISWENDER (1994):
Regulation of cytochrome P450 and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, delta 5-4 isomerase messenger ribonucleic acids in the primate corpus luteum.
J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 51, 283-290

BELING, C.G., S.L. MARCUS u. S.M. MARKHAM (1970):
Functional activity of the corpus luteum following hysterectomy.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 30, 30-39

BENYO, D.F. u. J.L. PATE (1992):
Tumor necrosis factor alpha alters bovine luteal cell synthetic capacity and viability.
Endocrinology 130, 854-960

BHAL, P.S., N.D. PUGH, D.K. CHUI, L. GREGORY, S.M WALKER u. R.W. SHAW (1999):
The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles.
Hum. Reprod. 14, 939-945

BIRKEDAL-HANSEN, H. (1995):
Matrix metalloproteinases.
Adv. Dent. Res. 9, 16

BJURULF, E. u. G. SELSTAM (1996):
Rat luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acid expression and luteolysis: Inhibition by Prostaglandin F2α.
Biol. Reprod. 54, 1350-1355

BOJAR, H. (1988):
Rezeptortheorie, Rezeptoranalytik, Möglichkeit der Therapie von Tumoren mit Steroidhormonen.
Mta 3, 3-10

BOLLWEIN H., R. MAYER, F. WEBER u. R. STOLLA (2002a):
Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares.
Theriogenology 57, 2129-2138

BOLLWEIN H., F. WEBER, B. KOLBERG u. R. STOLLA (2002b):
Luteal blood flow during the estrous cycle in mares.
Theriogenology 57, 2043-2051

BOONE, D.L. u. B.K. TSANG (1998):
Caspase-3 in the rat ovary: Localization and possible role in follicular atresia and luteal regression.
Biol. Reprod. 58, 1533-1539

BOYD, J.S., J.P. RENTON, M.J. HARVEY, D. NIXON, P.D. ECKERSALL u. J.M. FERGUSON (1993):
Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 101-105

BRANNSTRÖM, M., U. ZACKRISSON, H.-G. HAGSTROM, B. JOSEFSSON, R. HELLBERG, S. GRANBERG, W.P. COLLINS u. T. BOPURNE (1998):
Preovulatory changes of blood flow in the different regions of the human follicle.
Fertil. Steril. 69, 435-442

BRASS, W. (1999):
Ovariohysterektomie.
In: SCHEBITZ, H. u. W. BRASS (Hrsg.): Operationen an Hund und Katze. 2. Aufl.
Parey Buchverlag Berlin, S. 274-275

BROWN, B.W., M.J. EMERY u. P.E. MATTNER (1980):
Ovarian arterial blood velocity measured with Doppler ultrasonic transducers in conscious ewes.
J. Reprod. Fertil. 58, 295-300

BROWN, D.L., P.M. DOUBILET, F.H. MILLER, M.C. FRATES, F.C. LAING, D.N. DISALVO, C.B. BENSON u. M.H. LERNER (1998):
Benign and malignant ovarian masses: selection of the most discriminating grey-scale and Doppler sonographic features.
Radiology 208, 103-110

BRUCE, N.W., S. HISHEH u. A.M. DHARMARAJAN (2001):
Patterns of apoptosis in the corpora lutea of the rat during the oestrus cycle, pregnancy and in vitro culture.
Reprod. Fertil. 13, 105-109

BÜLLESBACH, E.E. u. C. SCHWABE (1995):
A novel leydig cell cDNA-derived protein is a relaxin-like factor.
Biol. Chem. 270, 16011-16015

BUHR, M.M., J.C. CARLSON u. J.E. THOMPSON (1979):
A new perspective on the mechanism of corpus luteum regression.
Endocrinology 105, 1330-1335

BUNCK, C., H.R. FROIN u. A.-R. GÜNZEL-APEL (2002):
Erfahrungen mit einem kommerziellen Relaxin-Assay zum Trächtigkeitsnachweis beim Hund.
Kleintierpraxis 47, 1-60

BUSSE, R. (1997):
Gefäßsystem und Kreislaufregulation.
In: SCHMIDT, R.F. u. G. THEWS (Hrsg.): Physiologie des Menschen. 27. Aufl.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, S. 498-560

BUSSMANN, L.E. (1989):
Prostaglandin F-2 alpha receptors in corpora lutea of pregnant rats and relationship with induction of 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase.
J. Reprod. Fertil. 85, 331-341

BYGDEMAN, M., u. M.L. SWAHN (1985):
Progesterone receptor blockage. Effect on uterine contractility and early pregnancy.
Contraception 32, 45-51

BYGDEMAN, M., M.L. SWAHN, K. GEMZELL-DANIELSSON u. P. SVALANDER (1993):
Mode of action of RU 486.
Ann. Med. 25, 61-64

CAMPBELL, S., T.H. BOURNE, J. WATERSTONE, K.M REYNOLDS, T.J. CRAYFORD, D. JURKOVIC, E.V. OKOKON u. W.P. COLLINS (1993):
Transvaginal color blood flow imaging of the periovulatory follicle.
Fertil. Steril. 60, 433-438

CARMINA, E., A. LONGO, R.A. LOBO (2003):
Does ovarian blood flow distinguish between ovulatory and anovulatory patients with polycystic ovary syndrome?
Am. J. Obstet. Gynecol. 189, 1283-1286

CASTRACANE, V.D., G.T. MOORE u. A.A. SHAIKH (1979):
Ovarian function in hysterectomized Macaca fascicularis.
Biol. Reprod. 20, 462-472

CHAFFIN, C.L., G.A. DISSEN u. R.L. STOUFFER (2000):
Hormonal regulation of steroidogenic enzyme expression in granulosa cells during the periovulatory interval in monkeys.
Mol. Hum. Reprod. 6, 11-18

CHAKRABORTY, P.K. (1987):
Reproductive hormone concentrations during estrus, pregnancy and pseudopregnancy in the labrador bitch.
Theriogenology 36, 41-50

CHEN, G.A., J.R. HUANG u. L. TSENG (1998):
The effect of relaxin on cyclic adenosine 3',5'-monophosphate concentrations in human endometrial glandular epithelial cells.
Biol. Reprod. 39, 519-525

CHRISTENSON, L.K. u. L. DEVOTO (2003):
Cholesterol transport and steroidogenesis by the corpus luteum.
Reprod. Biol. Endocrinol. 1, 90

CLARK, B.J., J. WELLS, S.R. KING u. D.M. STOCCO (1994):
The purification, cloning and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse Leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulators protein (StAR).
J. Biol. Chem. 269, 28314-28322

CLARK, J.H., W.T. SCHRADER u. B.W. O'MALLEY (1992):
Mechanism of action of steroid hormones.
In: WILSON, J.D. u. D.W. FOSTER (Hrsg.): Williams Textbook of endocrinology.
Verlag W.B. Saunders, Philadelphia, S. 35-39

CLAUS, R. (1990):
Physiological role of seminal components in the reproductive tract of the female pig.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 40, 117-131

CLAUS, R., C. HOANG–VU, F. ELLENDORFF, H. D. MEYER, D. SCHOPPER u. U. WEILER (1987):
Seminal oestrogens in the boar: origin and functions in the sow.
J. Steroid. Biochem. 27, 331-335

CLINIPHARM (2003):
http://www.vetpharm.unizh.ch
Tierarzneimittelkompendium des Instituts für Veterinärpharmakologie und –toxikologie der Universität Zürich

COLLINS, W.P., D. JURKOVIC u. T.H. BOURNE (1991):
Ovarian morphology, endocrine function and intrafollicular blood flow during the periovulatory period.
Human Reprod. 6, 319

COMPTON, M.M. (1992):
A biochemical hallmark of apoptosis: internucleosomal degradation of the genome.
Canc. Metast. 11, 105-119

CONCANNON, P.W. (1980):
Effects of hypophysectomy and LH administration on luteal phase plasma progesterone levels in the beagle bitch.
J. Reprod. Fertil. 58, 407-410

CONCANNON, P.W. (1984):
Endocrinology of canine estrous cycles, pregnancy and parturition.
Proc. Ann. Meeting Soc. Theriogenology, Denver, Colorado 1984, S. 1-24

CONCANNON, P.W. (1986):
Canine physiology of reproduction.
In: T. BURKE (Hrsg.): Small animal reproduction and infertility.
Verlag Lea und Febiger, Philadelphia, S. 23-77

CONCANNON, P.W. (1991):
Reproduction in the dog and cat.
In: P.T. CUPPS (Hrsg.): Reproduction in Domestic Animals.
Academic, San Diego, CA, S. 517-554.

CONCANNON, P.W. u. W. HANSEL (1977):
Prostaglandin $F_{2\alpha}$-induced luteolysis, hypothermia and abortions in beagle bitches.
Prostaglandins 13, 533-542

CONCANNON, P.W., W. HANSEL, u. W.J. VISEK (1975):
The Ovarian Cycle of the Bitch: Plasma Estrogen, LH and Progesterone.
Biology of Reproduction 13, 112-121

CONCANNON, P.W., L. ISAMAN, D.A. FRANK, F.J. MICHEL u. W.B. CURRIE (1988):
Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin $F_{2\alpha}$ in maternal plasma during prepartum luteolysis and parturition in dogs (Canis familiaris).
J. Reprod. Fertil. 84, 71-77

CONCANNON, P.W., J.P. McCANN u. M. TEMPLE (1989):
Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 39, 3-25

CONCANNON, P.W. u. V.N. MEYERS-WALLEN (1991):
Current and proposed methods for contraception and termination of pregnancy in dogs and cats.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 198, 1214-25.

CONCANNON, P.W., A. YEAGER, D. FRANK u. A. IYAMPILLAI (1990):
Termination of pregnancy and induction of premature luteolysis by the antiprogestagen, mifepristone, in dogs.
J. Reprod. Fertil. 88, 99-104

CONLEY, A.J., M.A. KAMINSKI, S.A. DUBOWSKY, A. JABLONKA-SHARIFF, D.A. REDMER u. L.P. REYNOLDS (1995):
Immunohistochemical localization of 3-beta-hydroxysteroid-dehydrogenase and P450 17 alpha-hydroxylase during follicular and luteal development in pigs, sheep, and cows.
Biol. Reprod. 52, 1081-1094

CROXATTO, H.B., A.M. SALVATIERRA, C. ROMERO u. I.M. SPITZ (1987):
Late luteal phase administration on RU 486 for three successive cycles does not disrupt bleeding patterns or ovulation.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 65, 1272-1277

CRUM, R., S. SZABO u. J. FOLKMAN (1985):
A new class of steroids inhibits angiogenesis in the presence of heparin or a heparin fragment.
Science 230, 1375-1378

CSAPO, A. (1973):
The prospects of prostaglandins in postconceptional therapy.
Prostaglandins 3, 245-289

CURRY, T.E. u. W.B. NOTHNICK (1996):
Mifepristone and ovarian function.
Clin. Obstet. Gynecol. 39, 486-497

DEEG, K.H. u. F. WILD (1990):
Abdominelle Sonographie im Kindesalter.
Klin. Pädiatr. 202, 371-378

DEEG, K.H., K. WOERLE u. E. SCHÖNAU (1990):
Farbkodierte Dopplersonographie der Nierengefäße im Kindesalter.
Monatsschr. Kinderheilkd. 138, 256-267

DEL CAMPO, C. H., u. O. J. GINTHER (1972):
Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: guinea pig, rats, hamsters and rabbits.
Am. J. Vet. Res. 33, 2561-2577

DEL CAMPO, C. H., u. O. J. GINTHER (1973):
Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: Horses, Sheep, and Swine.
Am. J. vet. Res. 34, 305-316

DEL CAMPO, C. H., u. O. J. GINTHER (1974):
Arteries and Veins of Uterus and Ovaries in Dogs and Cats.
Am. J. Vet. Res. 35, 409-415

DENNING-KENDALL, P.A., S.E. GULDENAAR u. D.C. WATHES (1989):
Evidence for a switch in the site of relaxin production from small theca-derived cells to large luteal cells during early pregnancy in the pig.
J. Reprod. Fertil. 85, 261-271

DEUTINGER, J., A. REINTHALLER u. G. BERNASCHEK (1989):
Transvaginal pulsed Doppler measurement of blood flow velocity in the ovarian arteries during cycle stimulation and after follicle puncture.
Fertil. Steril. 51, 466-470

DHARMARAJAN, A.M., S.B. GOODMAN, K.I. TILLY u. J.L. TILLY (1994):
Apoptosis during functional corpus luteum regression: evidence of a role for chorionic gonadotropin in promoting luteal cell survival.
Endocr. J. 2, 295-303

DIAZ, F.J., L.E. ANDERSON, Y.L. WU, A. RABOT, S.J. TSAI u. M.C. WILTBANK (2002):
Regulation of progesterone and prostaglandin F2alpha production in the CL.
Mol. Cell. Endocrinol. 191, 65-80

DICKSON, S.E., R. BICKNELL u. H.M. FRASER (2001):
Mid-luteal angiogenesis and function in the primate is dependent on vascular endothelial growth factor.
J. Endocrinol. 168, 409-416

DIETERICH, J. (1994):
Anwendung der Sonographie zum direkten Ovulationsnachweis und zur Erhebung zyklischer Ovarbefunde bei der Hündin.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

DIMATTINA, M., B. ALBERTSON, D.E. SEYLER, D.L. LORIAUX u. R.J. FALK (1986):
Effect of the antiprogestin RU 486 on progesterone production by cultured human granulosa cells: inhibition of the ovarian 3B-hydroxysteroid dehydrogenase.
Contraception 34, 199-206

DIMATTINA, M., D.L. LORIAUX, B.D. ALBERTSON, R.J. FALK u. V. TYSON (1987):
Effect of the antiprogestagen mifepristone on human ovarian steroidogenesis.
Fert. Steril. 48, 229-233

DORE, M.A.P. (1989):
Structural aspects of luteal function and regression in the ovary of the domestic dog.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 39, 41-53

DREIER, K.H., H.S. CHOI u. H. HAGER (1975):
The Corpus luteum periodicum in the bitch.
Histochemistry 45, 191-201

DUFFY, D.M. u. R.L. STOUFFER (1995):
Progesterone receptor messenger ribonucleic acid in the primate corpus luteum during the menstrual cycle: possible regulation by progesterone.
Endocrinology 136, 1869-1876

DUNCAN, W.C., G.M. COWEN u. P.J. ILLINGWORTH (1999):
Steroidogenic enzyme expression in human corpora lutea in the presence and absence of exogenous human chorionic gonadotrophin (HCG).
Mol. Hum. Reprod. 5, 291-298

EASTMAN, A. (1993):
Apoptosis: a product of programmed and unprogrammed cell death.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 121, 160-164

EDQUIST, L.-E., E.D.B. JOHANSSON, H. KASSTRÖM, S.-E. OLSSON u. M. RICHKIND (1975):
Blood plasma levels of progesterone and oestradiol in the dog during the oestrous cycle and pregnancy.
Acta Endocrinol. 78, 554-654

EILTS, B.E. (2002):
Pregnancy termination in the bitch and queen.
Clin. Tech. Small Anim. Pract. 17, 116-123

EINSPANIER, A., C. BUNCK, P. SALPIGTIDOU, A. MARTEN, K. FUHRMANN, H.-O. HOPPEN u. A.-R. GÜNZEL-APEL (2002):
Relaxin: ein wichtiger Graviditätsindikator bei der Hündin.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 109, 8-12

EINSPANIER, A., D. MÜLLER, J. LUBBERSTEDT, O. BARTSCH, A. JURDZINSKI, K. FUHRMANN u. R. IVELL (2001):
Characterization of relaxin binding in the uterus of the marmoset monkey.
Mol. Hum. Reprod. 7, 963-970

EINSPANIER, A., NUBBEMEYER, R., SCHLOTE, S., SCHUMACHER, M., IVELL, R., FUHRMANN, K. u. A. MARTEN (1999):
Relaxin in the marmoset monkey: secretion pattern in the ovarian cycle and early pregnancy.
Biol. Reprod. 61, 512-520

EINSPANIER, A., M.R. ZARREH-HOSHYARI-KHAH, M. BALVERS, L. KERR, K. FUHRMANN u. R. IVELL (1997):
Local relaxin biosynthesis in the ovary and uterus through the oestrous cycle and early pregnancy in the female marmoset monkey (Callithrix jacchus).
Hum. Reprod. 12, 1325-1337

ELLINWOOD, W.E., T.M. NETT u. G.D. NISWENDER (1978):
Ovarian vasculature: structure and function.
In: R.E. JONES (Hrsg.): The Vertebrate Ovary.
Verlag Plenum Press, New York und London, S. 583-614

ENGLAND, G.C.W. u A.E. YEAGER (1993):
Ultrasonographic appearance of the ovary and the uterus of the bitch during estrous, ovulation and early pregnancy.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 47, 107-117

ESPEY, L.L. (1980):
Ovulation as an inflammatory reaction – a hypothesis.
Biol. Reprod. 22, 73-106

FELDMAN, E.C., A.P. DAVIDSON, R.W. NELSON, T.G. NYLAND u. C. MUNRO (1993):
Prostaglandin induction of abortion in pregnant bitches after misalliance.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 202, 1855-1858

FELDMAN, E.C. u. R.W. NELSON (1987):
Canine female reproduction.
In: E.C. FELDMAN u. R.W. NELSON (Hrsg.): Canine and feline endocrinology and reproduction.
Verlag Saunders Company, Philadelphia, USA, S. 399-480

FIELDS, P.A. (1984):
Intracellular localization of relaxin in membrane-bound granules in the pregnant rat luteal cell.
Biol. Reprod. 30, 753-762

FIELDS, P.A. u. M.J. FIELDS (1985):
Ultrastructural localization of relaxin in the corpus luteum of the nonpregnant, pseudopregnant and pregnant pig.
Biol. Reprod. 32, 1169-1179

FIELDS, M.J., P.A. FIELDS, A. CASTRO-HERNANDEZ u. L.H. LARKIN (1980):
Evidence for relaxin in corpora lutea of late pregnant cows.
Endocrinology 107, 869-876

FIELDS, P.A., A.B. LEE, L.M. HAAB, J.J. HWANG u. O.D. SHERWOOD (1992):
Evidence for a dual source of relaxin in the pregnant rat: immunolocalization in the corpora lutea and endometrium.
Endocrinology 130, 2985-2990

FIENI F., J.F. BRUYAS, I. BATTUT u. D. TAINTURIER (2001a):
Clinical use of anti-progestins in the bitch.
In: CONCANNON, P.W., G. ENGLAND u. J. VERSTEGEN (Hrsg.): Recent Advances in Small Animal Reproduction
International Veterinary Information Service, Ithaca, New York (USA)

FIENI, F., M. FUHRER, D. TAINTURIER, J.F. BRUYAS u. S. DRIDI (1989):
Use of cloprostenol for pregnancy termination in dogs.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 39, 332-333

FIENI, F., P.G. MARNET, J. MARTAL u. B. SILIART (2004):
Mid-pregnancy termination in queen with an antiprogestin: aglepristone (RU 534).
5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Aug. 4-6, 2004, Sao Paulo, Brazil, Abstract Book S. 145-146

FIENI, F., P.G. MARNET, J. MARTAL, B. SILIART, N. TOUZEAU, J.F. BRUYAS u. D. TAINTURIER (2001b):
Comparison of two protocols with a progesterone antagonist aglepristone (FU 534) to induce parturition in dogs.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 57, 237-242

FIENI, F., J. MARTAL, P.G. MARNET, B. SILIART, F. BERNARD, M. RIOU, J.F. BRUYAS u. D. TAINTURIER (2001c):
Hormonal variation in bitches after early or mid-pregnancy termination with aglepristone (RU 534).
J. Reprod. Fertil., Suppl. 57, 243-248

FINDLAY, J.K. (1986):
Angiogenesis in reproductive tissues.
J. Endocrinol. 111, 357-366

FITZ, A., M.H. MAYAN, H.R. SAWYER, u. G.D. NISWENDER (1982):
Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum.
Biol. Reprod. 27, 703-722

FLEISCHER, A.C. (1991):
Ultrasound imaging 2000: assessment of uterine-ovarian blood blow with transvaginal color Doppler sonography; potential clinical applications in infertility.
Fertil. Steril. 55, 684-691

FOLKMAN, J. u. M. KLAGSBRUN (1987):
Angiogenic factors.
Science 235, 442-447

FORD, S.P. u. J.R. CHENAULT (1981):
Blood flow in the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy.
J. Reprod. Fertil. 62, 555-562

FRASER, H.M., M. ABBOTT, N.C. LAIRD, A.S. McNEILLY, J.J. NESTOR Jr. u. B.H. VICKORY (1986):
Effects of an LH-releasing hormone antagonist on the secretion of LH, FSH, prolactin and ovarian steroids at different stages of the luteal phase in the stumptailed macaque (Macaca artoides).
J. Endocrinol. 111, 83-90

FRASER, H.M., S.F. LUNN, D.J. HARRISON u. J.B. KERR (1999):
Luteal regression in the primate: different forms of cell death during natural and gonadotropin-released hormone antagonist or prostaglandin analogue induced luteolysis.
Biol. Reprod. 61, 1468-1479

FRASER, H.M., S.F. LUNN, P.F. WHITELAW, u. S.G. HILLIER (1995):
Induced luteal regression: differential effects on follicular and luteal inhibin/activin subunit mRNAs in the marmoset monkey.
J. Endocrinol. 144, 201-208

GADSBY, J.E., A.K. BALAPURE, J.H. BRITT u. T.A. FITZ (1990):
Prostaglandin F2α receptors on enzyme-dissociated pig luteal cells throughout the estrous cycle.
Endocrinology 126, 787-795

GALAC, S., H.S. KOOISTRA, J. BUTINAR, M.M. BEVERS, S.J. DIELEMAN, G. VOORHOUT u. A.C. OKKENS (2000):
Termination of mid-gestation pregnancy in bitches with aglepristone, a progesterone receptor antagonist.
Theriogenology 53, 941-950

GARZO, V.G., J. LIU, A. ULMANN, E. BAULIEU u. S.S. YEN (1988):
Effects of an antiprogesterone (RU 486) on the hypothalamic-hypophyseal-ovarian-endometrial axis during the luteal phase of the menstrual cycle.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 66, 508-517

GAVRIELI, Y, Y. SHERMAN u. S.A. BEN-SASSON (1992):
Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation.
J. Cell Biol. 119, 493-501

GERBER, J.G., W.C. HUBBARD u. A.S. NIES (1979):
Uterine vein prostaglandin levels in late pregnant dogs.
Prostaglandins 17, 623-627

GIERTZ, H. u. L. FLOHE (1992):
Mediatoren der Entzündung und Allergie. Pharmakotherapie der Allergie, Arzneimittelallergie.
In: FORTH, W. (Hrsg.): Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 6. Aufl.
B.I.-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, S. 320-327

GINTHER, O. J. (1974):
Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways: a review.
J. Anim. Sci. 39, 550-564

GINTHER, O. J. (1992):
Reproductive biology of the mare. 2nd Ed.
Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA

GINTHER, O. J., u. C. H. DEL CAMPO (1974):
Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: Cattle.
Am. J. vet. Res. 35, 193-203

GINTHER, O. J., u. N. L. FIRST (1971):
Maintenance of the corpus luteum in hysterectomized mares.
Am. J. vet. Res. 32, 1687-1691

GINTHER, O. J., M. C. GARCIA, W. P. STEFFENHAGEN u. E. L. SQUIRES (1972):
Anatomy of vasculature of uterus and ovaries in the mare.
Am. J. vet. Res. 33, 1561-1568
GOLOS, T.G., J.A. WEYHENMEYER u. O.D. SHERWOOD (1984):
Immunocytochemical localization of relaxin in the ovaries of pregnant rats.
Biol. Reprod. 30, 257-261

GOSLING, R.G. u. D.H. KING (1974):
Arterial assessment by Dopplershift ultrasound.
Proc. R. Soc. Med. 67b, 447-449

GOSWAMY, R.K. (1993):
Dopplersonographische Studien.
In: U. DEICHERT, V. DUDA u. R. SCHLIEF (Hrsg.): Funktionelle Sonographie in Gynäkologie und Reproduktionsmedizin.
Verlag Springer, Berlin, Heidelberg, S. 165-174

GÜNZEL-APEL, A.-R. (1997):
Läufigkeitskontrolle und Bestimmung des Bedeckungszeitpunktes.
In: E. WIESNER (Hrsg.): Handlexikon der Tierärztlichen Praxis.
Verlag Enke, Stuttgart, Sonderdruck 201, 500a-500h

GÜNZEL-APEL, A.-R. u. J. DIETERICH (2001):
Follikelreifung, Ovulation und Gelbkörperanbildung.
In: C. POULSEN-NAUTRUP u. R. TOBIAS (Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. 3. Aufl.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover, S. 248-257

GÜNZEL-APEL, A.-R., S. ZABEL, A. EINSPANIER u. H.-O. HOPPEN (2003):
Bedeutung, Diagnostik und „Handling“ der Gelbkörperinsuffizienz beim Hund: Züchterwunsch und tierärztliche Verantwortung.
Kongressbericht 49. Jahreskonferenz der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG am 06.-09.11.2003 in Leipzig, S. 119-123

GUTHRIE, H. D. u. C. E. REXROAD (1981):
Endometrial prostaglandin F release in vitro and plasma 13, 14-Dihydro-15-Keto-Prostaglandin $F_{2\alpha}$ in pigs with luteolysis blocked by pregnancy estradiol benzoate or human chorionic gonadotrophin.
J. Anim. Sci. 52, 330-339

HAFEZ, E. S. E. (1993):
Reproduction in farm animal. 6th Ed.
Verlag Lea & Febiger, Philadelphia, London

HALL, P.F. (1985):
Trophic stimulation of steroidogenesis: in search of the elusive trigger.
Rec. Prog. Horm. Res. 41, 1-39

HARVEY, M.J.A., A. CAUVIN, M. DALE, S. LINDLEY u. R. BALLABIO (1997):
Effect and mechanisms of the anti-prolactin drug cabergoline on pseudopregnancy in the bitch.
J. Small Anim. Pract. 38, 336-339

HASUMOTO, K., Y. SUGIMOTO, A. YAMASAKI, K. MORIMOTO, A. KAKIZUDA, M. NEGISHI, u. A. ICHIKAWA (1997):
Association of expression of mRNA encoding PGF2α receptor with luteal apoptosis in ovaries of pseudopregnant mice.
J. Reprod. Fertil. 109, 45-51

HATA, K., T. HATA, D. SENOH, K. MAKIHARA, S. AOKI, O. TAKAMIYA u. KITAO (1990):
Change in ovarian arterial compliance during the human menstrual cycle by Doppler ultrasound.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 97, 163-166

HAYER, P.J., A.-R. GÜNZEL-APEL, D. LÜERSSEN u. H.-O. HOPPEN (1993):
Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and early luteal phase in the bitch.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 47, 93-100

HEGSTAD, R.L., S.D. JOHNSTON u. D.M. PASTERNAK (1993):
Concentrations and pulse analysis of adrenocorticotrophin and luteinizing hormone in plasma from dogs in proestrus, estrus, diestrus or anestrus.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 47, 77-84

HEIKINHEIMO, O., R. KEKKONEN u. P. LAHTEENMAKI (2003):
The pharmacokinetics of mifepristone in humans reveal insights into differential mechanisms of antiprogestin action.
Contraception 68, 421-426

HILL, N.C., M. SELINGER, J. FERGUSON, A. LOPEZ BERNAL u. I.Z. MACKENZIE (1990):
The physiological and clinical effects of progesterone inhibition with mifepristone (RU 486) in the second trimester.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 97, 487-492

HOFFMANN, B. (1994):
Gravidität, Geburt und Puerperium.
In: DÖCKE, F. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie. 5. Aufl.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, 1994, S. 509-541

HOFFMANN, B., F. BÜSGES, E. ENGEL, M.P. KOWALEWSKI u. P. PAPA (2004):
Regulation of Corpus luteum-function in the Bitch.
Reprod. Domest. Anim. 39, 232-240

HOFFMAN, B., R. HÖVELER, S.H. HASAN u. K. FAILING (1992):
Ovarian and pituitary function in dogs after hysterectomy.
J. Reprod. Fertil. 96, 837-845

HOFFMAN, B., A. RIESENBECK u. R. KLEIN (1996):
Reproductive endocrinology of bitches.
Anim. Reprod. Sci. 42, 275-288

HOFFMANN, B. u. S. SCHNEIDER (1993):
Secretion and release of luteinizing hormone during the luteal phase of the oestrus cycle in the dog.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 85-91

HOPPEN, H.-O. (1990):
Endokrinologie des Sexualzyklus der Hündin.
Kleintierpraxis 35, 565-568

HSU S.Y., K. NAKABAYASHI, S. NISHI, J. KUMAGAI, M. KUDO, O.D. SHERWOOD u. A.J. HSUEH (2002):
Activation of orphan receptors by the hormone relaxin.
Science 295, 671-674

HUBLER, M. u. S. ARNOLD (2000):
Prevention of pregnancy in bitches with the progesterone antagonist aglepristone (Alizine).
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 142, 381-386

HUBLER, M., S. ARNOLD u. M. DÖBELI (1993):
Use of a low dose of prostaglandin F2α in the bitch.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 47, 555

HWANG, J.J., S.W. LIN, C.H. TENG, F.C. KE u. M.T. LEE (1996):
Relaxin modulates the ovulatory process and increases secretion of different gelatinases from granulosa and theca-interstitial cells in rats.
Biol. Reprod. 55, 1276-1283

ING, N.H. u. M.B. TORNESI (1997):
Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone gene expression in specific ovine uterine cells.
Biol. Reprod. 56, 1205-1215

IVELL, R. u. A. EINSPANIER (2002):
Relaxin peptides are new global players.
Trends Endocrinol. Metab. 13, 343-348

JACKSON, P.S., B.J.A. FURR u. F.G. HUTCHINSON (1982):
A preliminary study of pregnancy termination in the bitch with slow-release formulations of prostaglandin analogues.
J. Small. Anim. Pract. 23, 287-294

JACOBS, B.R., S. SUCHOCKI u. R.G. SMITH (1980):
Evidence for human ovarian progesterone receptor.
Am. J. Obstet Gynecol. 138, 332-336

JANSON, P.O. (1975):
Effects of the luteinizing hormone on blood flow in the follicular rabbit ovary, as measured by radioactive microspheres.
Acta Endocrin. 79, 122-133

JARVELA, I.Y., P. SLADKEVICIUS, S. KELLY, K. OJHA, S. CAMPBELL u. G. NARGUND (2003):
Quantification of ovarian power Doppler signal with three-dimensional ultrasonography to predict response during in vitro fertilization.
Obstet. Gynecol. 102, 816-822

JEFFCOATE, J.A. u. F.E.F. LINDSAY (1989):
Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 39, 277-287

JENKIN, G., R.T. GEMMELL u. G.D. THORBURN (1984):
Induction of transient functional luteolysis in cyclic sheep by a 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor.
J. Endocrinol. 100, 61-66

JENSEN, E.V. (1967):
Demonstration of estrogen receptor in the cytosol fraction of breast carcinomas.
J. Ntl. Cancer Inst. 40, 813-820

JÖCHLE, W. u. A.C. ANDERSEN (1977):
The oestrus cycle in the dog: a review.
Theriogenology 7, 133-140

JÖCHLE, W., R.V. TOMLINSON u. A.C. ANDERSEN (1973):
Prostaglandin effects on plasma progesterone levels in the pregnant and cyclic dog (beagle).
Prostaglandins 3, 209-215

JOHNSTON, S.D. u. S. RAKSIL (1987):
Fetal loss in the dog and cat.
Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract. 17, 535-554

JUENGEL, J.L., H.A. GARVERICK, A.L. JOHNSON, R.S. YOUNGQUIST, u. M.F. SMITH (1993):
Apoptosis during luteal regression in cattle.
Endocrinology 132, 249-254

JUENGEL, J.L., B.M. MEBERG, E.W. McINTUSH, M.F. SMITH u. G.D. NISWENDER (1998):
Concentration of mRNA encoding 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta 5, delta 4 isomerase (3 beta-HSD) and 3 beta-HSD enzyme activity following treatment of ewes with prostaglandin F2 alpha.
Endocrine. 8, 45-50

JUENGEL, J.L., B.M. MEBERG, A.M. TURZILLO, T.M. NATT u. G.D. NISWENDER (1995):
Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid encoding steroidogenic acute regulatory protein in ovine corpora lutea.
Endocrinology 136, 5423-5429

KALTENBACH, C.C., J.W. GRABER, G.D. NISWENDER, u. A.V. NALBANDOV (1968):
Luteotrophic properties of some pituitary hormones in nonpregnant or pregnant hypophysectomized ewes.
Endocrinology 82, 818-824,

KARSCH, F. J., J. F. ROCHE, J. W. NOVEROSKE, D. L. FOSTER, H. W. NORTON, u. A. V. NALBANDOV (1971):
Prolonged maintenance of the corpus luteum function of the ewe by continuous infusion of luteinizing hormone.
Biol. Reprod. 4, 129-136

KAWANO, T., H. OKAMURA, C. TAJIMA, K. FUKUMA u. H. KATABUCHI (1988):
Effect of RU 486 on luteal function in the early pregnant rat.
J. Reprod. Fertil. 83, 279-285

KELLY, R.W., D.L. HEALY, M.J. CAMERON, I.T. CAMERON u. D.T. BAIRD (1985):
RU 486 stimulation of PGF2alpha production in isolated endometrial cells in short term culture.
In: BAULIEU, E.E. u. S. SEGAL (Hrsg.): The Antiprogestagen Steroid RU 486 and Human Fertility Control.
Plenum Press, New York, S. 259-262

KENNY, N., R.E. WILLIAMS u. L.B. KELM (1994):
Spontaneous apoptosis of cells prepared from the nonregressing corpus luteum.
Biochem. Cell Biol. 72, 531-536

KING, W.J., E.R. DESOMBRE, E.V. JENSEN u. G.L. GREENE (1985):
Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptor in human breast tumors.
Cancer Res. 45, 293-304

KISO, Y. u. S. YAMAUCHI (1984):
Histochemical study on hydroxysteroid dehydrogenases in the trophoblast of the dog placenta.
Jap. J. vet. Sci. 46, 219-223

KLONISCH, T., S. HOMBACH-KLONISCH, C. FROEHLICH, J. KAUFFOLD, K. STEGER, B. STEINETZ u. B. FISCHER (1999):
Canine preprorelaxin: nucleic acid sequence and localization within the canine placenta.
Biol. Reprod. 60, 5512-557

KLONISCH, T., J. KAUFFOLD, K. STEGER, M. BERGMANN, R. LEISER, B. FISCHER u. S. HOMBACH-KLONISCH (2001):
Canine relaxin-like factor: unique molecular structure and differential expression within reproductive tissues of the dog.
Biol. Reprod. 64, 442-450

KÖSTER, K. (1999):
Dopplersonographische Untersuchung des Hundeovars im Zyklusverlauf.
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

KÖSTER, K., C. POULSEN-NAUTRUP u. A.-R. GÜNZEL-APEL (2001):
A Doppler ultrasonographic study of cyclic changes of ovarian perfusion in the Beagle bitch.
Reproduction 122, 453-461

KOOISTRA, H.S. u. A.C. OKKENS (2001):
Secretion of prolactin and growth hormone in relation to ovarian activity in the dog.
Reprod. Domest. Anim. 36, 115-119

KOOS, R.D., u. W. HANSEL (1981):
The large and small cells of the bovine corpus luteum: ultrastructural and functional differences.
In: N.B. SCHWARTZ u. M. HUNZICKER-DUNN (Hrsg.): Dynamics of Ovarian Function.
Raven, New York, S. 197-203

KROKER, R. (1997):
Beeinflussung der Uterusfunktion.
In: LÖSCHER, W., F.R. UNGEMACH u. R. KROKER (Hrsg.): Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 3. Aufl.
Parey Buchverlag Berlin, S. 174-177

KRZYMOWSKI, T., J. KOTWICA, S. STEFANCZYK, J. CZARNOCKI u. J. DEBEK (1982):
A subovarian exchange mechanism for the counter-current transfer of ovarian steroid hormones in the pig.
J. Reprod. Fert. 65, 457-465

KRZYMOWSKI, T., J. KOTWICA, S. STEFANCZYK, J. DEBEK u. J. CZARNOCKI (1981):
Venous-arterial counter current exchange of testosterone, estradiol and progesterone in sow‘s ovarian vascular pedicle.
Adv. Physiol. Sci. 20, 153-157

KRZYMOWSKI, T., J. KOTWICA u. S. STEFANCZYK-KRZYMOWSKA (1990):
Uterine and ovarian countercurrent pathways in the control of ovarian function in the pig.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 40, 179-191

KUPESIC, S. u. A. KURJAK, (1993):
Uterine and ovarian perfusion during the periovulatory period assessed by transvaginal color Doppler.
Fertil. Steril. 60, 439-443

KURJAK, A. u. S. KUPESIC-UREC (1991):
Infertility.
In: Transvaginal Color Doppler.
Parthenon, Lancs, S. 33-38

LAKHANI, K., A.M. SEIFALIAN, W.U. ATIOMO u. P. HARDIMAN (2002):
Polycystic ovaries.
Br. J. Radiol. 75, 9-16

LANGE, K. (1995):
Untersuchungen zur Nidationsverhütung und zum Abbruch der Frühgravidität bei der Hündin mit geringen Dosierungen von Prostaglandin $F_{2\alpha}$.
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

LANGE, K., A.-R. GÜNZEL-APEL, H.-O. HOPPEN, R. MISCHKE u. I. NOLTE (1997):
Effects of low doses of prostaglandin F2α during the early luteal phase before and after implantation in beagle bitches.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 51, 251-257

LEE, W. u. M.J. NOVY (1978):
Effects of luteinizing hormone and Indomethacin on blood flow and steroidogenesis in the rabbit ovary.
Biol. Reprod. 17, 799-807

LEIN, D. (1986a):
Prostaglandin therapy in small animal reproduction.
In: R. KIRK (Hrsg.): Current veterinary therapy IX
Verlag W.B. Saunders, Philadelphia, S. 1233-1236

LEIN, D. (1986b):
Prostaglandins in small animal reproduction.
In: D. MORROW (Hrsg.): Current therapy in theriogenology. 2. Aufl.
Verlag W.B. Saunders, Philadelphia, S. 481-484

LEIN, D.H., P.W. CONCANNON, W.E. HORNBUCKLE, R.O. GILBERT, J.R. GLENDENINGS u. H.L. DUNLAP (1989):
Termination of pregnancy in bitches by administration of prostaglandin F2α.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 39, 231-240

LI, Y., C.J. HUANG, S.J. CHO u. L.L. ANDERSON (1998):
Differential effects of dexamethasone and RU 486, an antigestagen and antiglucocorticoid, on progesterone and relaxin secretion in hysterectomized pigs with aging corpora lutea.
Anim. Reprod. Sci. 30, 131-41

LIEBICH, H.-G. (1999):
Weibliche Geschlechtsorgane.
In: LIEBICH, H.-G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 3. Aufl.
Verlag Schattauer, Stuttgart, New York, S. 284-293

LINDE-FORSBERG, C. u. A. ENEROTH (1998):
Parturition.
In: SIMPSON, G., G. ENGLAND u. M. HARVEY (Hrsg.): Manual of small animal reproduction and neonatology.
British Small Animal Association, Cheltenham, S. 128-142

LINDE-FORSBERG, C., H. KINDAHL u. A. MADEJ (1992):
Termination of mid-term pregnancy in the dog with oral RU 486.
J. Small Anim. Pract. 33, 331-336

LÖSCHER, W. (1997):
Pharmaka mit Wirkung auf periphere Mediatoren.
In: LÖSCHER, W., F.R. UNGEMACH u. R. KROKER (Hrsg.): Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 3. Aufl.
Parey Buchverlag Berlin, S. 60-65

LÜBKE, A. (1997):
Befunderhebung an der Portio vaginalis cervicis sowie vergleichende Untersuchung der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Verlauf des Sexualzyklus der Hündin.
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

MADER, S., V. KUMAR, H. DE VERNEUIL u. P. CHAMBON (1989):
Three amino acids of the oestrogen receptors are essential to its ability to distinguish an estrogen from a glucocorticoid-responsive element.
Nature 338, 271-274

MATHIEU, P. J. RAHIER u. K. THOMAS (1981):
Localization of relaxin in human gestational corpus luteum.
Cell Tissue Res. 219, 213-216

McCORMACK, J.T., M.G. FRIEDRICHS, S.D. LIMBACK u. G.S. GREENWALD (1998):
Apoptosis during spontaneous luteolysis in the cyclic golden hamster: biochemical and morphological evidence.
Biol. Reprod. 59, 1200-1206

McCRACKEN, J. (1971):
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and corpus luteum regression.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 180, 456-472

McCRACKEN, J. A. (1980):
Hormone receptor control of prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion by the ovine uterus.
Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res. 8, 1329

McCRACKEN, J. A., J. C. CARLSON, M. E. GLEW, J. R. BODING, D. T. BAIRD, K. GREEN u. B. SAMUELSON (1972):
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ identified as a luteolytic hormone in the sheep.
Nature, New Biol. 238, 129-134

McCRACKEN, J.A., E.E. CUSTER u. J.C. LAMSA (1999):
Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event.
Physiol. Rev. 79, 263-323

McNEILLY, A.S., W.J. CROW, u. H.M. FRASER (1992):
Suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion by gonadotrophin-releasing hormone antagonist does not affect episodic progesterone secretion or corpus luteum function in ewes.
J. Reprod. Fertil. 96, 865-874

MODLICH, U., F.J. KAUP u. H.G. AUGUSTIN (1996):
Cyclic angiogenesis and blood vessel regression in the ovary: blood vessel regression during luteolysis involves endothelial cell detachment and vessel occlusion.
Lab. Invest. 74, 771-780

MONCADA, S., R.J. FLOWER u. J.R. VANE (1985):
Prostaglandins, prostacyclin, thromboxane A2 and leukotrienes.
In: L.S. GOODMAN (Hrsg.): The pharmacological basis of therapeutics. 7. Aufl.
Verlag Mac Millan, New York, S. 660-673

MONNIAUX, D., C. HUET, N. BESNARD, F. CLEMENT, M. BOSC, C. PISSELET, P. MONGET u. J.C. MAIANA (1997):
Follicular growth and ovarian dynamics in mammals.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 51, 3-23

NAKANO, J. (1972):
Relationship between the chemical structure of prostaglandins and their vasoactivities in dogs.
Br. J. Pharmacol. 44, 63

NEILL, J.D., E.D. JOHANSSON, u. E. KNOBIL (1969):
Failure of hysterectomy to influence the normal pattern of cyclic progesterone secretion in the rhesus monkey.
Endocrinology 84, 464-465

NETT, T.M., A.M. AKBAR, R.D. PHEMISTER, L.E. REICHERT u. G.D. NISWENDER (1975):
Levels of luteinizing hormone, estradiol and progesterone in serum during estrous cycle and pregnancy in the beagle bitch.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 148, 134-139

NISWENDER, G.D. (2002):
Molecular control of luteal secretion of progesterone.
Reproduction 123, 333-339

NISWENDER, G.D., R.T. MOORE, A.M. AKBAR, T.M. NETT u. M.A. DIEKMAN (1975):
Flow of blood to the ovaries of ewes throughout the estrous cycle.
Biol. Reprod. 13, 381-388

NISWENDER, G.D., T.J. REIMERS, M.A. DIEKMAN u. T.M. NETT (1976):
Blood flow: a mediator of ovarian function.
Biol. Reprod. 14, 64-81

NOLL, S. u. S. SCHAUB-KUHNEN (2000):
Überfixierung.
In: HÖFLER, H. u. K.-M. MÜLLER (Hrsg.): Praxis der Immunhistochemie.
Urban & Fischer Verlag, Jena, S. 54-78

NOVY, M.J. u. M.J. COOK (1973):
Redistribution of blood flow by prostaglandin $F_{2\alpha}$ in the rabbit ovary.
Am. J. Obstet. Gynecol. 117, 381-85

OETTLE, E.E. (1982):
Clinical experience with prostaglandin $F_{2\alpha}$THAM as a luteolytic agent in pregnant and non-pregnant bitches.
J. South Afr. Vet. Assoc. 53, 239-242

OETTLE, E.E., H.J. BERTSCHINGER, E.E. BOTHA u. A. MARAIS (1988):
Luteolysis in early diestrus beagle bitches.
Theriogenology 29, 757-763

OETTLE, E.E., E. BOTHA u. I. PAINTER (1985):
Preliminary report on the effect of prostaglandin F2α on the duration of the oestrus interval in beagle bitches.
Theriogenology 23, 409-414

OKKENS, A.C., M.M. BEVERS, S.J. DIELEMANN u. A.H. WILLEMSE (1990):
Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog.
Vet. Q. 12, 193-201

OKKENS, A.C., S.J. DIELEMANN, M.M. BEVERS, A.A.M.E. LUBBERINK u. A.H. WILLEMSE (1986):
Influence of hypophysectomy on the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog.
J. Reprod. Fertil. 77, 187-192

OKKENS, A.C., DIELEMANN, S.J. BEVERS, M.M. u. A.H. WILLEMSE (1985):
Evidence for the non-involvement of the uterus in the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog.
Vet. Q. 3, 169-173

OLSON, P.N., R.A. BOWEN, M.D. BEHRENDT, J.D. OLSON u. T.M. NETT (1982):
Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus.
Biol. Reprod. 27, 1196-1206

O'MALLEY, B.W., S.Y. TSAI, M. BAGCHI, N.L. WEIGEL, W.T. SCHRADER u. M.J. TSAI (1991):
Molecular mechanism of action of a steroid hormone receptor.
Rec. Prog. Horm. Res. 47, 1-26

ONCLIN, K., L.D.M. SILVA, I. DONNAY u. J.P. VERSTEGEN (1993):
Luteotrophic action of prolactin in dogs and the effects of a dopamine agonist, cabergoline.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 47, 403-409

ONCLIN, K., L.D.M. SILVA u. J.P. VERSTEGEN (1995):
Termination of unwanted pregnancy in dogs with the dopamine agonist, cabergoline, in combination with a synthetic analog of $PGF_{2\alpha}$, either cloprostenol or alphaprostol.
Theriogenology 43, 813-822

ONCLIN, K. u. J.P. VERSTEGEN (1996):
Practical use of a combination of a dopamine agonist and a synthetic prostaglandin analogue to terminate unwanted pregnancy in dogs.
J. Small Anim. Pract. 37, 211-216

ONCLIN, K. u. J. P. VERSTEGEN (1997a):
Secretion patterns of plasma prolactin and progesterone in pregnant compared with nonpregnant dioestrous beagle bitches.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 51, 203-208

ONCLIN, K. u. J. P. VERSTEGEN (1997b):
In vivo investigation of luteal function in dogs: effects of cabergoline, a dopamine agonist, and prolactin on progesterone secretion during mid-pregnancy and -diestrous
Domest. Anim. Endocrinol. 14, 25-38

ONCLIN, K. u. J. P. VERSTEGEN (1999):
Comparisons of different combinations of analogues of $PGF_{2\alpha}$ and dopamine agonists for the termination of pregnancy in dogs.
Vet. Rec. 144, 416-419

ORTMANN, O., K.J. CATT, K.-D. SCHULZ u. G. EMONS (1994):
Modulatory action of progesterone and progesterone antagonists on hypothalamic-pituitary function.
Hum. Reprod. Suppl. 9, 53-61

OZAKI, T., K. HATA, H. XIE, K. TAKAHASHI u. K. MIYAZAKI (2002):
Utility of color Doppler indices of dominant follicular blood flow for prediction of clinical factors in in vitro fertilization-embryo transfer cycles.
Ultrasound Obstet. Gynecol. 20, 592-596

PANG, C.Y. u. H.R. BEHRMANN (1981):
Acute effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on ovarian and luteal blood flow, luteal gonadotropin uptake in vivo and gonadotropin binding in vitro.
Endocrinology 108, 2239-2244

PARADIS, M., K. POST u. R.J. MAPLETOFT (1983):
Effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on corpora lutea formation and function in mated bitches.
Can. Vet. J. 24, 239-242

PARKS-SARGE, O.-K., T.G. PARMER, Y. GU u. G. GIBORI (1995):
Does the rat corpus luteum express the progesterone receptor gene ?
Endocrinology 136, 1537-1543

PAULSMEIER, K. (1998):
Immunhistochemische Untersuchung der Östrogen- und Progesteronrezeptoren im Urogenitaltrakt der Hündin.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

PETERS H. u. K.P. McNATTY (1980):
The ovary: a correlation of structure and function in mammals.
Verlag Granada Publishing, London, Toronto

PHARISS, B. (1971):
Prostaglandin induction of luteolysis.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 180, 436-444

PHARRISS, B.B., u. L.J. WYNGARDEN (1969):
The effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on the progesterone content of ovaries from pseudopregnant rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130, 92-94

PHILIBERT, D. (1994):
RU 46534. Affinité relative des liaison pour les récepteurs stéroidiens – activité antiprogestérone in vivo.
Rapport d'étude interne Roussel Uclaf

PIACSEK, B.E. u. J.F. HUTH (1971):
Changes in ovarian venous blood flow following cannulation: effects of luteinizing hormone (LH) and antihistamine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 138, 1022-1024

POST, K., L.E. EVANS u. W. JÖCHLE (1988):
Effects of prolactin suppression with cabergoline on the pregnancy in the bitch.
Theriogenology 29, 1233-1243

POULSEN NAUTRUP, C. (2001):
Allgemeiner Teil.
In: C. POULSEN NAUTRUP u. R. TOBIAS (Hrsg.): Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover, S. 18-82

POURCELOT, L. (1974):
Applications cliniques de l'examen Doppler transcutane.
In: Velocimetre ultrasonore Doppler (Ed. Peronneau), 1974,
(Seminare INSERM, Paris), S. 213-240

POWELL, W. S., S. HAMMERSTROM, B. SAMUELSSON, u. B. SJOBERG (1974):
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor in human corpora lutea.
Lancet 1, 1120

PURSWELL, B.J. (1991):
Management of apparent luteal insufficiency in a bitch.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 199, 902-903

RAO, C.V., V.L. ESTERGREEN, F.R. CARMEN Jr. u. G.E. MOSS (1979):
Receptors for gonatrophin and prostaglandin $F_{2\alpha}$ in bovine corpora lutea of early, mid and late luteal phase.
Acta Endocrinol. 91, 529-537

RAVINDRANATH, N., L. LITTLE-IHRIG, D.F. BENYO u. A.J. ZELEZNIK (1992):
Role of luteinizing hormone in the expression of cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, delta 5-4 isomerase messenger ribonucleic acids in the primate corpus luteum.
Endocrinology 131, 2065-2070

REIMERS, T., R. PHEMISTER u. G. NISWENDER (1978):
Radioimmunological measurement of follicle stimulating hormone and prolactine in the dog.
Biol. Reprod. 19, 673-679

RENEGAR, R.H., A.D. COBB u. W.W. LEAVITT (1987):
Immunocytochemical localization of relaxin in the golden hamster (Mesocricetus auratus) during the last half of gestation.
Biol. Reprod. 37, 925-934

REYNOLDS, L.P., S.D. KILLILEA u. D.A. REDMER (1992):
Angiogenesis in the female reproductive system.
FASEB J. 6, 886-892

RIEDE, U.-N. (1995):
Letale Zellschädigung.
In: RIEDE, U.-N. u. H.-E. SCHAEFER (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pathologie. 4. Aufl.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, S. 135-143

RIEDE, U.-N. (1998)
Letale Zellschädigung.
In: RIEDE, U.-N. (Hrsg.): Taschenatlas der allgemeinen Pathologie. 1. Aufl.
Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, S. 129-133

RODGERS, R.J., C.A. VELLA, F.M. YOUNG, X.C. TIAN u. J.E. FORTUNE (1995):
Concentrations of cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase during prostaglandin F2 alpha-induced luteal regression in cattle.
Reprod. Fertil. Dev. 7, 1213-1216

ROMAGNOLI, S.E., F. CAMILLO, M. CELA, S.D. JOHNSTON, F. GRASSI, M. FERDEGHINI u. G. ARIA (1993):
Clinical use of natural prostaglandin $F_{2\alpha}$ to induce early abortion in the mismated bitch: serum progesterone, treatment outcome and interval of subsequent estrus.
J. Reprod. Fertil., Suppl. 47, 425-431

ROMAGNOLI, S.E., M. CELA u. F. CAMILLO (1991):
Use of prostaglandin $F_{2\alpha}$ for early pregnancy termination in the mismated bitch.
Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract. 21, 487-499

ROMAGNOLI, S.E., M. CELA, F. CAMILLO, S.D. JOHNSTON u. F. GRASSI (1992):
Luteolysis and early pregnancy termination in the bitch following 4-day treatment with $PGF_{2\alpha}$ starting on day 8-9 or 12-14 of cytological diestrus.
12th Int. Congress on Animal Reproduction, The Hague, Netherlands, 1992, S. 1811-1813

ROMEIS, B. (1989):
Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin (H & E).
In: BÖCK, P. (Hrsg.) Mikroskopische Technik. 17. Aufl.
Verlag Urban und Schwarzenberg, München, Wien, S. 235

ROSENFELD, C.R. (1980):
Responses of reproductive and nonreproductive tissues to 17β-estradiol during ovine puerperium.
Am. J. Physiol. Soc. 239, 333-339

ROTHCHILD, I. (1981):
The regulation of the mammalian corpus luteum.
Rec. Prog. Horm. Res. 37, 183-298

ROTHCHILD, I. (1996):
The corpus luteum revisited: are the paradoxical effects of RU486 a clue to how progesterone stimulates its own secretion?
Biol. Reprod. 55, 1-4

RUEDA, B.R., I.R. HENDRY, W.J. HENDRY III, F. STORMSHAK, O.D. SLAYDEN u. J.S. DAVIS (2000):
Decreased progesterone levels and progesterone receptor antagonists promote apoptotic cell death in bovine luteal cells.
Biol. Reprod. 62, 269-276

RUEDA, B.R., I.R. HENDRY, J.L. TILLY u. D.L. HAMERNIK (1999):
Accumulation of caspase-3 messenger ribonucleic acid and induction of caspase activity in the ovine corpus luteum following prostaglandin $F_{2\alpha}$ treatment in vivo.
Biol. Reprod. 60, 1087-1092

RUEDA, B.R., J.A. WEGNER, S.L. MARION, D.O. WAHLEN u. P.B. HOYER (1995):
Internucleosomal DNA fragmentation in ovine luteal tissue associated with luteolysis: in vivo and in vitro analyses.
Biol. Reprod. 52, 305-312

RYAN, P.L., T. KLONISCH, S. YAMASHIRO, R.L. RENAUD, C. WASNIDGE u. D.G. PORTER (1997):
Expression and localization of relaxin in the ovary of the mare.
J. Reprod. Fertil. 110, 329-338

SALPIGTIDOU, P. (1998):
Untersuchungen der luteolytischen Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ im ersten Drittel der Lutealphase der fehlgedeckten Hündin.
Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

SANCHEZ DE LA MUELA, M., P. GARCIA FERNANDEZ u. M.L. DE VICENTE RUIZ (1989):
La PG $F_{2\alpha}$ en el tratamiento de la pseudogestation de la perra.
Information Veterinaria 45, 34-37

SAWYER, H.R., K.D. NISWENDER, T.D. BRADEN u. G.D. NISWENDER (1990):
Nuclear changes in ovine luteal cells in response to $PGF_{2\ alpha}$.
Domest. Anim. Endocrinol. 7, 229-237

SCHAISON, G., M. GEORGE, G. LESTRAT, A. REINBERG u. E.E. BAULIEU (1985):
Effects of the antiprogesterone steroid RU 486 during the midluteal phase in normal women.
J. clin. Endocr. Metab. 61, 484-489

SCHOLL, S. u. M.E. LIPPMANN (1984):
The estrogen receptor in MCF-7 cells: evidence from dense amino labelling for rapid turnover and a dimeric model of activated nuclear receptor.
Endocrinology 115, 1295-1301

SCHOLTES, M.C., J.W. WLADIMIROFF, H.J. VAN RIJEN u. W.C. HOP (1989):
Uterine and ovarian flow velocity waveforms in the normal menstrual cycle: a transvaginal Doppler study.
Fertil. Steril. 52, 981-985

SCHUMMER, A. u. B. VOLLMERHAUS (1987):
Weibliche Geschlechtsorgane.
In: K. H. HABERMEHL, B. VOLLMERHAUS u. H. WILKENS (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band II., 6. Aufl.,
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 1987, S. 376-403

SCHURZ, B., H.J. SCHÖN, R. WENZL, W. EPPEL, J. HUBER u. E. REINHOLD (1993):
Endovaginal Doppler flow measurements of the ovarian artery in patients with a normal menstrual cycle and with polycystic ovary syndrome during in vitro fertilization.
J. Clin. Ultrasound 21, 19-24

SCHWALL, R.H., H.R. SAWYER, u. G.D. NISWENDER (1986):
Differential regulation by LH and prostaglandins of steroidogenesis in small and large luteal cells of the ewe.
J. Reprod. Fertil. 76, 821-829

SHARONY, R., R. AVIRAM, A. FISHMAN, I. COHEN, M. ALTARAS, Y. BEYTH u. R. TEPPER (2001):
Granulosa cell tumors of the ovary: do they have any unique ultrasonographic and color Doppler flow features?
Int. J. Gynecol. Cancer 11, 229-233

SHILLE, V.M., D. DORSEY u. M.-J. THATCHER (1984):
Induction of abortion in the bitch with a synthetic prostaglandin analogue.
Am. J. Vet. Res. 45, 1295-1298

SINGH, G., M.M. SINGH, S.C. MAITRA, W. ELGER, V. KALRA, S.N. UPADHYAY, S.R. CHOWDHURY u. V.P. KAMBOJ (1988):
Luteolytic action of two antiprogestational agents (RU-38486 and ZK-98734) in the rat.
J. Reprod. Fertil. 83, 73-83

SLADKEVICIUS, J.T., G.D. O'BRIAN, L.M. BAINS, J. SIMPSON, W.P. COLLINS u. S. CAMPBELL (1993):
Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the menstrual cycle.
Ultrasound Obstet. Gynecol. 3, 199-208

SMITH, M.S. u. L.E. McDONALD (1974):
Serum levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle, pseudopregnancy and pregnancy in the dog.
Endocrinology 94, 404-412

SMOLLICH, A. (1992):
Geschlechtssystem
In: SMOLLICH, A. u. MICHEL, G. (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere.
2. Aufl.
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, 1992, S. 281-299

SOHN, C. (1993):
Dopplersonographie.
In: SOHN, C., H.-J. VOIGT u. K. VETTER (Hrsg.): Kursbuch Dopplersonographie in Gynäkologie und Geburtshilfe.
Verlag Thieme, Stuttgart, New York, S. 15-28

SOHN, C. (1999):
Physikalische Grundlagen und Technik.
In: SOHN, C., W. STOLZ u. G. BASTERT (Hrsg.): Dopplersonographie in der Gynäkologie und Geburtshilfe.
Verlag Thieme, Stuttgart, New York, S. 1-19

SOKOLOWSKI, J.H. (1971):
The effects of ovariectomy on pregnancy maintenance in the bitch.
Laboratory Animal Science 21, 696-699

SOKOLOWSKI, J.H., R.G. ZIMBELMAN u. L.S. GOYINGS (1973):
Canine reproduction: reproductive organs and related structures of the nonparous, parous and postpartum bitch.
Am. J. Vet. Res. 34, 1001-1003

SONNACK, M., R. LEISER, W. MEYER u. B. HOFFMANN (2003):
Morphological Changes in the Regressing Canine Corpus Luteum and the Occurrence of Apoptotic events.
Reprod. Domest. Anim. 38, 319-364 (Abstr. P78)

SPANEL-BOROWSKI, K., I. SCHAFER, S. ZIMMERMANN, W. ENGEL u. I.M. ADHAM (2001):
Increase in final stages of follicular atresia and premature decay of corpora lutea in Insl3-deficient mice.
Mol. Reprod. Dev. 58, 281-286

SPERANDIO, S., I. DE BELLE u. D.E. BREDESEN (2000):
An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 97, 14376-14381

SPITZ, I.M., H.B. CROXATTO, P. LÄHTENMÄKI, O. HEIKINHEIMO u. C.W. BARDIN (1994):
Effect of mifepristone on inhibition of ovulation and induction of luteolysis.
Hum. Reprod. Suppl. 9, 69-77

STEINETZ, B.G., E.E. BULLESBACH, L.T. GOLDSMITH, C. SCHWABE u. G. LUST (1996):
Use of synthetic canine relaxin to develop a rapid homologous radioimmunoassay.
Biol. Reprod. 54, 1252-1260

STEINETZ, B.G., L. GOLDSMITH, H.J. HARVEY u. G. LUST (1989):
Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: Detection of relaxin as a marker of pregnancy.
Am. J. Vet. Res. 50, 68-71

STEINETZ, B.G., L. GOLDSMITH, S.H. HASAN u. G. LUST (1990):
Diurnal variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, or estradiol-17 beta in the pregnant bitch.
Endocrinology 127, 1057-1063

STEINETZ, B.G., L. GOLDSMITH u. G. LUST (1987):
Plasma relaxin levels in pregnant and lactating dogs.
Biol. Reprod. 37, 719-725

STEWART, D.R., W.J. HENZEL u. R. VANDLEN (1992):
Purification and sequence determination of canine relaxin.
J. Protein. Chem. 11, 247-253

STOELK, E., N. CHEGINI, Z.M. LEI, C.V. RAO, G. BRYANT-GREENWOOD u. J. SAN-FILIPPO (1991):
Immunocytochemical localization of relaxin in human corpora lutea: cellular and subcellular distribution and dependence on reproductive stage.
Biol. Reprod. 44, 1140-1147

STRIGINI, F.A., P.A. SCIDA, C. PARRI, A. VISCONTI, S. SUSINI u. A.R. GENAZZANI (1995):
Modifications in uterine and intraovarian artery impedance in cycles of treatment with exogenous gonadotropins: effects of luteal phase support.
Fertil. Steril. 64, 76-80

STUART, B., J. DRUMM, D.E. FITZGERALD u. N.M. DUIGNAN (1980):
Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy.
Br. J. Obstet. Gynecol. 175, 625-631

SU, J.H., A.J. ANDERSON, B.J. CUMMINGS u. C.W. COTMAN (1994):
Clinical neuroscience and neuropathology: immunohistochemical evidence for apoptosis in Alzheimer's disease.
Neuroreport 5, 2529-2533

TAN, S.L., J. ZAIDI, S. CAMPBELL, P. DOYLE u. W. COLLINS (1996):
Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle.
Am. J. Obstet. Gynecol. 175, 625-631

TAYLOR, K.J., P.N. BURNS, P.N. WELLS, D.I. CONWAY u. M.G. HULL (1985a):
Ultrasound Doppler flow studies of the ovarian and uterine arteries.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 92, 240-246

TAYLOR K.J., P.N. BURNS, J.P. WOODCOCK u. P.N. WELLS (1985b):
Blood flow in deep abdominal and pelvic vessels: ultrasonic pulsed-Doppler analysis. Radiology 154, 487-493

TELLERIA, C.M. u. R.P. DEIS (1994):
Effect of RU 486 on ovarian progesterone production at pro-oestrus and during pregnancy: a possible dual regulation of the biosynthesis of progesterone.
J. Reprod. Fertil. 102, 379-384

TELLERIA, C.M., A.A. GOYENECHE, J.C. CAVICCHIA, A.O. STATI u. R.P. DEIS (2001):
Apoptosis induced by antigestagen RU 486 in rat corpus luteum of pregnancy.
Endocrine. 15, 147-155

TELLERIA, C.M., C.O. STOCCO u. R.P. DEIS (1995):
Luteolytic action of RU 486: modulation of luteal 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activities in late pregnant rats.
J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 52, 567-573

TELLERIA, C.M., C.O. STOCCO, A.O. STATI u. R.P. DEIS (1999):
Progesterone receptor is not required for progesterone action in the rat corpus luteum of pregnancy.
Steroids 64, 760-766

TINKANEN, H., E. KUJANSUU u. P. LAIPPALA (1995):
The association between hormone levels and vascular resistance in uterine and ovarian arteries in spontaneous menstrual cycles – a Doppler-ultrasound study.
Acta Obstet. Gynec. Scand. 74, 297-301

TSAI, H.D., C.C. CHANG, Y.Y. HSIEH, C.C. LEE u. H.Y. LO (2000):
Artificial insemination. Role of endometrial thickness and pattern, of vascular impedance of the spiral and uterine arteries, and of the dominant follicle.
J. Reprod. Med. 45, 195-200

VALENTIN, L. (1995):
Vascular changes during the ovarian cycle.
In: T.H. BOURNE, E. JAUNIAUX u. D. JURKOVIC (Hrsg.): Transvaginal colour doppler.
Verlag Springer, Berlin, Heidelberg, S. 107-118

VAN DER HORST, C.J.G. u. F. VOGEL (1977):
Some effects of prostaglandin on corpora lutea and on the uterus in the cycling dog.
Tijdschr. Diergeneesk. 102, 117-123

VANDEVOORT, C.A., J.W. OVERSTREET, B.L. LASLEY u. D.R. STEWART (2000):
Effects of progesterone receptor blockers on human granulosa-luteal cell culture secretion of progesterone, estradiol, and relaxin.
Bio. Reprod. 62, 200-205

VARGA, B., u. G. FOLLY (1977):
Effects of prostaglandins on ovarian blood flow in the bitch.
J. Reprod. Fertil. 51, 315-319

VARGA, B.E., G. HORVATH, G. FOLLY u. E. STARK (1985):
Study of the luteinizing hormone-induced increase of ovarian blood flow during the estrous cycle in the rat.
Biol. Reptor. 32, 480-488

VAUPEL, M.R., SHERWOOD O.D. u. ANDERSON M.B. (1985):
Immunocytochemical studies of relaxin in ovaries of pregnant and cycling mice.
J. Histochem. Cytochem. 33, 303-308.

VERHAGEN, S.M. (2002):
Relaxin: ein luteotropher Faktor im Corpus luteum der mittleren Lutealphase bei Callithrix jacchus.
Göttingen, Med. Fak. d. Georg-August-Universität, Diss.

VERMEIRSCH, H., P. SIMOEN, M. CORYN u. W. VAN DEN BROECK (2001):
Immunolocalization of progesterone receptors in the canine ovary and their relation to sex steroid hormone concentration.
J. Reprod. Fertil. 122, 73-83

VERMES, I., C. HAANEN, H. STEFFENS-NAKKEN u. C. REUTELINGSPERGER (1995):
A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V.
J. Immunol. Methods 184, 39-51

VICKERY, B. u. G. McRAE (1980):
Effect of a synthetic prostaglandin analogue on pregnancy in beagle bitches.
Biol. Reprod. 22, 438-442

WALLACE, S.S., M.B. MAHAFFEY, D.M. MILLER, F.N. THOMPSON u. P.K. CHAKRABORTY (1992):
Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle.
Am. J. Vet. Res. 53, 209-215

WANG, Z., K. TAMURA, M. YOSHIE, H. TAMURA, K. IMAKAWA u. H. KOGO (2003):
Prostaglandin $F_{2\alpha}$-induced functional regression of the corpus luteum and apoptosis in rodents.
J. Pharmacol. Sci. 92, 19-27

WATSON, A.D.J. (1996):
Hypophyse.
In: HUTCHINSON, M. (Hrsg.): Kompendium der Endokrinologie, 1. Aufl.
Verlag Schlütersche, Hannover, S. 11-13

WEILER, U., u. R. CLAUS (1991):
Endocrine aspects of testicular function, especially hormones in the seminal plasma and their fate in the female reproductive tract: Testicular steroids and their relevance for male and female reproductive functions.
In: L. A. JOHNSON u. D. RATH (Hrsg.): Reprod. Dom. Anim. Suppl. l, Boar Semen Preservation II
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 41-60

WEINER, Z., I. THALER, J. LEVROM, N. LEWIT u. J. ITSKOVITZ-ELDOR (1993):
Assessment of ovarian and uterine blood flow by transvaginal color Doppler in ovarian-stimulated women: correlation with the number of follicles and steroid hormone levels.
Fertil. Steril. 59, 743-749

WICHTEL, J.J., M.D. WHITACRE, D.J. YATES u. S.D. VAN CAMP (1990):
Comparison of the effects of $PGF_{2\alpha}$ and bromocryptine in pregnant beagle bitches.
Theriogenology 33, 829-836

WILDT, D.E., C.J. LEVINSON u. S.W.J. SEAGER (1977):
Laparoscopic exposure and sequential observation of the ovary of the cycling bitch.
Anat. Rec. 189, 443-449

WILDT, D.E., W.B. PANKO, P.K. CHAKRABORTY u. S.W. SEAGER (1979):
Relationship of serum estrone, estradiol-17β and progesterone to LH, sexual behaviour and time of ovulation in the bitch.
Biol. Reprod. 20, 648-658

WILKENS, H. (1984):
Arterien der Beckenhöhlenorgane.
In: K. H. HABERMEHL, B. VOLLMERHAUS u. H. WILKENS (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band III., 2. Aufl.,
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 1984, S. 183

WILLIAMS, R.F., K. GORDON, H. FUNG, P. KOLM u. G.D. HODGEN (1994):
Hypothalamo-pituitary effects of RU 486: inhibition of progesterone-induced hyperprolactinaemia.
Hum. Reprod. Suppl. 9, 63-68

WILTBANK, M.C., K.P. GALLAGHER, A.K. CHRISTENSEN, R.K. BRABEC u. P.L. KEYES (1990):
Physiological and immunocytochemical evidence for a new concept of blood flow regulation in the corpus luteum.
Biol. Reprod. 42, 139-149

WILTBANK, M.C., K.P. GALLAGHER, R.C. DYSKO u. P.L. KEYES (1989):
Regulation of blood flow to the rabbit corpus luteum: Effects of estradiol and human chorionic gonadotropin.
Endocrinology 124, 605-611

WILTBANK, M.C. u. G.D. NISWENDER (1992):
Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants.
Anim. Reprod. Sci. 28, 103-110

WURTMAN, R.J. (1964):
An effect of luteinizing hormone on the fractional perfusion of the rat ovary.
Endocrinology 75, 927-933

WUTTKE, W. (1997):
Endokrinologie.
In: SCHMIDT, R.F. u. G. THEWS (Hrsg.): Physiologie des Menschen. 27. Aufl.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, S. 370-406

WYLLIE, A.H. u. P. GOLSTEIN (2001):
More than one way to go.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 11-13

WYLLIE, A.H., J.F.R. KERR, u. A.R. CURRIE (1980):
Cell death: the significance of apoptosis.
Int. Rev. Cytol. 68, 251-306

YAMABE, S., K. KATAYAMA u. M. MOCHIZUKI (1989):
The effect of RU 486 and progesterone on luteal function during pregnancy.
Nippon Naibunpi Gakkai Zahsshi 65, 497-511

YANG, X., M. LI u. S. FENG (1998):
Effects of mifepristone on the serum nitric oxide level and uterine blood flow in early pregnant women.
Zhongua Fu Chan Ke Za Zhi 33, 349-351

YOUNG, F.M., P.J. ILLINGWORTH, S.F. LUNN, D.J. HARRISON u. H.M. FRASER (1997):
Cell death during luteal regression in the marmoset monkey (Callithrix jacchus).
J. Reprod. Fertil. 111, 109-119

ZAIDI, J. (2000):
Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries in women with normal and polycystic ovaries.
Hum. Fertil. (Camb.) 3, 194-198

ZALUD, I. u. A. KURJAK (1990):
The assessment of luteal blood flow in pregnant and non pregnant women by transvaginal color Doppler.
J. Perinat. Med. 18, 215-221

ZELEZNIK, A. J., u. D. F. BENYO (1994):
Control of follicular development, corpus luteum function and the recognition of pregnancy in higher primates.
In: E. KNOBIL u. J. D. NEILL (Hrsg.): The Physiology of Reproduction.
New York: Raven, S. 751-782

ZHENG, J., P.M. FRICKE, L.P. REYNOLDS u. D.A. REDMER (1994):
Evaluation of growth, cell proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle.
Biol. Reprod. 51, 623-632

ZHU, H.H., J.R. HUANG, J. MAZELA, J. ELIAS u. L. TSENG (1990):
Differential effects of progestin and relaxin on the synthesis and secretion of immunoreactive prolactin in long term culture of human endometrial stromal cells.
J. Clin. Metab. 71, 889-899

ZHU, D.N., L.M. XUE u. P. LI (1995):
Cardiovascular effects of microinjection of corticoids and antagonists into the rostral ventro-lateral medulla in rats.
Blood Press 4, 55-62

ZÖTTL, B. (1988):
Wirkung von intrauterin verabreichten Östrogenen auf die Prostaglandin $F_{2\alpha}$-Freisetzung durch das Endometrium und Konsequenzen für die Ovulation des Schweines.
München, Univ., Tierärztl. Fak., Diss.

8 ANHANG

4%ig neutral gepuffertes Formalin

850 ml	Aqua dest.
110 ml	Formaldehydlösung 37 % (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 3999)
4 g	NaH_2PO_4 (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6346)
5,19 g	Na_2HPO_4 (Fa. Merck, Darmstadt, Nr. 6586)

pH-Wert der Gesamtlösung: 7,0

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS)

Instamed-Pulver zur Herstellung von PBS (Fa. Biochrom KG, Berlin)
9,55 g Pulver mit Aqua bidest auf 1000 ml auffüllen

pH-Wert der Gebrauchslösung: 7,4

Hämalaun-Eosin-Färbung (ROMEIS 1989)

1. Entparaffinieren:
   - 2 x 15 Min. Xylol
   - 2 x 5 Min. 100 % Ethanol
   - absteigende Ethanol-Reihe je 3 Min. 90 %
     80 %
     70 %
     50 %
   - 5 Min. Aqua bidest
2. 1 Min. Färbung in Hämalaun nach Mayer (Fa. Karl Roth GmbH & Co., Karlsruhe)
3. kurz in Aqua bidest spülen
4. 10 Min. „bläuen“ unter fließendem Leitungswasser
5. kurz in Aqua bidest spülen
6. 2 Min. Färbung in Eosin (Fa. Karl Roth GmbH & Co., Karlsruhe)
7. kurz in Aqua bidest spülen
8. Dehydrieren:
   - 30 Sec. 70 % EtOH
   - 3 Min. 90 % EtOH
   - 2 x 5 Min. 100 % EtOH
   - 2 x 5 Min. Xylol
9. eindecken in Immu-Mount (Fa. Shandon, Pittsburgh, USA)

Herstellung des Citratpuffers

A. 21,01 g Zitronensäure + 1000 ml Aqua dest. = 0,1 M Zitronensäure
B. 29,41 g Natriumcitrat + 1000 ml Aqua dest. = 0,1 M Na-Citrat

4,5 ml 0,1 M Zitronensäure + 20,5 ml 0,1 M Na-Citrat
pH-Wert auf 6,0 einstellen und auf 250 ml mit PBS auffüllen, vor Versuchsbeginn in eine große Küvette füllen und bei 120 °C in den Trockenschrank stellen.

Färbung zum Nachweis von Progesteronrezeptoren

1. Paraffinschnitte über Nacht bei 37 °C im Wärmeschrank lagern
2. Entparaffinieren: 2 x 15 Min. Xylol
   2 x 5 Min. 100% Ethanol
   je 3 Min. 90-50% Ethanol
   5 Min. Aqua bidest
3. Schnitte 10 Min. bei 120 °C in Citratpuffer inkubieren
4. Ca. 30 Min. im Citratpuffer auf Raumtemperatur abkühlen lassen
5. kurz Aqua bidest
6. 2 x 5 Min. PBS-Puffer
7. 8 Min. in 0,0125% Trypsinlösung + 0,03g $CaCl_2$ bei 37 °C stellen
8. 2 x 5 Min. PBS-Puffer
9. 20 Min. 3% H_2O_2 (Fa. Roth, Karlsruhe)
10. 2 x 5 Min. PBS-Puffer
11. 30 Min. Normalserum (human 1:100 verdünnt)
12. Primär-AK über Nacht bei 4°C in feuchter Kammer:

13. 2 x 5 Min. PBS-Puffer
14. Sekundär-AK (DAKO A) (Fa. DAKO A/S, Glostrup, Dänemark)
15. 2 x 5 Min. PBS
16. 15 Min. chromogenes Substrat (AEC-DAKO) (Fa. Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA)
17. 5 Min. Leitungswasser
18. kurz Aqua bidest
19. Eindecken mit Immu-Mount (Fa. Shandon, Pittsburgh, USA)

Färbung zum Nachweis von Relaxin und 3-β-HSD

Vorbereitung: Objektträger am Abend vorher über Nacht in den Wärmeschrank stellen.

1. Entparaffinieren (siehe H.-E.-Färbung)
2. 2 x 5 Min. PBS
3. 20 Min. 3% H_2O_2 bei Raumtemperatur in Feuchtekammer
4. 2 x 5 Min. PBS
5. 30-45 Min. Normalserum human 1:100
6. Primär-AK über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank in Feuchtekammer
7. 2 x 5 Min. PBS
8. 45 Min. Sekundär-AK (DAKO A)
9. 2 x 5 Min. PBS
10. 8 Min. chromogenes Substrat (AEC-DAKO)
11. 5 Min. stoppen in Leitungswasser
12. kurz spülen mit Aqua bidest
13. Eindecken mit Immu-Mount

Tab. 4a: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der unbehandelten Hündinnen während der ersten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	2	19,4	4,1	15,3	23,5	19,1	0,4	18,7	19,5	0,25	0,25	0,17	0,33
4	2	9,8	1,6	8,2	11,4	53,2	0,8	52,4	54,0	0,20	0,20	0,16	0,23
8	2	9,0	0,3	8,7	9,3	50,3	9,3	41,0	59,6	0,21	0,21	0,16	0,27
12	2	10,7	0,1	10,5	10,8	63,0	15,6	47,4	78,5	0,33	0,33	0,26	0,39
16	2	12,1	2,7	9,4	14,8	56,4	8,0	48,3	64,4	0,29	0,29	0,22	0,36
20	2	10,7	2,7	8,0	13,3	54,7	4,7	50,0	59,4	0,41	0,41	0,25	0,57
24	2	11,8	0,6	11,2	12,4	55,3	8,0	47,2	63,3	0,60	0,60	0,44	0,76
25	2	10,5	2,0	8,5	12,4	47,6	0,4	47,2	47,9	0,35	0,35	0,34	0,36
26	2	11,9	0,5	11,4	12,4	43,8	7,7	36,1	51,4	0,38	0,38	0,37	0,40
27	2	12,3	1,8	10,5	14,0	44,7	4,7	40,0	49,4	0,38	0,38	0,37	0,38
28	2	11,7	1,5	10,2	13,1	43,1	6,9	36,2	49,9	0,59	0,59	0,55	0,62
29	2	15,0	3,3	11,7	18,2	50,5	3,3	47,1	53,8	0,49	0,49	0,48	0,49
30	2	16,3	1,6	14,7	17,9	48,3	5,5	42,8	53,7	0,43	0,43	0,43	0,43
31	2	12,9	0,7	12,2	13,6	48,1	6,6	41,5	54,6	0,51	0,51	0,48	0,55
35	2	13,8	0,4	13,3	14,2	35,2	1,9	33,2	37,1	0,54	0,54	0,48	0,60
39	2	14,9	0,4	14,5	15,3	31,3	1,1	30,2	32,4	0,71	0,71	0,53	0,88
46	2	12,1	2,8	9,3	14,9	21,9	0,7	21,2	22,6	1,17	1,17	0,82	1,52
53	2	15,2	1,4	13,8	16,6	13,5	1,0	12,5	14,4	0,80	0,80	0,69	0,92
60	2	13,5	4,8	8,7	18,3	11,4	2,7	8,7	14,1	1,03	1,03	0,88	1,19

Tab. 4b: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der unbehandelten Hündinnen während der zweiten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	2	13,4	1,2	12,2	14,6	30,1	10,0	20,1	40,0	0,66	0,50	0,16	1,16
4	2	9,5	2,1	7,4	11,6	51,5	6,2	45,3	57,7	0,64	0,32	0,32	0,96
8	2	10,6	0,2	10,4	10,8	48,8	7,3	41,5	56,0	0,73	0,37	0,36	1,10
12	2	9,9	1,5	8,4	11,4	51,1	5,2	45,9	56,2	0,57	0,31	0,26	0,88
16	2	12,8	0,9	11,8	13,7	51,0	10,3	40,7	61,3	0,58	0,32	0,26	0,90
20	2	10,2	0,0	10,1	10,2	52,3	14,9	37,4	67,1	0,74	0,54	0,20	1,28
24	2	9,3	0,1	9,2	9,4	45,1	3,3	41,8	48,3	0,92	0,36	0,56	1,28
25	2	11,3	1,2	10,1	12,5	40,7	5,9	34,7	46,6	0,99	0,35	0,64	1,33
26	2	8,8	0,8	7,9	9,6	41,5	9,8	31,6	51,3	0,91	0,59	0,32	1,50
27	2	9,4	0,6	8,8	10,0	40,6	6,7	33,9	47,3	0,96	0,64	0,32	1,60
28	2	12,3	0,2	12,1	12,4	35,6	6,2	29,4	41,7	0,97	0,59	0,38	1,55
29	2	11,2	1,8	9,4	13,0	38,3	4,8	33,5	43,0	1,40	0,60	0,80	2,00
30	2	10,8	2,2	8,6	12,9	37,9	1,6	36,3	39,4	1,35	0,75	0,60	2,10
31	1	7,0	0,0	7,0	7,0	46,7	0,0	46,7	46,7	0,58	0,00	0,58	0,58

Tab. 5a: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der mit Aglepristone behandelten Hündinnen während der ersten Trächtigkeit (n = 3).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	3	14,2	2,5	10,6	16,0	15,0	4,1	12,0	20,9	0,32	0,17	0,20	0,56
4	3	12,2	3,2	9,4	16,6	33,8	12,1	16,7	42,8	0,29	0,16	0,18	0,51
8	3	13,6	3,9	8,5	18,0	39,4	15,6	17,4	51,2	0,42	0,37	0,13	0,94
12	3	13,2	3,2	9,5	17,3	38,7	16,7	16,0	55,6	1,92	2,45	0,15	5,39
16	3	12,0	4,9	5,4	17,0	37,9	17,4	15,8	58,2	1,57	1,98	0,17	4,38
20	3	14,8	3,9	9,6	19,1	37,4	15,2	16,0	49,9	1,87	2,28	0,22	5,10
24	3	17,4	4,2	11,5	20,5	37,2	15,8	16,5	54,9	2,13	2,49	0,32	5,66
25	3	11,4	2,8	8,3	15,1	34,4	13,3	15,8	45,7	2,14	2,37	0,34	5,49
26	3	15,7	3,4	11,0	19,0	34,0	13,6	15,0	46,1	2,04	2,38	0,34	5,41
27	3	15,8	4,5	9,5	19,5	36,2	15,3	16,0	52,9	1,99	2,19	0,41	5,09
28	3	12,1	2,6	9,6	15,6	34,7	14,0	15,3	47,4	1,97	2,20	0,38	5,08
29	3	15,3	3,2	11,4	19,2	34,1	13,2	15,6	45,2	2,11	2,28	0,43	5,33
30	3	17,4	5,4	10,3	23,3	33,3	12,1	16,3	43,3	2,43	2,66	0,47	6,20
31	3	12,8	4,2	7,6	18,0	29,2	10,0	15,2	38,0	2,86	3,16	0,51	7,32
35	3	18,1	6,4	9,7	25,1	28,4	9,6	15,1	37,1	2,05	2,05	0,48	4,95
39	3	13,5	4,2	8,4	18,8	14,3	10,3	3,2	28,0	0,93	0,74	0,25	1,96
46	3	14,0	2,5	10,8	17,0	3,3	0,3	2,9	3,7	0,37	0,16	0,22	0,59
53	3	13,9	4,9	7,1	18,6	4,4	1,8	2,1	6,5	0,28	0,09	0,17	0,37
60	3	13,1	6,6	3,8	18,9	3,8	2,5	1,4	7,3	0,33	0,19	0,18	0,60

Tab. 5b: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der mit Aglepristone behandelten Hündinnen während der zweiten Trächtigkeit (n = 3).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	3	21,7	10,1	7,5	29,3	14,0	2,6	11,4	17,5	0,26	0,14	0,15	0,47
4	3	10,9	2,3	7,7	13,0	27,0	7,8	16,0	33,0	0,31	0,07	0,23	0,39
8	3	13,9	8,3	6,0	25,4	33,7	13,7	16,8	50,3	0,36	0,12	0,19	0,48
12	3	16,3	7,4	6,1	23,6	34,2	13,8	16,4	50,1	0,40	0,17	0,19	0,62
16	3	18,2	7,2	8,7	26,2	35,5	13,7	16,5	48,3	0,59	0,41	0,29	1,18
20	3	20,1	8,9	9,0	30,7	37,8	17,0	16,3	57,8	0,94	0,50	0,23	1,30
24	3	15,4	4,8	8,7	19,7	31,5	10,7	16,6	41,0	1,37	0,81	0,29	2,25
25	3	17,8	6,1	9,1	22,7	32,1	11,6	15,8	41,4	0,90	0,44	0,37	1,45
26	3	13,3	3,9	7,9	17,1	31,7	11,3	15,8	41,6	0,96	0,56	0,32	1,69
27	3	16,1	4,7	11,0	22,3	31,0	11,5	15,0	41,2	0,99	0,74	0,41	2,03
28	3	15,9	5,7	11,1	24,0	30,2	10,3	15,7	38,6	1,46	0,82	0,70	2,59
29	3	14,6	4,0	10,2	19,8	28,1	8,5	16,1	34,8	1,52	1,29	0,57	3,35
30	3	12,4	3,8	7,8	17,0	29,8	10,6	15,3	40,3	1,41	1,07	0,46	2,90
31	2	14,5	5,7	8,8	20,2	23,6	7,9	15,7	31,5	1,76	1,25	0,50	3,01
32	2	15,8	5,7	10,1	21,5	21,2	5,8	15,4	26,9	1,76	1,12	0,65	2,88
33	1	9,3	0,0	9,3	9,3	16,2	0,0	16,2	16,2	0,64	0,00	0,64	0,64

Tab. 6a: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen während der ersten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	2	15,0	0,6	14,4	15,5	21,4	7,2	14,2	28,6	0,32	0,23	0,09	0,54
4	2	11,0	1,5	9,5	12,4	43,8	1,6	42,1	45,4	0,42	0,25	0,17	0,67
8	2	11,9	0,4	11,5	12,3	44,6	3,5	41,1	48,1	0,34	0,25	0,09	0,58
12	2	18,3	1,8	16,5	20,0	47,1	1,7	45,4	48,8	0,27	0,19	0,08	0,47
16	2	12,2	0,5	11,7	12,6	42,7	3,5	39,1	46,2	0,29	0,23	0,06	0,52
20	2	14,1	4,6	9,5	18,7	40,7	2,6	38,0	43,3	0,31	0,26	0,06	0,57
24	2	16,4	0,1	16,2	16,5	43,4	0,1	43,3	43,4	0,45	0,24	0,21	0,68
25	2	13,5	1,0	12,5	14,5	11,5	1,2	10,3	12,6	0,59	0,10	0,48	0,69
26	2	16,3	1,4	14,9	17,6	6,0	1,7	4,3	7,6	0,58	0,14	0,44	0,72
27	2	15,5	1,8	13,7	17,2	7,0	0,8	6,2	7,7	0,62	0,14	0,48	0,75
28	2	14,8	1,6	13,2	16,4	4,8	0,2	4,6	5,0	0,72	0,11	0,61	0,83
29	2	17,8	2,9	14,9	20,6	4,2	0,2	3,9	4,4	0,62	0,07	0,55	0,70
30	2	18,8	2,3	16,5	21,0	4,1	0,2	3,9	4,3	0,71	0,09	0,62	0,81
31	2	14,9	1,7	13,2	16,5	5,2	1,1	4,1	6,3	0,65	0,12	0,53	0,78
35	2	14,6	0,4	14,1	15,0	5,5	1,2	4,3	6,6	0,85	0,12	0,73	0,96
39	2	16,1	4,8	11,3	20,8	3,5	0,5	3,0	4,0	0,83	0,22	0,62	1,05
46	2	14,8	3,8	11,0	18,5	3,3	1,1	2,2	4,4	0,65	0,09	0,56	0,74
53	2	14,3	0,8	13,5	15,0	2,6	0,6	2,0	3,1	0,40	0,10	0,30	0,50
60	2	13,0	4,5	8,5	17,4	3,2	1,0	2,2	4,1	0,36	0,08	0,28	0,45

Tab. 6b: Mittlere Estradiol-17β-, Progesteron- und Relaxinkonzentrationen ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Minimum (Min) und Maximum (Max) der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen während der zweiten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	n	Estradiol-17β (pg/ml)				Progesteron (ng/ml)				Relaxin (ng/ml)			
		$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max	$\bar{x}$	± SD	Min	Max
0	2	13,5	1,0	12,5	14,4	15,1	1,7	13,3	16,8	0,42	0,21	0,21	0,63
4	2	7,6	0,0	7,5	7,6	41,3	3,8	37,5	45,1	0,42	0,20	0,22	0,61
8	2	9,3	2,3	7,0	11,5	43,4	3,0	40,4	46,3	0,41	0,18	0,23	0,60
12	2	10,3	0,8	9,5	11,1	46,1	1,7	44,4	47,8	0,37	0,12	0,25	0,48
16	2	11,7	1,3	10,4	13,0	46,6	2,7	43,9	49,2	0,43	0,14	0,29	0,56
20	2	9,7	0,8	8,8	10,5	37,0	2,6	34,4	39,6	0,51	0,16	0,35	0,68
24	2	12,6	2,9	9,7	15,5	32,9	2,5	30,4	35,3	0,50	0,28	0,22	0,78
25	2	9,0	0,3	8,7	9,2	6,9	2,3	4,6	9,2	0,55	0,28	0,27	0,82
26	2	10,2	2,8	7,4	12,9	5,7	2,0	3,7	7,7	0,60	0,32	0,28	0,92
27	2	8,9	2,8	6,1	11,7	4,5	1,9	2,6	6,4	0,50	0,19	0,31	0,68
28	2	10,9	2,4	8,5	13,2	3,9	1,9	2,0	5,7	0,62	0,27	0,35	0,89
29	2	12,2	3,0	9,2	15,2	3,9	0,3	3,6	4,1	0,52	0,24	0,28	0,76
30	2	9,6	0,5	9,1	10,1	4,6	0,7	3,9	5,3	0,48	0,21	0,27	0,69
31	2	9,3	2,1	7,2	11,3	5,5	2,5	3,0	7,9	0,58	0,23	0,35	0,81
32	2	9,4	3,5	5,9	12,8	2,3	1,6	0,8	3,9	0,58	0,25	0,33	0,83
33	2	9,0	2,7	6,3	11,6	1,2	0,7	0,5	1,9	0,63	0,32	0,32	0,95
34	1	6,8	0,0	6,8	6,8	0,7	0,0	0,7	0,7	0,34	0,00	0,34	0,34

Tab. 7a: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der unbehandelten Hündinnen in der ersten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
5 n = 2	24,30 2,70 19,50 29,13	13,66 2,09 9,92 17,05	16,75 2,79 11,60 21,50	17,27 2,46 13,00 21,30	0,62 0,09 0,50 0,82	0,44 0,04 0,39 0,52	1,47 0,13 1,29 1,80	1,80 0,13 1,62 2,10
10 n = 2	23,17 4,97 15,67 30,80	11,86 2,97 6,76 17,10	15,93 3,70 9,62 21,70	15,62 3,57 9,67 21,50	0,75 0,11 0,57 0,91	0,50 0,04 0,44 0,57	1,47 0,14 1,23 1,65	1,96 0,16 1,76 2,33
15 n = 2	22,40 4,18 16,37 28,90	12,33 2,61 8,73 17,25	15,24 3,47 10,40 21,00	15,53 3,06 11,40 21,30	0,67 0,11 0,49 0,83	0,45 0,05 0,37 0,53	1,48 0,11 1,33 1,69	1,83 0,15 1,56 2,04
20 n = 2	19,88 3,33 17,23 30,00	10,79 2,43 8,35 17,90	14,25 2,95 12,20 23,60	14,17 2,82 11,90 22,80	0,65 0,08 0,53 0,79	0,46 0,04 0,40 0,55	1,41 0,09 1,27 1,61	1,86 0,19 1,62 2,25
24 n = 2	22,37 5,75 15,43 32,80	12,11 3,48 6,75 18,60	16,00 3,79 10,90 22,80	16,03 4,13 10,80 24,30	0,67 0,06 0,57 0,78	0,47 0,04 0,42 0,56	1,41 0,06 1,34 1,57	1,89 0,15 1,72 2,29
26 n = 2	21,55 4,68 15,00 29,60	11,88 2,67 8,05 16,30	15,01 3,02 10,30 20,00	15,12 3,21 10,90 20,60	0,64 0,07 0,54 0,78	0,45 0,03 0,40 0,52	1,43 0,10 1,31 1,60	1,82 0,11 1,67 2,09
28 n = 2	17,73 4,51 12,50 27,77	9,45 2,76 6,77 15,90	12,28 2,95 9,07 19,50	12,43 3,05 8,75 19,20	0,67 0,09 0,57 0,86	0,47 0,04 0,42 0,55	1,44 0,10 1,24 1,58	1,90 0,18 1,73 2,25
30 n = 2	16,78 3,83 10,80 24,40	8,80 2,38 5,20 13,80	11,49 3,18 7,17 18,80	11,47 2,95 7,15 17,80	0,71 0,09 0,59 0,90	0,48 0,04 0,43 0,55	1,48 0,13 1,30 1,76	1,93 0,16 1,74 2,22
32 n = 2	16,28 3,32 10,33 24,40	9,13 2,69 5,26 16,75	11,85 2,81 6,94 18,80	11,77 2,91 6,36 18,80	0,63 0,10 0,42 0,79	0,45 0,05 0,32 0,51	1,38 0,07 1,26 1,48	1,81 0,16 1,45 2,02

Fortsetzung Tab. 7a

	14,34	7,31	9,75	9,79	0,72	0,49	1,48	1,99
34	2,96	1,80	2,21	2,09	0,11	0,05	0,16	0,20
n = 2	10,57	5,52	6,60	7,17	0,54	0,42	1,30	1,74
	20,20	11,00	14,20	14,50	0,96	0,57	1,84	2,38
	14,84	7,92	10,47	10,56	0,67	0,47	1,44	1,90
36	3,17	2,09	2,79	2,60	0,12	0,05	0,14	0,20
n = 2	11,23	5,72	7,24	7,59	0,51	0,40	1,24	1,65
	22,30	13,00	17,30	16,70	0,89	0,57	1,74	2,31
	14,79	7,71	9,88	10,17	0,71	0,48	1,51	1,93
38	1,82	1,10	1,35	1,48	0,08	0,03	0,12	0,11
n = 2	11,70	6,20	8,15	8,05	0,62	0,44	1,30	1,74
	19,30	10,10	12,20	13,20	0,91	0,54	1,71	2,19
	17,25	8,91	11,54	11,71	0,73	0,49	1,49	1,97
40	4,44	2,72	2,77	3,34	0,11	0,04	0,12	0,15
n = 2	12,30	5,79	7,47	7,54	0,58	0,42	1,33	1,73
	23,57	13,50	15,90	16,60	0,92	0,55	1,68	2,23
	15,62	7,22	10,32	10,29	0,82	0,54	1,51	2,20
45	4,86	2,35	3,16	3,19	0,07	0,04	0,07	0,21
n = 2	10,10	4,21	6,30	6,66	0,67	0,46	1,42	1,85
	22,33	10,60	14,90	14,80	0,95	0,62	1,64	2,64
	14,69	7,27	9,43	10,03	0,75	0,51	1,55	2,06
50	5,36	2,85	3,14	3,63	0,11	0,06	0,13	0,25
n = 2	9,78	3,86	5,94	6,56	0,53	0,39	1,29	1,64
	26,10	12,50	16,00	17,40	0,98	0,63	1,82	2,67
	9,43	4,19	5,73	6,30	0,84	0,56	1,66	2,27
55	1,56	0,78	1,05	1,07	0,08	0,04	0,16	0,20
n = 2	6,98	3,26	4,18	4,71	0,73	0,50	1,33	2,00
	11,60	5,78	7,35	7,97	1,01	0,64	1,93	2,80
	9,85	4,35	6,21	6,56	0,83	0,56	1,61	2,28
60	1,85	0,82	1,40	1,22	0,11	0,04	0,15	0,24
n = 2	7,14	2,94	3,98	4,72	0,71	0,51	1,31	2,03
	12,80	5,52	8,29	8,21	1,06	0,63	1,81	2,70

Tab. 7b: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der mit Aglepristone behandelten Hündinnen in der ersten Trächtigkeit (n = 3).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
	21,08	11,21	14,01	14,28	0,74	0,48	1,53	1,94
5	6,26	4,08	4,58	4,89	0,19	0,07	0,17	0,29
n = 3	11,60	4,32	7,30	6,24	0,51	0,39	1,27	1,61
	33,40	17,85	22,50	23,30	1,17	0,63	1,94	2,69
	26,48	14,64	19,29	18,78	0,64	0,45	1,39	1,80
10	4,77	2,84	4,26	3,70	0,09	0,04	0,09	0,15
n = 3	18,70	10,20	13,30	13,80	0,49	0,38	1,26	1,59
	36,23	20,05	28,00	26,40	0,82	0,53	1,61	2,09
	22,62	12,01	15,92	15,42	0,69	0,46	1,44	1,89
15	5,93	2,89	4,57	3,78	0,12	0,05	0,14	0,18
n = 3	13,47	6,46	8,52	8,58	0,53	0,41	1,20	1,66
	33,90	16,35	24,50	22,40	1,02	0,59	1,80	2,31
	22,19	11,73	15,73	15,11	0,70	0,47	1,43	1,91
20	4,89	2,99	3,55	3,62	0,11	0,05	0,17	0,18
n = 3	13,50	7,30	8,76	9,99	0,51	0,38	1,21	1,61
	30,33	18,00	22,10	22,30	0,91	0,56	1,86	2,26
	19,15	9,96	13,72	13,15	0,71	0,48	1,41	1,94
24	3,02	1,91	2,56	2,42	0,12	0,05	0,15	0,16
n = 3	12,60	5,97	8,10	7,98	0,50	0,37	1,24	1,59
	24,30	13,00	17,50	16,60	0,90	0,54	1,74	2,19
	18,95	10,06	14,45	13,56	0,65	0,46	1,33	1,89
26	4,36	2,15	3,72	3,37	0,13	0,06	0,12	0,23
n = 3	9,90	5,62	7,03	6,95	0,45	0,35	1,17	1,55
	28,23	13,70	21,30	20,00	0,95	0,55	1,58	2,33
	20,38	10,82	14,72	14,06	0,70	0,48	1,39	1,92
28	3,16	2,52	2,51	2,51	0,10	0,05	0,12	0,20
n = 3	15,30	6,79	9,70	10,00	0,46	0,35	1,19	1,47
	26,07	16,40	20,00	19,00	0,88	0,57	1,58	2,30
	18,07	9,49	12,71	12,27	0,72	0,48	1,43	1,92
30	2,93	2,15	2,24	2,35	0,10	0,05	0,12	0,19
n = 3	13,10	5,82	8,67	8,24	0,55	0,41	1,22	1,64
	23,80	14,40	17,30	18,00	0,88	0,56	1,63	2,25
	18,90	10,46	13,29	13,41	0,64	0,45	1,44	1,81
32	4,81	2,78	3,74	3,70	0,10	0,04	0,14	0,14
n = 3	13,20	7,45	8,79	9,03	0,49	0,38	1,23	1,58
	29,70	17,00	22,00	22,40	0,87	0,55	1,76	2,15

Fortsetzung Tab. 7b

	18,62	9,58	11,81	12,80	0,70	0,48	1,53	1,93
34	5,07	2,17	2,46	3,21	0,13	0,05	0,17	0,20
n = 3	11,90	6,80	8,63	8,64	0,58	0,42	1,34	1,71
	32,50	15,60	19,60	22,30	1,07	0,60	1,93	2,45
	16,43	8,86	11,47	11,60	0,58	0,38	1,16	1,54
36	9,00	4,87	6,45	6,50	0,30	0,19	0,58	0,78
n = 3	2,93	2,15	2,24	2,35	0,10	0,04	0,12	0,14
	32,50	17,00	22,00	22,40	1,07	0,60	1,93	2,45
	18,54	10,14	12,72	13,16	0,66	0,46	1,47	1,84
38	5,20	3,27	3,84	3,94	0,08	0,03	0,10	0,14
n = 3	11,00	5,13	7,47	7,06	0,52	0,40	1,32	1,56
	27,40	16,45	19,60	20,50	0,83	0,53	1,70	2,14
	11,20	5,57	8,06	7,77	0,74	0,50	1,40	2,04
40	3,25	1,79	2,47	2,44	0,11	0,05	0,09	0,22
n = 3	7,25	3,36	4,94	4,52	0,51	0,40	1,23	1,69
	19,83	9,84	14,00	13,80	0,99	0,60	1,60	2,50
	8,32	4,05	5,98	5,63	0,75	0,51	1,38	2,04
45	3,38	1,56	2,23	2,19	0,11	0,05	0,12	0,21
n = 3	4,22	2,19	2,69	2,74	0,59	0,43	1,20	1,75
	17,60	8,49	11,80	11,70	0,96	0,59	1,57	2,46
	6,81	3,17	4,65	4,55	0,79	0,52	1,51	2,14
50	1,94	0,73	1,70	1,24	0,11	0,06	0,17	0,29
n = 3	4,51	2,18	2,88	3,03	0,61	0,44	1,15	1,77
	11,90	4,97	9,38	7,47	0,96	0,62	1,75	2,66
	6,13	3,04	4,25	4,15	0,75	0,50	1,48	2,02
55	1,78	0,80	1,37	1,15	0,15	0,06	0,13	0,25
n = 3	3,83	1,56	2,61	2,38	0,49	0,38	1,30	1,60
	9,73	4,45	7,38	6,77	1,01	0,60	1,68	2,50
	7,29	3,16	4,90	4,61	0,90	0,56	1,50	2,31
60	1,34	0,57	0,96	0,95	0,06	0,02	0,13	0,12
n = 3	3,82	1,84	2,76	2,35	0,79	0,53	1,29	2,06
	8,81	3,91	6,75	6,25	1,01	0,61	1,70	2,55

Tab. 7c: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen in der ersten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
	29,95	17,31	22,11	21,98	0,57	0,42	1,36	1,73
5	2,94	1,23	2,50	1,98	0,08	0,04	0,09	0,12
n = 2	25,80	15,20	18,70	18,90	0,47	0,36	1,27	1,56
	35,57	19,40	27,40	26,10	0,67	0,47	1,56	1,88
	25,39	14,80	18,46	18,34	0,59	0,42	1,39	1,73
10	4,68	3,20	3,94	3,79	0,09	0,04	0,12	0,12
n = 2	18,30	10,20	12,60	12,60	0,43	0,34	1,23	1,52
	34,40	19,90	24,80	25,00	0,78	0,49	1,71	1,98
	24,03	13,21	16,39	16,80	0,65	0,45	1,48	1,84
15	2,77	1,81	2,45	2,16	0,08	0,04	0,09	0,14
n = 2	17,40	8,73	10,80	11,20	0,50	0,36	1,31	1,55
	28,50	15,90	20,50	19,90	0,77	0,52	1,63	2,06
	22,24	12,08	15,25	15,58	0,65	0,46	1,46	1,84
20	2,94	1,46	2,11	1,96	0,07	0,03	0,12	0,10
n = 2	18,17	8,98	11,70	11,90	0,51	0,40	1,20	1,66
	27,57	14,10	18,40	18,00	0,78	0,52	1,63	2,07
	22,55	11,99	15,06	15,62	0,68	0,47	1,51	1,90
24	3,35	2,10	2,38	2,32	0,08	0,04	0,14	0,15
n = 2	17,93	9,10	9,66	11,40	0,56	0,41	1,32	1,69
	29,00	15,70	17,50	18,70	0,80	0,53	1,87	2,20
	17,19	9,00	11,06	11,63	0,71	0,48	1,58	1,92
26	3,43	1,84	2,49	2,11	0,08	0,03	0,12	0,13
n = 2	11,43	5,65	7,72	7,97	0,58	0,43	1,43	1,75
	22,80	11,90	16,40	15,00	0,85	0,53	1,76	2,15
	12,61	6,38	8,40	8,53	0,71	0,48	1,50	1,94
28	5,01	2,23	3,27	3,24	0,08	0,04	0,11	0,17
n = 2	6,02	3,19	3,95	4,24	0,58	0,41	1,36	1,68
	18,50	8,84	12,50	12,50	0,92	0,58	1,73	2,37
	11,24	5,91	7,98	7,83	0,70	0,48	1,44	1,93
30	2,45	1,63	2,35	2,15	0,12	0,05	0,14	0,20
n = 2	8,33	4,27	5,65	5,88	0,50	0,40	1,21	1,68
	15,93	9,38	12,60	12,20	0,91	0,57	1,67	2,34
	12,35	6,06	8,10	8,08	0,79	0,51	1,53	2,05
32	2,93	1,54	1,97	1,94	0,10	0,05	0,15	0,20
n = 2	6,68	3,48	5,27	4,58	0,57	0,42	1,24	1,74
	16,53	8,46	10,90	11,10	0,96	0,61	1,80	2,56

Fortsetzung Tab. 7c

	10,07	5,28	6,96	6,92	0,74	0,49	1,52	1,94
34	2,77	1,79	2,66	2,25	0,13	0,05	0,21	0,18
n = 2	6,10	2,85	3,47	3,72	0,58	0,41	1,23	1,71
	13,37	7,43	10,60	9,94	0,91	0,55	1,80	2,20
	9,62	5,08	6,75	6,77	0,66	0,46	1,42	1,87
36	3,27	1,51	2,32	2,13	0,07	0,04	0,07	0,14
n = 2	5,52	3,34	3,80	4,09	0,53	0,40	1,32	1,63
	14,50	7,60	10,10	10,00	0,75	0,51	1,54	2,04
	8,19	3,91	5,43	5,45	0,80	0,53	1,52	2,11
38	2,18	1,13	1,44	1,50	0,09	0,04	0,16	0,16
n = 2	5,98	2,62	3,35	3,48	0,75	0,50	1,23	1,96
	12,40	6,18	7,54	8,21	0,97	0,57	1,79	2,30
	10,60	5,00	7,64	7,14	0,79	0,53	1,39	2,14
40	1,85	0,99	1,53	1,31	0,07	0,02	0,07	0,10
n = 1	7,51	3,48	5,49	5,37	0,70	0,50	1,26	2,00
	12,80	6,29	10,20	9,26	0,91	0,57	1,46	2,32
	9,93	4,56	7,07	6,92	0,76	0,54	1,42	2,18
45	1,46	0,64	1,33	1,02	0,06	0,04	0,14	0,19
n = 1	6,67	3,33	4,68	4,75	0,70	0,50	1,18	2,00
	10,80	5,14	9,09	8,00	0,86	0,60	1,64	2,50
	8,03	3,52	6,05	5,33	0,86	0,57	1,34	2,32
50	1,34	0,84	1,22	1,11	0,11	0,04	0,09	0,22
n = 1	6,16	2,46	4,32	3,66	0,70	0,50	1,23	1,97
	10,23	5,18	8,29	7,28	1,00	0,63	1,43	2,66
	8,56	3,65	5,70	5,54	0,90	0,58	1,53	2,41
55	2,00	1,07	1,69	1,41	0,09	0,05	0,13	0,28
n = 1	6,11	2,20	3,92	3,94	0,76	0,52	1,38	2,08
	11,83	4,86	8,57	7,71	1,06	0,65	1,75	2,89
	8,49	3,56	5,71	5,43	0,92	0,58	1,51	2,41
60	0,80	0,43	0,91	0,57	0,14	0,04	0,19	0,24
n = 1	7,57	2,67	4,01	4,38	0,73	0,54	1,33	2,18
	9,55	4,01	6,71	6,08	1,12	0,65	1,89	2,84

Tab. 8a: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der unbehandelten Hündinnen in der zweiten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
	30,34	17,32	21,91	21,83	0,61	0,43	1,41	1,77
5	3,42	3,10	4,62	3,34	0,09	0,04	0,16	0,13
n = 2	24,60	12,70	15,60	17,30	0,42	0,34	1,15	1,51
	36,50	24,10	31,80	29,20	0,73	0,49	1,66	1,95
	28,72	16,53	20,18	20,36	0,60	0,43	1,43	1,75
10	2,22	1,89	2,19	2,04	0,06	0,03	0,08	0,09
n = 2	25,00	13,80	15,60	16,50	0,48	0,36	1,32	1,56
	32,83	21,00	24,70	25,00	0,69	0,46	1,60	1,86
	25,09	14,12	18,83	17,84	0,62	0,44	1,34	1,79
15	2,05	1,85	2,19	1,97	0,09	0,04	0,07	0,14
n = 2	21,60	10,50	14,40	13,80	0,53	0,40	1,23	1,66
	28,40	16,40	22,10	20,90	0,81	0,51	1,51	2,06
	23,28	12,89	16,18	16,46	0,64	0,45	1,45	1,82
20	3,43	2,38	2,70	2,61	0,08	0,03	0,09	0,12
n = 2	18,60	9,00	12,10	11,80	0,54	0,40	1,29	1,67
	30,00	16,80	21,60	20,80	0,82	0,52	1,56	2,08
	21,08	11,34	15,10	15,28	0,64	0,46	1,40	1,86
24	4,05	2,21	2,91	2,81	0,05	0,03	0,08	0,09
n = 2	14,60	7,64	9,59	9,99	0,54	0,41	1,28	1,69
	26,90	14,50	19,20	18,60	0,72	0,50	1,53	1,98
	19,22	10,04	13,62	13,51	0,69	0,48	1,42	1,93
26	2,70	1,72	2,19	2,17	0,08	0,04	0,11	0,13
n = 2	13,40	6,89	8,99	8,61	0,53	0,42	1,22	1,71
	22,80	11,90	16,50	16,10	0,79	0,54	1,66	2,15
	18,50	9,63	13,47	13,13	0,67	0,48	1,38	1,92
28	2,70	1,25	2,00	1,35	0,08	0,03	0,09	0,11
n = 2	13,73	7,21	10,10	11,00	0,52	0,42	1,25	1,72
	22,60	11,10	17,20	14,90	0,79	0,52	1,57	2,10
	18,01	9,26	12,28	12,66	0,70	0,49	1,47	1,97
30	2,33	1,67	1,73	1,77	0,09	0,05	0,11	0,18
n =2	13,20	5,82	8,81	8,81	0,53	0,42	1,18	1,73
	21,40	11,90	14,50	15,00	0,85	0,56	1,67	2,29

Tab. 8b: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der mit Aglepristone behandelten Hündinnen in der zweiten Trächtigkeit (n = 3).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
	30,31	17,28	22,14	21,53	0,61	0,43	1,38	1,76
5	3,31	2,19	3,37	2,66	0,07	0,04	0,10	0,11
n = 3	20,20	11,50	12,90	13,70	0,42	0,34	1,20	1,51
	35,10	21,00	27,60	25,50	0,68	0,48	1,57	1,93
	25,25	14,49	18,37	17,84	0,60	0,43	1,38	1,75
10	3,08	1,90	2,04	2,07	0,06	0,03	0,08	0,10
n = 3	19,30	10,60	14,10	14,10	0,49	0,36	1,27	1,56
	30,70	18,90	22,80	21,90	0,69	0,47	1,53	1,90
	22,76	12,89	16,41	15,73	0,63	0,43	1,39	1,77
15	3,37	1,95	2,55	2,14	0,08	0,03	0,10	0,11
n = 3	18,20	9,58	12,20	12,40	0,51	0,38	1,25	1,59
	29,90	16,55	20,30	20,20	0,78	0,50	1,59	2,02
	23,17	13,22	16,91	16,33	0,61	0,43	1,37	1,75
20	2,39	1,31	1,91	1,68	0,05	0,03	0,10	0,08
n = 3	20,40	11,10	13,80	14,30	0,50	0,37	1,17	1,59
	28,80	15,80	21,00	20,30	0,68	0,47	1,55	1,89
	22,72	12,55	17,13	16,17	0,63	0,45	1,34	1,82
24	2,73	1,70	2,74	1,97	0,09	0,04	0,12	0,13
n = 3	17,30	9,20	11,20	12,20	0,52	0,38	1,18	1,61
	26,90	15,60	22,20	20,40	0,79	0,52	1,56	2,07
	21,08	11,57	15,39	15,04	0,64	0,45	1,38	1,83
26	2,94	1,93	2,57	2,43	0,07	0,03	0,08	0,11
n = 3	16,20	8,64	10,90	11,00	0,52	0,39	1,25	1,64
	27,00	14,70	20,50	19,80	0,76	0,52	1,54	2,06
	20,79	11,34	15,27	14,81	0,64	0,45	1,36	1,84
28	3,20	1,87	2,18	2,05	0,09	0,04	0,12	0,16
n = 3	16,60	9,21	12,50	11,80	0,53	0,40	1,24	1,67
	27,30	15,20	20,00	19,10	0,89	0,54	1,75	2,19
	20,99	11,40	15,51	14,70	0,65	0,46	1,35	1,85
30	2,74	1,71	1,73	1,76	0,08	0,04	0,09	0,14
n = 3	15,00	8,00	11,60	10,50	0,55	0,41	1,21	1,70
	25,90	14,60	18,80	18,10	0,87	0,54	1,56	2,16
	18,63	9,51	13,28	12,60	0,73	0,49	1,41	1,96
32	2,18	1,14	1,66	1,72	0,07	0,03	0,08	0,11
n = 2	14,37	7,22	10,80	10,20	0,60	0,43	1,24	1,75
	22,60	11,20	16,20	15,90	0,82	0,54	1,58	2,17

Tab. 8c: Dopplersonographische Befunde: Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichungen (± SD), Maximum (Max) und Minimum (Min) der stromalen Ovararterien der mit Cloprostenol/Cabergolin behandelten Hündinnen in der zweiten Trächtigkeit (n = 2).

Tag p.ov.	SPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	EDV $\bar{x}$ ± SD Min Max	DPV $\bar{x}$ ± SD Min Max	TAMAX $\bar{x}$ ± SD Min Max	PI $\bar{x}$ ± SD Min Max	RI $\bar{x}$ ± SD Min Max	S/D $\bar{x}$ ± SD Min Max	A/B $\bar{x}$ ± SD Min Max
	31,07	17,33	21,31	20,53	0,65	0,44	1,46	1,79
5	2,84	1,55	2,20	3,76	0,06	0,02	0,12	0,08
n = 2	26,20	13,80	17,40	10,90	0,56	0,40	1,26	1,67
	35,70	19,70	24,00	25,10	0,78	0,48	1,69	1,91
	27,67	16,31	19,38	20,41	0,56	0,41	1,43	1,70
10	1,79	1,46	1,96	1,75	0,06	0,03	0,09	0,08
n = 2	24,10	13,60	14,80	16,50	0,46	0,36	1,32	1,55
	30,80	18,60	22,30	22,50	0,65	0,45	1,62	1,81
	25,96	15,98	18,60	19,50	0,52	0,39	1,40	1,64
15	1,43	2,11	1,66	1,85	0,10	0,05	0,07	0,15
n = 2	23,20	13,00	16,10	16,70	0,41	0,32	1,30	1,48
	28,10	19,10	21,00	22,20	0,68	0,47	1,55	1,88
	24,61	14,17	17,71	17,74	0,61	0,43	1,40	1,74
20	2,67	2,15	2,91	2,85	0,10	0,04	0,10	0,12
n = 2	21,00	10,60	13,40	13,10	0,47	0,36	1,20	1,57
	29,20	17,60	24,10	23,60	0,79	0,50	1,56	1,98
	23,17	13,04	16,44	16,80	0,60	0,44	1,41	1,79
24	1,67	1,27	0,45	0,99	0,04	0,03	0,09	0,08
n = 2	20,70	11,50	15,50	15,10	0,51	0,38	1,26	1,62
	25,70	15,10	17,40	18,80	0,68	0,48	1,56	1,94
	17,55	9,14	11,94	11,81	0,71	0,48	1,48	1,93
26	1,36	0,84	1,46	0,95	0,06	0,03	0,10	0,11
n = 2	15,30	7,88	9,83	10,40	0,63	0,44	1,26	1,78
	20,80	11,10	14,70	13,60	0,81	0,53	1,65	2,11
	13,21	6,74	8,61	8,83	0,73	0,49	1,54	1,97
28	2,58	1,41	1,66	1,57	0,10	0,04	0,12	0,17
n = 2	9,77	4,69	6,19	6,52	0,56	0,43	1,35	1,75
	18,60	10,20	11,60	12,40	0,88	0,57	1,78	2,34
	12,64	6,34	7,55	8,68	0,74	0,50	1,68	2,01
30	2,45	1,36	1,43	1,86	0,08	0,03	0,11	0,12
n = 2	9,53	4,30	5,58	6,12	0,56	0,43	1,45	1,75
	18,00	8,77	10,20	11,90	0,86	0,55	1,81	2,22
	10,78	5,18	7,00	7,13	0,79	0,52	1,54	2,10
32	2,09	1,17	1,38	1,42	0,08	0,04	0,13	0,16
n = 2	6,43	3,21	4,37	4,23	0,66	0,46	1,35	1,84
	14,70	7,65	9,84	10,20	0,96	0,58	1,83	2,36
	8,20	4,07	5,58	5,52	0,75	0,51	1,47	2,03
34	0,78	0,57	0,54	0,61	0,07	0,04	0,04	0,16
n = 1	7,21	3,28	4,84	4,85	0,66	0,45	1,38	1,83
	9,55	4,89	6,48	6,68	0,85	0,57	1,52	2,32

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. A.-R. Günzel-Apel für die Überlassung des sehr interessanten Themas und die jederzeit gewährte fachliche und freundliche Unterstützung und Beratung, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Frau Prof. Dr. A. Einspanier aus dem Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Leipzig und ihren Mitarbeitern danke ich für die freundliche Aufnahme, die fachliche Beratung und das allzeit offene Ohr.

Herrn Prof. Dr. H.-A. Schoon und Frau Dr. K. Steiger aus dem Institut für Veterinär-Pathologie danke ich für die fachliche Beratung.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. H.-O. Hoppen und seinen Mitarbeitern, insbesondere Frau H. Niederstucke, für die Durchführung der endokrinologischen Untersuchungen.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. I. Nolte und Frau Prof. Dr. A. Meyer-Lindenberg und ihren Mitarbeitern aus der Klinik für Kleine Haustiere für die kompetente Durchführung der operativen Maßnahmen.

Ferner danke ich Frau Prof. Dr. C. Poulsen-Nautrup für die Einführung in die Geheimnisse der Dopplersonographie.

Ein ganz großes Dankeschön richte ich an meine Kollegin Etta Politt für die zahlreichen gemeinsamen Stunden am Ultraschallgerät, die Wochenenddienste, die gemeinsame Zeit in Leipzig und endlose Telefonate beim Schreiben der Arbeit.

Danke an Stephan Scholte und Marlene Jagodzinski für die Hilfe bei den Rechenprogrammen, an denen ich ohne sie sicherlich verzweifelt wäre, und an Mirja Heinrich fürs Korrekturlesen.

Außerdem richtet sich mein ganz besonderer Dank an die Laborantinnen, Doktorandinnen und Pfleger des Instituts für Reproduktionsmedizin, die mit ihrer Freundlichkeit, Geduld und Hilfe wesentlich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

Ein ganz besonders großes Dankeschön geht an acht Beaglemädchen, die mein Leben für eine kurze Zeit bereichert haben und an Herrn Hiesener für die Vermittlung in liebe Hände.

Ferner danke ich Michael für sein Verständnis und seine Hilfe und das Retten meiner Daten von ganzem Herzen.

Mein größter Dank richtet sich an meine Mutter, die mir das tierärztliche Studium ermöglicht hat und ohne deren Unterstützung und liebevolle Anteilnahme ein Gelingen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.