

LISA MIHSLER

UNTERSUCHUNG ZUR DOWNREGULATION
DER HODENFUNKTION BEIM ZIEGENBOCK
DURCH ALTRENOGEST

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

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

1. Auflage 2019

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

1st Edition 2019

© 2019 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin

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

Betreuer: Prof. Dr. Axel Wehrend

UNTERSUCHUNG ZUR DOWNREGULATION DER HODENFUNKTION BEIM ZIEGENBOCK DURCH ALTRENOGEST

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Lisa Mihsler

Tierärztin aus Herne (Nordrhein-Westfalen)

Gießen 2019

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

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Axel Wehrend

2. Gutachter: PD Dr. Daniela Fietz

Tag der Disputation: 04.11.2019

Meinen Eltern

Ich erkläre:

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

Gießen, 02.02.2019

Lisa Mihsler

Teile und Auszüge dieser Arbeit sind folgendermaßen publiziert:

Mihlsler, L.; H. Wagner; A. Wehrend (2016)

Unterdrückung von Sexualverhalten und Fortpflanzung beim männlichen kleinen
Wiederkäuer

Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere 44 (3), 171-178

1 EINLEITUNG.....	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Reversible Unterdrückung der Hodenfunktion beim Säugetier.....	2
2.2 Reversible Unterdrückung der Hodenfunktion beim kleinen Wiederkäuer ...	3
2.2.1 Schafbock.....	6
2.2.1.1 Immunisierung gegen GnRH	7
2.2.1.2 Langzeitapplikation von GnRH oder eines GnRH-Agonisten	24
2.2.1.3 Immunisierung gegen LH	30
2.2.1.4 Immunisierung gegen Testosteron	31
2.2.2 Ziegenbock.....	33
2.2.2.1 Immunisierung gegen GnRH	34
2.2.2.2 Langzeitapplikation eines GnRH-Agonisten	38
2.2.2.3 α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten	38
2.3 Altrenogest	39
2.3.1 Molekularstruktur.....	41
2.3.2 Pharmakokinetik	42
2.3.3 Auswirkungen auf die Hodenfunktion	43
2.3.3.1 Eber.....	44
2.3.3.2 Hengst.....	47
2.4 Grauwertanalyse	49
3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN	51
3.1 Tiere	51
3.1.1 Haltung und Fütterung.....	51
3.2 Gestagenapplikation.....	52
3.2.1 Präparat.....	52
3.2.2 Applikationsart, Anwendungsdauer und Dosierung.....	52
3.3 Methoden	54
3.3.1 Klinische Untersuchung.....	54
3.3.2 Erfassung von körperlichen Parametern	54

INHALTSVERZEICHNIS

3.3.2.1 Körpergewicht, Körperlänge und Widerristhöhe	54
3.3.2.2 Hodenlänge, Hodenbreite, Hodentiefe und Hodenvolumen	55
3.3.2.3 Hodenkonsistenz.....	56
3.3.2.4 Hodensonographie	56
3.3.2.4.1 Grauwertanalyse	57
3.3.3 Erfassung von Blutparametern	58
3.3.3.1 Blutentnahme	58
3.3.3.2 Testosteronbestimmung	59
3.3.4 Erfassung von Spermaparametern.....	59
3.3.4.1 Absamtraining und Ejakulatgewinnung	59
3.3.4.1.1 Libidoscore	60
3.3.4.2 Spermatologische Untersuchung	62
3.3.4.2.1 Volumen	63
3.3.4.2.2 Farbe	63
3.3.4.2.3 Konsistenz	64
3.3.4.2.4 Geruch.....	64
3.3.4.2.5 Beimengungen	64
3.3.4.2.6 pH-Wert	64
3.3.4.2.7 Motilität	64
3.3.4.2.8 Lebend-Tot-Färbung.....	65
3.3.4.2.9 Morphologisch abnorme Spermien.....	66
3.3.4.2.10 Dichtebestimmung.....	66
3.3.4.2.11 Spermiengesamtzahl.....	67
3.3.5 Kastration der Ziegenböcke.....	67
3.3.6 Histologische Untersuchung	69
3.3.6.1 Probenkonservierung und Fixierung.....	69
3.3.6.2 Anfertigung der Gewebeschnitte	70
3.3.6.3 Färbung der Gewebeschnitte	71
3.3.6.4 Auswertung der Gewebeschnitte	72
3.3.7 Statistische Methoden	73

INHALTSVERZEICHNIS

4 ERGEBNISSE	75
4.1 Klinische Untersuchung.....	75
4.2 Körperliche Parameter.....	75
4.2.1 Körpergewicht, Körperlänge und Widerristhöhe	76
4.2.2 Hodenmaße.....	79
4.2.3 Hodenkonsistenz.....	84
4.2.4 Hodensonographie	86
4.2.4.1 Grauwertanalyse	88
4.3 Testosteronkonzentration	89
4.4 Spermaparameter	89
4.4.1 Makroskopische Parameter.....	90
4.4.2 Motilität.....	91
4.4.3 Morphologisch abnorme Spermien.....	91
4.5 Libidoscore	94
4.6 Histologische Untersuchung.....	95
 5 DISKUSSION	 98
5.1 Diskussion der Fragestellung	98
5.2 Diskussion der Methode	101
5.3 Diskussion der Ergebnisse	104
5.3.1 Körperliche Parameter.....	104
5.3.2 Hodenparameter	105
5.3.3 Hodensonographie und Grauwertanalyse	106
5.3.4 Testosteronkonzentration	108
5.3.5 Spermatologische Parameter	110
5.3.6 Libidoscore	111
5.3.7 Histologische Untersuchung.....	112
5.4 Schlussfolgerungen für die Praxis	114
 6 ZUSAMMENFASSUNG	 118
 7 SUMMARY	 120

INHALTSVERZEICHNIS

8 LITERATURVERZEICHNIS	122
9 ANHANG.....	157
9.1 Körperliche Parameter.....	157
9.2 Grauwertanalyse	164
9.3 Testosteronkonzentration	165
9.4 Spermatologische Parameter	167
9.5 Libidoscore	175
9.6 Durchmesser Tubuli seminiferi contorti	176
9.6.1 Kontrollgruppe	176
9.6.2 Versuchsgruppe	176

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
®	eingetragenes Warenzeichen
AG	Aktiengesellschaft
B-Mode	brightness modulation Mode
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
Co.	Compagnie
CpG	bacterial cytosine guanine oligode oxynucleotide
dB	Dezibel
eG	eingetragene Genossenschaft
et al.	et alii
FN	Fédération Équestre Nationale
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
HE	Hämatoxylin-Eosin
Hrsg.	Herausgeber
hSG	humanes Serum Globulin
JPEG	Joint Photographic Experts Group
kg	Kilogramm
KG	Kommanditgesellschaft
KGaA	Kommanditgesellschaft auf Aktien
l	Liter
LH	Luteinisierendes Hormon
Lmean	Durchschnittlicher Grauwert
Ltd	Limited
mbH	mit beschränkter Haftung
mg	Milligramm
mHz	Megahertz
Mio	Millionen

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ml	Milliliter
Mm	Millimeter
Na	Daten gesamt
N-all	Daten gesamt innerhalb des Bereiches
ng	Nanogramm
nmol	Nanomol
Nm	Menge an Daten für die häufigste Stufe
Nr.	Nummer
OL	Ovalbumin-LHRH-7
pH	Potentia / Pondus Hydrogenii
ROI	Region of Interest
SD	Standardabweichung
SF	Standardfehler
TM	Trade Mark
USA	United States of America
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer

1 EINLEITUNG

Nichtinvasive und reversible Methoden zur Ausschaltung der Geschlechtsfunktion beim Ziegenbock sind bisher nicht etabliert. Zwar konnte in ersten Versuchen mit einer GnRH-Vakzination eine Unterdrückung der Hodenfunktion bei Ziegenböcken erreicht werden, doch ist der Effekt der Vakzination zeitlich schlecht steuerbar und weist damit für den Einsatz beim Zuchttier einen deutlichen Nachteil auf. Auch ist die Frage der Reversibilität dieser Methode noch nicht ausreichend geklärt.

Die Dauergabe von Gestagenen führt bei verschiedenen Tierarten zu einer reversiblen Unterdrückung der Fortpflanzungsfähigkeit. Besonders bei Ebern und Hengsten wurde Altrenogest bereits erfolgreich eingesetzt, für den Ziegenbock hingegen liegen bisher keine in diese Richtung gehenden Untersuchungsergebnisse vor.

Ziel ist es daher, folgende Fragen zu beantworten:

- Kann durch die orale Gabe von Altrenogest die Hodenfunktion beim Ziegenbock reversibel unterdrückt werden?
- Wie wirkt sich die Gestagenapplikation auf körperliche Parameter, Parameter der Spermauntersuchung sowie die Konzentration von Testosteron im Blut aus?
- Wie verhalten sich die Spermaparameter nach Absetzen der Altrenogest-Gabe?
- Wie wirkt sich die Gestagenapplikation auf die Ergebnisse der sonographischen Untersuchung der Hoden sowie der Grauwertanalyse aus?

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Reversible Unterdrückung der Hodenfunktion beim Säugetier

Die Unterdrückung der Gonadenfunktion zur Kontrolle der Fortpflanzung stellt sowohl für das Management eines Nutztierbestandes als auch für Hobbytierhaltungen einen wichtigen Aspekt dar. Soll die Trennung bestehender Gruppen vermieden werden, so ist die Kastration oder Sterilisation der männlichen oder der weiblichen Tiere die einzige Möglichkeit, unerwünschte Vermehrung gezielt zu vermeiden. Wird eine chirurgische Kastration durchgeführt, liegt das Augenmerk hierbei aufgrund der weniger aufwendigen und risikoärmeren Operationstechnik meist auf den männlichen Tieren.

Neben der Fortpflanzungskontrolle gibt es noch weitere Indikationen für die Kastration männlicher Tiere. So wirkt sich diese entscheidend auf das Verhalten der Tiere aus; sexuell orientiertes, oft aggressives Verhalten gegenüber anderen männlichen Tieren, insbesondere während der Zuchtsaison, wird reduziert und häufige, durch Rangkämpfe verursachte Verletzungen damit vermieden. Für die weiblichen Tiere in der Gruppe wird ein ruhigeres Haltungsumfeld geschaffen.

Bei lebensmittelliefernden Tieren, speziell bei Eber und Ziegenbock, dient die Kastration zudem der Verbesserung von Fleisch- und Schlachtkörpereigenschaften, da der geschlechtstypische Geruch und Geschmack des Fleisches verringert wird.

Nicht immer sind alle diese genannten Folgen einer Kastration erwünscht. So kann eine Verhaltensänderung beim dominanten Tier die Rangordnung der gesamten Herde durcheinander bringen und somit statt zu einer Haltungserleichterung zu Unruhe innerhalb der Gruppe führen. Meist soll aber eben dieses dominante Tier, welches hauptsächlich die weiblichen Tiere deckt, kastriert werden.

Beachtet werden muss zudem, dass eine chirurgische Kastration immer mit einem Risiko von Zwischenfällen bis hin zu einem möglichen Tod des Tieres verbunden ist. Auch kommt es durch die mit der Kastration verbundene Manipulation sowie die Schmerzen zu einem Trauma, welches sich zumeist in einem Einbruch der Tageszunahmen bemerkbar macht.

Den entscheidendsten Nachteil einer chirurgischen Kastration stellt deren Irreversibilität dar. Ist einmal die Entscheidung zur Kastration gefallen, ist eine weitere Zuchtnutzung nicht mehr möglich. Es gehen in diesem Fall gegebenenfalls wertvolle genetische Ressourcen des Bestandes beziehungsweise der Population verloren.

Zusammenfassend kann davon ausgegangen werden, dass eine reversible, risikoärmere, praktikablere und tierschonendere Alternative zur chirurgischen Kastration in der Praxis willkommen wäre. Angriffspunkte hierfür können die Produktion und Reifung, die Funktion oder die Freisetzung der Keimzellen sein (Gupta und Bansal 2010). Bei bisherigen Forschungen steht vor allem der immunologische Ansatz im Fokus. Hierbei werden die Tiere gegen körpereigene Geschlechtshormone immunisiert, es kommt zur Bildung von Antikörpern gegen ebendiese Hormone und damit zu einer Hemmung oder vollkommenen Ausschaltung der Gonadenfunktion (D'Occhio 1993; Ferro et al. 2004; Reeves et al. 1989). Damit es zu einer immunologischen Reaktion kommt, müssen die Hormone dafür zunächst an körperfremde Proteine oder Moleküle gebunden werden; zudem muss den Hormon-Konjugaten ein Adjuvans hinzugegeben werden, um die Reaktion des Immunsystems zu verstärken (Reeves et al. 1989). Grundsätzlich ist diese Art der Immunoneutralisation von Hormonen bei Tieren beiderlei Geschlechts möglich. Die Effektivität der Vakzination variiert bei den Tierarten zum Teil erheblich (Ferro et al. 2004). Im Vordergrund der Forschung stehen vor allem das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), das luteinisierende Hormon (LH), das follikelstimulierende Hormon (FSH) sowie die von den Gonaden freigesetzten Steroidhormone, vor allem das Progesteron und das Testosteron. Hormone werden im Blut transportiert und sind deshalb für die Bindung an Antikörper zugänglich (D'Occhio 1993).

2.2 Reversible Unterdrückung der Hodenfunktion beim kleinen Wiederkäuer

Zur Kastration eines männlichen kleinen Wiederkäuers werden üblicherweise die Gonaden im Rahmen einer blutigen Kastration vollständig entfernt, oder es wird mit Hilfe einer Burdizzozange eine Quetschung der Samenstränge

vorgenommen, wodurch die Durchblutung der Gonaden unterbunden wird. Als Folge bilden sich Hoden und Skrotum stark zurück, und sowohl die endokrinen als auch die keimbildenden Funktionen fallen aus. Die Amputation der Hoden mittels elastischer Ringe, durch welche die Durchblutung von Hoden und Skrotum vollkommen unterbunden wird, sodass diese eintrocknen und schließlich abfallen oder abgesetzt werden können, ist in Deutschland nach § 6 Absatz 2 des Tierschutzgesetzes verboten (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz 2018).

Eine neuere, minimalinvasive Methode stellt die so genannte „Pinhole“-Kastration dar. Hierbei werden nach vorheriger Lokalanästhesie die Samenstränge ohne Eröffnung des Skrotums ligiert (Fazili et al. 2009; Ponvijay 2007). Der Samenstrang wird lateral im Skrotum fixiert und mittels einer Hohlneedle medial davon ein resorbierbarer Faden platziert. Die Fadenenden werden verknotet und dadurch der Samenstrang ligiert, es kommt zu einer Unterbrechung der Durchblutung und damit zu einer Atrophie der Hoden (Steiner und Janett 2013). In einer Versuchsreihe zu dieser Kastrationsmethode konnte bei allen Versuchstieren nach einer Woche eine Azoospermie und eine Hodenatrophie festgestellt werden; histologisch lag eine ischämische Nekrose vor (Okwee-Acai et al. 2009).

In § 5 Absatz 3 Nummer 1 sagt das deutsche Tierschutzgesetz aus, dass „eine Betäubung (...) nicht erforderlich [ist] für das Kastrieren von unter vier Wochen alten männlichen Rindern, Schafen und Ziegen, sofern kein von der normalen anatomischen Beschaffenheit abweichender Befund vorliegt“ (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz 2018). Folglich kann davon ausgegangen werden, dass die Kastration dieser Tiere in der Praxis üblicherweise ohne vorherige Betäubung durchgeführt wird. Verschiedene Studien zeigen, dass eine Kastration, egal welcher Art, immer mit einer Erhöhung des Serumkortisolspiegels verbunden ist (Kent et al. 1993; Paull et al. 2009). Werden zudem Verhalten und mechanischer Schmerz bei Palpation beurteilt, konnte in einer Studie bei Lämmern die deutlichste Reaktion auf die chirurgische Kastration, gefolgt von der Gummiring- und der Burdizzokastration, beobachtet werden (Thornton und Waterman-Pearson 1999); bei Lomax et al.

(2010) hingegen zeigten Lämmer nach einer Kastration mittels Gummiring signifikant mehr Schmerz-assoziierte Verhaltensänderungen als nach einer chirurgischen Kastration. Auch als Reaktion auf die „Pinhole“-Kastration stieg der Serumkortisolspiegel auf ein ähnliches Niveau wie nach einer chirurgische Kastration an (Okwee-Acai et al. 2009).

Zum Effekt der Anwendung einer Lokalanästhesie auf den Serumkortisolspiegel liegen verschiedene Studienergebnisse vor. Bei Kent et al. (1998) wurde durch die Applikation einer Lokalanästhesie vor der Kastration mittels Gummiring der Peak der Kortisolkonzentration um 50 % vermindert; bei Thornton und Waterman-Pearson (1999) wurden durch die Verwendung einer Lokalanästhesie die Reaktionen auf die Burdizzo- und die Gummiringkastration reduziert, nicht aber die auf die chirurgische Kastration; bei Mellema et al. (2006) konnte der Anstieg des Serumkortisolspiegels durch die Lokalanästhesie bei der Burdizzokastration tendenziell und bei der Gummiringkastration signifikant erniedrigt werden; bei Wood et al. (1991) blieb nach der chirurgischen Kastration von juvenilen Schafböcken unter Verwendung einer Lokalanästhesie der Anstieg des Serumkortisolspiegels aus.

Kent et al. (1998, 2000) sowie Lomax et al. (2010) wiesen bei Schaflämmern nach einer Gummiring- beziehungsweise chirurgischen Kastration ohne Lokalanästhesie im Vergleich zur Kastration mit Lokalanästhesie einen signifikanten Anstieg von auf Schmerzen hinweisenden Verhaltensänderungen (zum Beispiel Kyphose, vermehrtes Liegen, Lautäußerungen, Aufstampfen mit den Klauen, Schlagen mit dem Schwanz und Umwenden des Kopfes zur Skrotalregion) nach. Dieser Effekt war bei Kent et al. (2000) auch 31 Tage nach der Kastration noch vorhanden und weist auf ein Langzeitschmerzempfinden der Tiere nach der Kastration ohne Lokalanästhesie hin. Bei Kälbern wurden mit dem Anstieg der Serumkortisolkonzentration und einem Rückgang der Futteraufnahme in den ersten Tagen sowie einem Rückgang der Tageszunahmen in den ersten Wochen nach der Kastration ohne Lokalanästhesie ebenfalls Anzeichen für ein Langzeitschmerzempfinden nachgewiesen (Zulauf et al. 2003). In derselben Studie wurde aufgezeigt, dass die alleinige Manipulation der Kälber, welche für die Verabreichung der Sedation notwendig ist, bereits zu einer

Erhöhung des Serumkortisolspiegels führte (Zulauf et al. 2003).

2.2.1 Schafbock

Männliche Lämmer erreichen mit drei bis sechs Monaten die Pubertät, die ausgereiften Hoden wiegen zwischen 200 und 300 Gramm (siehe Übersicht bei Sinowatz 2001). Die Spermatogenese beginnt am 80. bis 90. Lebenstag und dauert beim geschlechtsreifen Tier 34 bis 49 Tage. Vitale Spermien befinden sich ab einem Lebensalter von 140 bis 150 Tagen im Ejakulat (siehe Übersichten bei Sinowatz 2001 sowie Smidt und Ellendorff 1969a). Abgesehen von Einzeltieren in der Hobbyhaltung ist bei Schafböcken eine Kastration vor allem dann notwendig, wenn diese im Frühjahr geboren werden: Im Gegensatz zu Herbstlämmern, die im Stall gemästet werden und mit vier bis fünf Monaten schlachtreif sind, erreichen im Frühjahr geborene Lämmer aufgrund anderer Fütterungs- und Haltungsbedingungen, insbesondere bei Tieren in Wanderherden, erst mit ungefähr sechs Monaten ihr Schlachtgewicht und müssen deshalb häufig zur Erleichterung der Haltung kastriert werden (Janett et al. 2003).

Bei einem Vergleich der üblichen Kastrationsmethoden chirurgische Kastration, Burdizzokastration und der (in Deutschland verbotenen) Gummiringkastration stufen Melches et al. (2007) die Burdizzokastration als am wenigsten belastend ein. Die blutige Kastration wurde aufgrund der starken akuten Schmerzanzeichen als ungeeignet bewertet, und nach der Gummiringkastration wiesen die Lämmer eine im Vergleich zur Burdizzokastration wesentlich längere Wundheilungszeit auf. Beachtet werden muss allerdings, dass eine Burdizzokastration bei Lämmern im Alter von wenigen Tagen bis zu zehn Wochen in einer anderen Studie als nicht immer zuverlässig beschrieben wurde, da es nicht bei allen Tieren zu einer vollständigen Involution des Hodenparenchyms kam (Stoffel et al. 2009).

Viele Studien haben sich mit alternativen, reversiblen Methoden zur Kastration von Schafböcken beschäftigt. Die Immunisierung gegen körpereigene Hormone steht auch hier im Fokus.

2.2.1.1 Immunisierung gegen GnRH

Im Rahmen der Forschung an der Immunisierung gegen körpereigene Hormone beschäftigen sich die meisten Studien mit Immunisierungsversuchen gegen das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) (Thompson 2000). Erste Versuche bezüglich einer Immunisierung gegen GnRH wurden bereits vor über 30 Jahren durchgeführt. Gemeinsam mit dem Rind (Jeffcoate et al. 1982) und dem Schwein (Falvo et al. 1986) gehörte das Schaf (Jeffcoate et al. 1982) zu den ersten Tieren, bei denen diese Methode angewandt wurde.

GnRH spielt eine zentrale Rolle in der Signalkaskade zwischen dem Hypothalamus, der Hypophyse und den Gonaden, welche das Reproduktionsverhalten der Säugetiere bestimmt; es kann als Ausgangspunkt ebendieser Kaskade betrachtet werden (D'Occhio 1993). GnRH wird von den Neuronen an der Eminentia mediana des Hypothalamus pulsatil freigesetzt und stimuliert den Hypophysenvorderlappen zur Sekretion des luteinisierenden Hormons (LH) und des follikelstimulierenden Hormons (FSH), welche die testikulären Funktionen steuern. Aus den Gonaden selber werden verschiedene Steroidhormone freigesetzt, welche unter anderem mittels eines Feedback-Mechanismus die Freisetzung von GnRH, FSH und LH steuern.

Grundsätzlich ist eine zuverlässige Unterdrückung der endokrinen und keimbildenden Hodenfunktion bei allen Säugetieren durch die Immunisierung gegen GnRH möglich (Fayrer-Hosken 2008; Gupta und Bansal 2010; Thompson 2000). Dafür muss zunächst eine Vakzine hergestellt werden, mit deren Hilfe eine aktive Immunisierung gegen endogenes GnRH vorgenommen werden kann. Das GnRH ist ein Peptid aus zehn Aminosäuren (Dekapeptid) (siehe Übersicht bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015) und selbst zu klein, um immunologisch wirksam zu sein; es muss daher an ein Trägerprotein gebunden werden, damit es immunogen wirkt (Fayrer-Hosken 2008; Thompson 2000; Janett et al. 2003). Hierfür können verschiedene Trägerproteine verwendet werden, so haben zum Beispiel die Bindungen von GnRH an Ovalbumin, Polyvinylpyrrolidone oder Glutaraldehyd zu einer erfolgreichen Immunisierung von Versuchstieren geführt (Thompson 2000). Zusätzlich wird der Impfstoff mit einem Adjuvans versehen, um die Immunwirkung zu verstärken (Steiner und Janett 2013).

Der erste kommerziell erhältliche Impfstoff kam in den späten achtziger Jahren in Australien auf den Markt (Vaxstrate®, Peptide Technology, Australien); Indikation für die Nutzung war die Hemmung der Fortpflanzungsfunktion beim weiblichen Rind (Meeusen et al. 2007). Aufgrund vieler lokaler Reaktionen an den Injektionsstellen (bis zu 40 % der behandelten Tiere entwickelten Abszesse) und der weniger guten Praktikabilität (zwei Injektionen pro Tier waren notwendig, dies kollidierte mit der extensiven Rinderhaltung in Australien) wurde Vaxstrate® 1996 aus dem Handel genommen (Meeusen et al. 2007), diente aber als Grundlage für spätere Produkte: Improvac® (Zoetis, Belgien), entwickelt zur Vermeidung des Geschlechtsgeruchs bei Ebern; Equity® (Pfizer Animal Health, Australien) zur Zykluskontrolle bei der Stute; Boprivac® (Pfizer Animal Health, Australien) zur Zykluskontrolle beim weiblichen Rind sowie zur Hemmung der Testosteronsekretion beim Bullen; GonaCon® (U.S. Department of Agriculture, USA) zur Unterdrückung der Fortpflanzung beim Weißwedelhirsch und ReproBloc® (Amplicon, USA) für die Populationskontrolle bei Säugetieren. Von allen genannten Produkten ist in Deutschland zurzeit nur Improvac® für die Anwendung beim Eber zugelassen.

Die als Reaktion auf die Injektion der Vakzine gebildeten Antikörper binden das körpereigene GnRH und neutralisieren es dadurch, sodass die LH- und die FSH-Sekretion aus dem Hypophysenvorderlappen verhindert und die Gonadenfunktion stillgelegt wird (D'Occhio 1993; Gupta und Bansal 2010; Janett et al. 2003). Das GnRH kann seine natürliche Wirkung nicht mehr erzielen, entweder weil der gebildete Antigen-Antikörper-Komplex zu groß ist, um durch die Gefäßwand zu diffundieren, oder aber weil die Rezeptorbindungsstelle am GnRH durch die Bindung des Antigens verdeckt wird (Thompson 2000). Die Wirkung der Vakzine bleibt bestehen, so lange erhöhte Antikörperspiegel vorliegen (Clarke et al. 1998).

Befindet sich das Tier zum Zeitpunkt der Immunisierung in einer präpubertären Phase, verbleiben die Gonaden in diesem Zustand; bei Tieren kurz vor der Geschlechtsreife wird das Hodenwachstum deutlich gehemmt, bei erwachsenen Tieren werden die Gonaden in einen präpubertären Zustand zurückversetzt (D'Occhio 1993; Janett et al. 2003). Dadurch werden sowohl die Fruchtbarkeit

als auch das durch Sexualhormone bedingte sexuelle und aggressive Verhalten kontrolliert (D'Occhio 1993; Thompson 2000).

Die frühesten Untersuchungen beim Schafbock beschäftigen sich allerdings nicht mit einer aktiven, sondern mit einer passiven Immunisierung gegen GnRH. Bei der passiven Immunisierung werden dem Tier die Antikörper direkt verabreicht, sodass es zu einem sofortigen Wirkungseintritt kommt. Hierfür sind hohe Mengen an Antikörpern und damit verbunden große Injektionsvolumina notwendig (Hagevan Noort et al. 1992). Lincoln und Fraser (1979) verabreichten ovines Serum mit Antikörpern gegen GnRH an adulte Schafböcke. Gewonnen wurde das verwendete Serum von weiblichen Schafen, welche mit Hilfe von GnRH, gebunden an bovines Serumalbumin, immunisiert worden waren. Als Reaktion auf die passive Immunisierung zeigten die Schafböcke einen unwillkürlichen Stillstand des episodischen LH-Peaks, verbunden mit einer deutlichen Absenkung der Plasmakonzentrationen von LH und Testosteron. Die Konzentration von FSH war zunächst unverändert; die Autoren vermuteten hier eine verzögerte Reaktion. Die Werte von LH und Testosteron verblieben auch am auf die Injektion folgenden Tag niedrig, zudem folgte auf eine Injektion von GnRH weder eine Erhöhung der LH- noch der Testosteron-Konzentration im Plasma. 24 Tage nach der einmaligen Injektion ähnelten die Werte der Versuchstiere wieder denen von Kontrolltieren, nach 46 Tagen waren keine Unterschiede mehr feststellbar. Lincoln und Fraser (1979) wiesen somit den Effekt der passiven Immunisierung auf die Hormonkonzentrationen nach, schlossen aber keine Untersuchungen hinsichtlich der Fruchtbarkeit der Tiere an.

Parthasarathy et al. (2002) führten ebenfalls eine passive Immunisierung gegen GnRH an adulten Schafböcken durch; als Kontrolltiere dienten unbehandelte und chirurgisch kastrierte Tiere. In einem ersten Versuch erhielten 16 Schafböcke eine Dosis von 300 ml Antiserum, als Reaktion zeigte sich ein deutlicher Anstieg der Antikörpertiter mit einem Maximum nach 24 Stunden, die ungefähre Halbwertszeit lag bei 17 Tagen. Korrespondierend kam es innerhalb von 24 Stunden nach der Injektion zu einem deutlichen Rückgang der Testosteronkonzentration im Serum der Schafböcke, ein signifikanter Unterschied der Testosteronwerte im Vergleich mit den Kontrolltieren blieb über

24 Tage bestehen. Bei parallel durchgeführten Verhaltensbeobachtungen konnte weder ein signifikanter Einfluss auf die Anzahl von Aufsprungversuchen auf östrische weibliche Schafe noch eine Reduktion der Anzahl an Ejakulationen festgestellt werden, sodass Parthasarathy et al. (2002) einen zweiten Versuch anschlossen: Hierbei wurden fünf adulte Schafböcke mit 400 ml des Antiserums behandelt, 14 Tage später erhielten sie eine zweite Injektion mit 300 ml des Antiserums. Die Kontrolltiere erhielten jeweils dieselbe Menge eines Schafserums ohne Antikörper gegen GnRH. Erneut kam es zu einem Anstieg des Antikörpertiters mit einem Maximalwert an Tag fünf, die Halbwertszeit des Titers lag bei 24 Tagen nach der ersten beziehungsweise bei 21 Tagen nach der zweiten Injektion. Fünf Tage nach der ersten Injektion war der Testosterongehalt im Serum der Versuchstiere signifikant niedriger als derjenige der Kontrolltiere, dieser Unterschied blieb bis zum Ende der Studie an Tag 68 signifikant. Die Verhaltensbeobachtungen ergaben keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der Aufsprungversuche, wohl aber einen deutliche Rückgang der Ejakulationen bei den behandelten Tieren von Tag 12 bis Tag 40 nach Versuchsbeginn. Die Autoren schlossen hieraus, dass eine einmalige Behandlung der Tiere zwar ausreichend war, um den Testosteronspiegel im Serum zu beeinflussen, aber eine zweimalige Behandlung notwendig ist, um eine Suppression des Testosteronwertes zu erreichen, welche lang genug anhält, um auch einen Effekt auf die Fruchtbarkeit der Tiere zu haben.

Vermutlich bedingt durch die aufwendige Durchführung der passiven Immunisierung, konzentriert sich die Mehrzahl der Forschungen auf die aktive Immunisierung. Jeffcoate et al. (1982) verabreichten eine Vakzine bestehend aus synthetischem GnRH, bovinem Serumalbumin als Trägerprotein sowie dem kompletten Freund-Adjuvans an Bocklämmer im Alter zwischen 16 und 20 Wochen. Drei weitere Injektionen wurden jeweils nach sechs, 12 und 28 Wochen durchgeführt. Der GnRH-Antikörper-Spiegel begann bei allen Tieren zwischen der siebten und neunten Woche nach der ersten Injektion anzusteigen, um dann ab der 14. Woche bis zur Entnahme der letzten Blutprobe in der 20. Woche relativ stabil zu bleiben. Bei der Blutuntersuchung nach 17 Wochen waren zudem die Plasmakonzentrationen von Testosteron und LH sowie FSH bei den

Versuchstieren durchweg niedriger als bei den Kontrolltieren, bei einigen Tieren sogar unterhalb des messbaren Bereiches. Ab der 13. Woche zeigten die behandelten Lämmer signifikant kleinere Hoden als die Tiere einer Vergleichsgruppe. Mittels Elektroejakulation wurde mehrfach versucht, Spermaproben der Tiere zu gewinnen; dieses gelang in den Wochen 24 bis 26 bei acht von elf Tieren nicht, von den anderen drei Tieren konnte ein Ejakulat mit sehr kleinem Volumen gewonnen werden, welches nur wenige, nicht motile Spermien enthielt. In der 72. Woche konnten wiederum von drei Tieren Spermaproben gewonnen werden, bei denen jeweils eine nur mäßige Motilität der Spermien vorlag. Bei der anschließenden Kastration wurde bei allen Versuchstieren ein signifikant verringertes Hodengewicht nachgewiesen, die LH-Konzentration im Plasma stieg auch nach der Kastration nicht wieder an.

Schanbacher (1982) verabreichte GnRH an zehn Wochen alte Bocklämmer. Das GnRH wurde zuvor an humanes Serumalbumin als Trägerprotein gebunden, zudem wurde das komplette Freund-Adjuvans verwendet. Eine erneute Injektion wurde sechs Wochen später durchgeführt. Acht beziehungsweise zwölf Wochen nach der ersten Injektion konnten Antikörper gegen GnRH bei den behandelten Tieren nachgewiesen werden; die Konzentrationen von LH und FSH im Serum waren im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren deutlich erniedrigt und lagen bei den meisten Tieren knapp an der unteren Nachweisgrenze des verwendeten Radioimmunoassays. Eine Testosteronkonzentration im Serum war bei den Versuchstieren nicht nachweisbar. Auf eine intravenöse Injektion von GnRH zu den genannten Zeitpunkten reagierten die Tiere weder mit einem Anstieg der LH- noch der Testosteronkonzentration. Bei der Schlachtung im Alter von 22 Wochen zeigten die Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrolltieren eine Reduktion des Hodengewichts um etwa 20 % sowie ein signifikant niedrigeres Schlachtkörpergewicht.

Jeffcoate et al. (1982) sowie Schanbacher (1982) konnten damit erstmals nachweisen, dass die GnRH-Vakzination auch beim männlichen Lamm die normale sexuelle Entwicklung aufhält und Einfluss auf die Schlachtkörpereigenschaften hat. Eine Reversibilität konnten Jeffcoate et al. (1982) aufgrund der erfolgreichen Spermagewinnung bei drei Tieren nach 72

LITERATURÜBERSICHT

Wochen vermuten, aber bedingt durch die nicht ausreichende Versuchsdauer nicht nachweisen; die Studie von Schanbacher (1982) beinhaltete keine Untersuchungen hinsichtlich der Reversibilität.

Einen wesentlich längeren Versuchszeitraum von über zwei Jahren wählten Brown et al. (1994), um die Reversibilität der Immunisierung zu überprüfen. Zudem stand der möglicherweise unterschiedliche Effekt der Vakzinierung bei präpubertären beziehungsweise pubertären Tieren im Fokus ihrer Forschung: Männliche Lämmer wurden entweder im Alter von drei bis vier Wochen oder im Alter von 20 bis 21 Wochen mit einer selbst hergestellten Vakzine geimpft, eine Wiederholung fand nach zehn Wochen statt. Ein Peak des GnRH-Antikörper-Spiegels konnte bei allen Tieren zwei Wochen nach der zweiten Injektion festgestellt werden, anschließend fiel der Spiegel in individuell sehr unterschiedlicher Weise wieder ab. In der 115. Woche konnte nur noch bei drei Tieren ein geringer Antikörper-Gehalt nachgewiesen werden. Die Testosteronkonzentrationen im Plasma der Versuchstiere waren stets geringer als die der Kontrollgruppe, und während bei der Kontrollgruppe die LH- und FSH-Konzentrationen nach der 46. Woche anstiegen, blieben sie bei den Versuchstieren niedrig. Brown et al. (1994) konnten keinen Unterschied zwischen den früh- und spätbehandelten Tieren sowie den Kontrolltieren hinsichtlich der Gewichtsentwicklung feststellen. Die präpubertäre Injektion verhinderte das Hodenwachstum mindestens bis zur 27. Lebenswoche, einige Tiere erreichten sogar bis zur 115. Lebenswoche nicht die Hodengröße der Kontrolltiere. Bei den Tieren, welche während der Pubertät immunisiert wurden, ging die Hodenmasse zurück und fing bei den verschiedenen Individuen erst in der 51. bis 90. Lebenswoche wieder an, sich zu normalisieren. Ab der 46. Woche unterschieden sich die Hodenmassen der beiden Versuchsgruppen nicht mehr deutlich voneinander, waren aber bei allen behandelten Tieren signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Nach 115 Wochen konnten von 83 % der präpubertär behandelten und von 89 % der während der Pubertät behandelten Tiere Ejakulate gewonnen werden, diese unterschieden sich hinsichtlich der Qualität (Anteil lebender Spermien, Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien, Anteil morphologisch nicht veränderter Spermien) nicht deutlich von denen der

Kontrolltiere.

Sowohl eine Immunisierung mit einer ersten Injektion im Alter von drei bis vier Wochen als auch mit einer ersten Injektion im Alter von 20 bis 21 Wochen führte somit zu einer Unterdrückung der Gonadenfunktion. Eine generelle Reversibilität scheint zu bestehen, jedoch zeigten einige der präpubertär behandelten Tiere auch am Versuchsende nach zwei Jahren noch sehr kleine Hoden und keinerlei Libido sexualis, sodass hier auch von einer möglichen Irreversibilität ausgegangen werden muss.

An bereits geschlechtsreifen Tieren testeten Oatley et al. (2005) die GnRH-Vakzination; hierfür wurden drei Injektionen im Abstand von jeweils vier Wochen durchgeführt. Auch hier lagen die Serum-Testosteronkonzentrationen der Tiere vier Wochen nach der letzten Injektion unterhalb des messbaren Bereiches und die Hodenmaße waren deutlich zurückgegangen.

Ein besonderes Augenmerk auf die Auswirkungen der GnRH-Immunisierung auf die Masteigenschaften der Lämmer legten Kiyama et al. (2000), indem sie den Zeitraum abmaßen, den die Tiere benötigten, um ein festgelegtes Schlachtgewicht zu erreichen. Hierfür wurden unkastrierte Kontrolltiere mit mittels Gummiring kastrierten Tieren und zwei Gruppen geimpfter Tiere verglichen, wobei die Vakzine bei der einen Gruppe mit dem kompletten Freund-Adjuvans ergänzt wurde (Versuchsgruppe 1), bei der anderen Gruppe mit einem Adjuvans auf Ölbasis (Versuchsgruppe 2). Es wurde jeweils nur eine Injektion durchgeführt.

Antikörper gegen GnRH konnten bei den Lämmern der Versuchsgruppe 1 nach sechs Wochen erstmals gemessen werden; durchgehend war bei diesen Tieren der Antikörperspiegel höher als bei den Tieren der Versuchsgruppe 2, bei welchen erst nach acht Wochen erstmals Antikörper nachgewiesen werden konnten. Die Antikörper blieben bis zur Schlachtung messbar, welche 17 bis 18 Wochen nach der Injektion stattfand. Während die Testosteronkonzentration im Plasma zu Beginn der Untersuchung bei allen Tieren noch niedrig war, stieg sie bei den Kontrolltieren im Laufe der Zeit kontinuierlich an; bei den konservativ kastrierten Tieren blieb dieser Anstieg aus, bei den immunologisch kastrierten Tieren stieg die Konzentration nur langsam an, um sechs bis zehn Wochen nach

der Injektion wieder abzufallen. Dieser Effekt war deutlicher bei den Tieren der Versuchsgruppe 1 zu erkennen. Eine regelmäßige Messung des Skrotalumfanges belegte ein ausbleibendes Hodenwachstum bei den behandelten Tieren; in einer histologischen Untersuchung der Hoden nach der Schlachtung wurde bei 82 % der mit Freund-Adjuvans behandelten Tiere eine Atrophie der Tubuli seminiferi festgestellt, diese lag nur bei 25 % der Tiere aus Versuchsgruppe 2 und bei keinem der Kontrolltiere vor. In den Hoden der Tiere aus der ersten Versuchsgruppe konnten zudem keine Spermatozoen nachgewiesen werden, während in den Hoden von 50 % der Tiere aus der zweiten Versuchsgruppe und von 69 % der Kontrolltiere Spermatozoen nachgewiesen werden konnten.

Alle kastrierten Tiere, egal ob hormonell oder mittels Gummiring, zeigten eine deutlich verringerte Libido sexualis, wobei das Verhalten der ersten Versuchsgruppe dem der chirurgisch kastrierten Tiere ähnelte, und das Sexualverhalten der Tiere der zweiten Versuchsgruppe zwar geringer ausgeprägt war als bei den Kontrolltieren, aber deutlicher als bei den chirurgisch kastrierten Tieren.

Die Mastdauer bis zum Erreichen des geforderten Schlachtgewichtes war bei beiden Versuchsgruppen länger als bei den Kontrolltieren, aber geringer als bei den mittels Gummiring kastrierten Tieren. Auch hinsichtlich Fettverteilung und Fleischanteil lagen die Qualitäten der Schlachtkörper der Versuchstiere zwischen denen der anderen beiden Gruppen. Damit konnten Kiyma et al. (2000) nachweisen, dass die Immunisierung gegen GnRH die gewünschten Effekte der Kastration hinsichtlich des Verhaltens erreichen kann, dabei aber weniger starke negative Auswirkungen auf die Masteigenschaften hat als eine Kastration.

Den kommerziell erhältlichen, aber nur für Eber zugelassenen Impfstoff Improvac® (Zoetis, Belgien) testeten Janett et al. (2003) erfolgreich an Bocklämmern. Die erste Impfung fand im Alter von zwei bis drei Monaten statt, eine zweite Impfung nach drei Wochen. Nach der zweiten Impfung konnte über mindestens zwölf Wochen eine geringere Testosteronkonzentration im Plasma und ein verringerter Skrotalumfang nachgewiesen werden; nach drei bis sieben Monaten stieg die Konzentration bei den meisten Versuchstieren wieder an,

gleichzeitig setzte das Hodenwachstum ein. Bei einem Tier waren auch nach einem Jahr noch kein Anstieg der Testosteronkonzentration und kein Hodenwachstum zu erkennen. Am Ende des Versuches konnten von einigen Tieren Ejakulate gewonnen werden; nur in einem Fall lagen unbewegliche Spermien vor, alle anderen Ejakulate waren von guter Qualität. Die Gewichtsentwicklung der Versuchstiere blieb leicht, aber nicht signifikant hinter derjenigen der Kontrolltiere zurück.

Aufgrund der höheren Praktikabilität entschieden sich Cui et al. (2003) für eine einmalige Behandlung mit einer GnRH-Vakzination ohne Boosterinjektion bei drei Monate alten Schafböcken; verwendet wurde ein synthetisches GnRH, gebunden an bovines Serumalbumin als Trägerprotein und ergänzt durch das komplette Freund-Adjuvans. Ein Antikörperspiegel wurde im Rahmen der Untersuchung nicht gemessen. Die Plasmatestosteronkonzentration der Tiere war bis zu einem Lebensalter von sechs Monaten deutlich niedriger als bei Kontrolltieren. In der Folge kam es bis zur Schlachtung in einem Lebensalter von neun Monaten zwar zu einem signifikanten Anstieg des Testosteronwertes, jedoch blieb dieser stets niedriger als bei den Kontrolltieren. Der Hodendurchmesser der behandelten Tiere war über die gesamte Untersuchungszeit signifikant geringer als bei Kontrolltieren und es kam erst im Alter von sieben Monaten zu einem merklichen Hodenwachstum. Während das Körpergewicht der Versuchstiere bis zum sechsten Lebensmonat signifikant geringer war als das der Kontrolltiere, erreichten sie bis zur Schlachtung vergleichbare Gewichtswerte. Erst sehr viel später als die unbehandelten Tiere, nämlich mit sieben Monaten, zeigten die Versuchstiere die ersten schwachen Anzeichen von sexuell orientiertem Verhalten. Die einmalige Injektion bei den präpubertären Tieren scheint damit insgesamt die Hodenfunktion bis zum sechsten Lebensmonat erfolgreich unterdrückt zu haben.

Ferro et al. (2004) verwendeten ein N-terminal modifiziertes GnRH-Peptid, welches mit einem Tetanus-Toxoid konjugiert und mit Aluminiumsalz als Adjuvans ergänzt wurde, um adulte Schafböcke zu immunisieren. Dieser Ansatz resultierte aus den in verschiedenen Studien immer wieder auftretenden Problemen mit der Effektivität der verwendeten Vakzinen und war zuvor bereits erfolgreich bei

Ratten eingesetzt worden (Khan et al. 2003). Die Injektionen fanden dreimal im Abstand von je drei Wochen statt. Ein Peak des GnRH-Antikörperspiegels im Blut trat in der vierten Woche nach der ersten Injektion auf, danach kam es trotz der zweiten Injektion zu einem rapiden Abfall desselben. Zudem hatte die Behandlung keinen nennenswerten Effekt auf die Plasmatestosteronkonzentration. Der Skrotalumfang der Versuchstiere war zwei Wochen nach der dritten Applikation um rund ein Viertel verringert, vier Wochen nach der letzten Injektion begann er wieder zuzunehmen. Nach der Schlachtung, drei Monate nach Erstinjektion, konnte histologisch eine signifikante Reduktion der Spermatogenese nachgewiesen werden, in 19 bis 28 % der betrachteten Tubuli seminiferi contorti fand Spermatogenese statt. Die Behandlung hatte keinen signifikanten Effekt auf das Körpergewicht der Tiere.

Mit dem Ziel, eine sichere, effizient herstellbare und kommerziell nutzbare GnRH-Vakzination für Schafböcke zu etablieren, verwendeten Goodwin et al. (2015) eine zuvor bereits erfolgreich bei Mäusen eingesetzte Lipopeptid-Vakzine (Goodwin et al. 2014). Vereinfacht gesagt, wurden hierbei zwei Kopien des B-Zell-Epitopes des GnRHs in ein Lipopeptid-System inkorporiert und, um einen immunologischen Effekt zu erzielen, um weitere zwei Kopien eines T-Zell-Epitopes ergänzt. Eine Gruppe Schafböcke erhielt eine Injektion dieser GnRH-Lipopeptid-Vakzine (GnRH-LP) ohne zusätzliches Adjuvans, eine zweite Versuchsgruppe erhielt die Vakzine ergänzt um AdjuVac™ als Adjuvans. An Tag 29 nach der Injektion wurde eine erste Blutuntersuchung durchgeführt, beide Gruppen zeigten einen signifikanten Anstieg des GnRH-Antikörperspiegels im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrollgruppe, wobei die Werte bei der zweiten Versuchsgruppe höher waren als bei der ersten. Es erfolgte eine erneute Injektion bei beiden Gruppen, woraufhin die Antikörperspiegel weiter anstiegen und einen Maximalwert an Tag 43 erreichten. Anschließend fielen die Titer wieder ab, an Tag 57 gab es keinen Unterschied mehr zwischen der ersten Versuchsgruppe und den Kontrolltieren; die zweite Versuchsgruppe behielt signifikant höhere Titer bis zum Ende der Studie an Tag 206. Auch die Größe der Hoden aller Tiere wurde regelmäßig vermessen; zwischen der ersten Versuchsgruppe und den Kontrolltieren konnte hierbei kein Unterschied

festgestellt werden, die zweite Versuchsgruppe zeigte von Tag 57 bis Studienende signifikant kleinere Hodenmaße. Eine Ausnahme bildete hierbei ein Versuchstier aus der zweiten Gruppe, welches überdurchschnittlich große Hodenmaße aufwies und offensichtlich nicht auf die Vakzination reagierte. Die Gewichtsentwicklung der Tiere aus Versuchsgruppe 2 war geringer als die der weiteren Tiere. Insgesamt war die Wirkung des GnRH-LP auf die Schafböcke nur in Kombination mit einem Adjuvans ausreichend, um eine Auswirkung auf die sexuelle Entwicklung zu haben; Aussagen über die Fruchtbarkeit der Versuchstiere wurden in der Studie von Goodwin et al. (2015) nicht getroffen, eine Reversibilität der Vakzination war bis Studienende an Tag 206 nicht nachweisbar.

Ein weiterer Ansatz bei der Immunisierung gegen GnRH ist die Verwendung eines GnRH-Fusionsproteins. Fusionsproteine entstehen durch die gemeinsame Expression zweier Gene oder Genabschnitte, die dicht hintereinander im Genom liegen. Während bei der Herstellung einer klassischen GnRH-Vakzine das GnRH mittels einer chemischen Verbindungstechnik an ein Trägerprotein gebunden werden muss, können bei Verwendung rekombinanter DNA-Technologie die Hormonepitope direkt in das Trägerprotein inkorporiert werden (Ülker et al. 2005a, 2009b). Fusionsproteine können im Gegensatz zu chemisch hergestellten Vakzinen in großer Menge und homogener Qualität hergestellt werden (Ülker et al. 2005a, 2009a). Das rekombinante GnRH-Fusionsprotein Ovalbumin-LHRH-7 (OL) wurde bereits bei weiblichen Mäusen angewandt, welche auf die Injektion mit hohen GnRH-Antikörperspiegeln reagierten (Zhang et al. 1999); es wurde außerdem erfolgreich zur Östrusunterdrückung bei Färsen eingesetzt (Geary et al. 2006; Sosa et al. 2000; Stevens et al. 2005). Bei männlichen Mäusen konnte mit einer Kombinationsvakzine, welche die Fusionsproteine Ovalbumin-LHRH-7 und Thioredoxin-LHRH-7 enthielt, bei einer größeren Anzahl an Versuchstieren eine erfolgreiche Reduktion der Hodenfunktion bewirkt werden als mit der Injektion eines der beiden Fusionsproteine alleine (Quesnell et al. 2000); dieselbe Kombinationsvakzine wurde später erfolgreich bei Bullen angewendet (Aïssat et al. 2002).

Eine solche Vakzine, zusammengesetzt aus Ovalbumin-LHRH-7, Thioredoxin-

LHRH-7 und dem kompletten modifizierten Freund-Adjuvans bei der ersten Injektion beziehungsweise dem inkompletten modifizierten Freund-Adjuvans bei den weiteren Injektionen, verabreichten Ülker et al. (2005a) an zehn Wochen alte Bocklämmer. Zwei weitere Injektionen fanden nach vier und nach zwölf Wochen statt. Bei einer Blutuntersuchung zwei Wochen nach der ersten Injektion konnten noch keine Antikörper gegen GnRH im Blut der Tiere nachgewiesen werden, weitere zwei Wochen später hingegen waren Antikörper messbar. Der Antikörper-Titer stieg bis zur achten Woche nach erster Injektion an, blieb dann bis zur 16. Woche auf einem Plateau und stieg bis zum Versuchsende 27 Wochen später erneut an. Bei einem der acht Versuchstiere konnte kein Antikörperspiegel gemessen werden, jedoch zeigte auch dieses Tier kleinere Hodenmaße als die Kontrolltiere sowie einen erniedrigten Testosteronwert im Blut. Die Autoren erklärten sich dieses mit der hohen Affinität der Antikörper zum GnRH, durch welche möglicherweise auch ein Antikörperspiegel unterhalb der Messgrenze ausreicht, um eine Anti-GnRH-Wirkung zu erzielen.

Die Testosteronwerte im Blut der Versuchstiere lagen stets unterhalb der Werte von unbehandelten Kontrolltieren, einzig in der vierten Versuchswoche waren die Werte beider Gruppen auf dem gleichem, niedrigem Niveau. Ab der vierten Versuchswoche hatten die Versuchstiere geringere Hodenmaße als die Kontrolltiere. Bei allen Kontrolltieren konnte spätestens ab der 30. Lebenswoche ein sexuell orientiertes Verhalten mit Aufsprungversuchen auf eine östrische weibliche Ziege beobachtet werden; bei der Mehrheit der Versuchstiere konnte dieses erst ab der 36. Lebenswoche, bei einem Versuchstier über den gesamten Zeitraum hinweg nicht nachgewiesen werden. Alle zwei Wochen wurde von den Tieren mittels Elektroejakulation Sperma gewonnen, hierbei konnten zu keinem Zeitpunkt ausgereifte Spermatozoen bei den Versuchstieren vorgefunden werden. Eine in der 35. Lebenswoche durchgeführte sonographische Untersuchung zeigte bei den Versuchstieren eine kleinere Prostata als bei den Kontrolltieren, zudem wiesen die Hoden der Versuchstiere zu diesem Zeitpunkt im Ultraschall eine ähnliche hypoechogene Struktur auf wie im Alter von zehn Wochen, wohingegen das Ultraschallbild der Hoden der Kontrolltiere deutlich echogener geworden war. Mit 37 Wochen wurden die Tiere geschlachtet und eine

histologische Untersuchung der Hoden durchgeführt, hierbei wurde eine deutliche Hypoplasie derselben mit signifikant geringeren Durchmessern der Tubuli seminiferi contorti sowie ein vollständiges Fehlen ausgereifter Spermatozoen festgestellt, lediglich vereinzelte mitotisch nicht aktive Spermatogonien konnten vorgefunden werden.

Im Anschluss an die oben beschriebene Studie verabreichten Ülker et al. (2005b) reines OL, ohne Kombination mit Thioredoxin-LHRH-7, an 19 Wochen alte Schaflämmer. Eine Boosterinjektion fand im Alter von 21 Wochen statt. Anders als die Kontrolltiere zeigten die Versuchstiere keine Zunahme des Skrotalumfanges bis zur Schlachtung im Alter von 41 Wochen, histologische Untersuchungen von Hodenbiopsaten im Alter von 19, 29 und 41 Wochen ergaben einen Rückgang der Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti bei den behandelten Tieren, bei den Kontrolltieren hingegen eine Zunahme. Während bei sonographischen Untersuchungen der Hoden bei den Kontrolltieren eine Zunahme der Echogenität beobachtet werden konnte, zeigten die Hoden der Versuchstiere eine zwar homogene, aber gleichbleibend hypoechogene Struktur. Im Alter von 37 Wochen wurde eine Elektroejakulation durchgeführt, hierbei konnten bei keinem der Versuchstiere Spermatozoen gewonnen werden.

In einer weiteren Studie testeten Ülker et al. (2009b) erneut die Wirkung des reinen OL auf männliche, 19 Wochen alte Schaflämmer. Hierfür wurden die Lämmer mit OL, ergänzt um das komplette Freund-Adjuvans, immunisiert; die zweite Injektion erfolgte in einem Lebensalter von 23 Wochen und wurde durch das inkomplette Freund-Adjuvans ergänzt. Zwei Wochen nach der ersten Injektion wurde eine erste Blutuntersuchung durchgeführt, hierbei konnten Antikörper gegen GnRH gemessen werden; der Antikörperspiegel stieg bis zur achten Woche weiter an, verblieb dann bis zur zwölften Woche auf einem Plateau und sank bis zur Schlachtung der Tiere 22 Wochen nach erster Injektion wieder leicht ab. Die Serum-Testosteronkonzentration lag bereits bei der ersten Messung unterhalb der Nachweisgrenze und stieg bis zur Schlachtung nicht wieder in den messbaren Bereich an. Zudem konnte bei regelmäßigen Messungen des Skrotalumfanges bei den behandelten Tieren, anders als bei unkastrierten Kontrolltieren gleichen Alters, keine Zunahme des Umfangs

festgestellt werden.

Im Alter von 19 und 29 Wochen wurde jeweils eine Hodenbiopsie und nach der Schlachtung eine Gewebeprobe aus den Hoden entnommen. Bei der histologischen Untersuchung dieser Proben wurde ein zunächst tendenziell und zum späteren Zeitpunkt signifikant niedrigerer Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti bei den Versuchstieren im Vergleich zu den Kontrolltieren festgestellt; zudem konnten keine Keimzellen vorgefunden werden. Im Lebensalter von 37 Wochen wurde ein Ejakulat per Elektroejakulation gewonnen, in diesem befanden sich keine Spermien. Nach der Schlachtung konnten auch in den Nebenhoden keine Spermien nachgewiesen werden. Das Gewicht von Prostata und Glandula vesicularis war bei den Versuchstieren geringer als bei den Kontrolltieren. Bei Ultraschalluntersuchungen der Hoden zeigten sowohl Versuchs- als auch Kontrolltiere im Alter von 19 Wochen eine homogene, hypoechogene testikuläre Struktur; während diese bei den Kontrolltieren mit zunehmendem Alter immer hyperechogener wurde, verlor sie bei den Versuchstieren an Echogenität.

Den Fokus auf die Auswirkungen der Injektion von Ovalbumin-LHRH-7 auf Mast- und Schlachtkörpereigenschaften legten Gökdal et al. (2010). Sie verabreichten das OL an 12 Wochen alte Bocklämmer, eine Boosterinjektion fand zwei Wochen später statt. Das OL wurde wie bei Ülker et al. (2009b) bei der ersten Injektion in ein modifiziertes komplettes Freund-Adjuvans, bei der Boosterinjektion in ein modifiziertes inkomplettes Freund-Adjuvans emulgiert. Bei einer Blutuntersuchung zwei Wochen nach der ersten Injektion konnten Antikörper gegen GnRH nachgewiesen werden, der Antikörperspiegel stieg in den ersten acht Wochen beständig an, blieb dann zwei Wochen auf einem Plateau, sank zwei Wochen leicht und stieg bis zum Versuchsende nach 16 Wochen wieder an. Die Testosteronkonzentrationen im Serum der behandelten Tiere lagen über den gesamten Versuchszeitraum unter den Werten von unbehandelten Kontrolltieren. Ab der vierten Woche nach der ersten Injektion zeigten die Versuchstiere geringere Hodenumfänge als die Kontrolltiere, dieser Unterschied blieb bis zum Versuchsende bestehen. Histologisch konnte nach der Schlachtung eine deutliche Hypoplasie der Hoden der Versuchstiere nachgewiesen werden, sie

wiesen signifikant niedrigere Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti und einen höheren Anteil an Bindegewebeinlagerungen auf, zudem konnten keine ausgereiften Spermatozoen und keine Spermatogonien mit Anzeichen einer mitotischen Aktivität gefunden werden.

Das Körpergewicht der immunisierten Tiere lag tendenziell etwas unter dem Gewicht der Kontrolltiere, dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant; das Verhältnis von aufgenommenem Futter zur Gewichtszunahme war bei den behandelten Tieren sogar signifikant besser. An den Schlachtkörpern konnten kaum Unterschiede zwischen beiden Gruppen festgestellt werden: Das Gesamtgewicht der Schlachtkörper war gleich, lediglich das Gewicht des Musculus longissimus war bei den Kontrolltieren etwas höher als bei den Versuchstieren, wohingegen die Versuchstiere einen signifikant höheren Anteil an subkutanem Fett sowie einen leicht höheren Anteil an Fett im Nieren- und Beckenbereich (nicht signifikant) aufwiesen. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen von Ülker et al. (2002, 2003), die nach einer Immunisierung von Schaflämmern mit OL weder signifikante Auswirkungen auf die Wachstumsrate noch auf das Schlachtkörpergewicht feststellen konnten. Eine histologische Untersuchung der Hypophyse zeigte keine Veränderungen bei den Versuchstieren, sodass Gökdal et al. (2010) auf eine mögliche Reversibilität der Downregulation der Gonaden schlossen.

Karakuş et al. (2013) befassten sich mit zwei Schwachstellen der bisherigen Studien zum Ovalbumin-LHRH-7: Zum einen untersuchten sie, ob eine einmalige und damit praktikablere Anwendung ausreicht, zum anderen kombinierten sie das OL neben dem modifizierten Freund-Adjuvans mit drei verschiedenen anderen Adjuvantien, da es bei Verwendung des kompletten Freund-Adjuvans zu lokalen Gewebsreaktionen kommen kann. Unter anderem wurde das CpG (bacterial cytosine guanine oligode oxynucleotide) als Adjuvans eingesetzt, welches sich in vorhergehenden Studien als gewebschonende Alternative empfohlen hatte (Bode et al. 2011) und in Verbindung mit OL sowohl bei Ratten (Conforti et al. 2007) als auch bei Rindern (Conforti et al. 2008) eingesetzt wurde. Als Versuchstiere dienten Karakuş et al. (2013) zwölf Wochen alte Schaflämmer. Bei der Versuchsgruppe, welche das modifizierte, komplette Freund-Adjuvans

erhalten hatte, sowie bei einer weiteren Versuchsgruppe, bei welcher als Adjuvans das CpG verwendet worden war, konnten als Reaktion auf die Injektion signifikant geringere Skrotalumfänge als bei Kontrolltieren nachgewiesen werden. Nach einer Ejakulatgewinnung mittels Elektroejakulation im Alter von 36 Wochen konnten bei diesen Versuchsgruppen nur bei jeweils einem von sechs beziehungsweise sieben Versuchstieren Spermatozoen nachgewiesen werden. Bei den anderen beiden Versuchsgruppen gab es weder signifikante Veränderungen hinsichtlich der Skrotalumfänge noch hinsichtlich der Ejakulatqualität, sodass die hier verwendeten Adjuvantien Inulin und Saponin als ungeeignet bezeichnet werden können. Die im Vergleich zu vorherigen Versuchsaufbauten (Ülker et al. 2005a, 2005b, 2009a, 2009b; Gökdal 2010) geringere Wirkung der Behandlung auch in Kombination mit dem Freund-Adjuvans zeigt auf, dass eine einmalige Behandlung nicht ausreichend zu sein scheint.

Zu sehr ähnlichen Ergebnissen kamen Yilmaz et al. (2018), die sich in ihrer Studie ebenfalls sowohl mit potentiellen Alternativen zum kompletten Freund-Adjuvans als auch mit der Effektivität des OL als Einzelinjektion ohne anschließende Boosterinjektion beschäftigten. Zudem wurden hier erstmals adulte, über ein Jahr alte Schafböcke als Versuchstiere genutzt. Aufgeteilt auf vier Versuchsgruppen erhielten die Tiere eine Dosis von 0,3 mg beziehungsweise 0,6 mg OL, emulsiert in CpG und inkomplettes Freund-Adjuvans mit und ohne Boosterinjektion nach vier Wochen. Bei keiner Versuchsgruppe konnten signifikante Auswirkungen der Behandlung auf die Entwicklung des Körpergewichtes ausgemacht werden, die Libido sexualis hingegen wurde bei allen Versuchsgruppen signifikant verringert. Am deutlichsten war dieses bei der Versuchsgruppe, welche 0,6 mg OL mit Boosterinjektion (Gruppe 2) erhalten hatte; bei dieser Gruppe war auch der Skrotalumfang der Böcke von der 16. Woche nach erster Injektion bis zum Studienende nach 90 Wochen signifikant geringer als bei den Kontrolltieren, während der Skrotalumfang der Tiere aus der Gruppe 0,3 mg OL und Boosterinjektion (Gruppe 1) nur in der zwölften bis 20. Woche signifikant kleiner war, derjenige der Gruppe 0,3 mg OL als einzelne Injektion (Gruppe 3) zu keinem Zeitpunkt und der Gruppe 0,6 mg OL als Einzelinjektion (Gruppe 4) von der 16.

bis zur 20. Woche. Spermauntersuchungen nach Elektroejakulation in Woche 28 und 74 nach erster Injektion ergaben für die verschiedenen Gruppen das Vorliegen von Spermatozoen bei 43 % (Gruppe 2 Woche 28) bis 100 % (Gruppen 1 und 4 Woche 74) der Versuchstiere; bei keiner Gruppe lag ein signifikanter Einfluss der Behandlung auf die Spermakonzentration vor. Yilmaz et al. (2018) erklärten sich dieses im Vergleich zu vorherigen Studien nicht zufriedenstellende Ergebnis mit dem Alter der Versuchstiere.

2015 veröffentlichten Han et al. eine weitere Untersuchung, in welcher zehn 24 Wochen alten Schafböcken eine Vakzine verabreicht wurde, welche zuvor bereits erfolgreich bei Ebern eingesetzt worden war und sich hier als hoch effektiv und kosteneffizient bewährt hatte (Oonk et al. 1998). Es handelt sich um ein neu entwickeltes Antigen auf Basis eines GnRH-Tandem-Peptides; dieses wurde zunächst modifiziert, um eine Konjugation mit Ovalbumin zu ermöglichen, und dann um ein Adjuvans (Specol) ergänzt. Eine Boosterinjektion erfolgte nach acht Wochen, eine Gruppe unbehandelter Tiere sowie eine Gruppe chirurgisch kastrierter Schafböcke dienten als Vergleichstiere. Alle behandelten Böcke zeigten in den vier Wochen nach der ersten Injektion einen Anstieg des GnRH-Antikörper-Titers, der Titer blieb weiterhin konstant und stieg nach der Boosterinjektion noch einmal an, um bis zur Schlachtung der Tiere nach 16 Wochen hoch zu bleiben. Proportional hierzu, aber in abfallender Richtung, verhielten sich die Konzentrationen von Testosteron, LH, FSH und Inhibin im Serum der behandelten Tiere. Bei der Schlachtung der Schafböcke war das Gewicht der Hoden der behandelten Tiere im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren um 64,82 % verringert. Histologisch konnten um 36 % kleinere Tubuli seminiferi contorti bei den Versuchstieren nachgewiesen werden, darüber hinaus wurden hier eine verminderte Anzahl an Leydig- und Sertolizellen, weniger Spermatogonien, Spermatozyten und Spermatiden sowie keine ausgereiften Spermatozoen nachgewiesen und damit eine Unterdrückung der vollständigen Spermatogenese bewiesen. Die Autoren schlussfolgerten hieraus, mit der GnRH-Vakzination eine effektive Alternative zur chirurgischen Kastration gefunden zu haben. Hinsichtlich der Reversibilität der Methode wurde keine Aussage getroffen.

Zusammenfassend belegen mehrere Studien den erfolgreichen Einsatz einer GnRH-Immunisierung bei männlichen Schafen, egal ob mit einer individuell hergestellten oder einer kommerziell erhältlichen, umgewidmeten Vakzine. Vergleicht man die mittels GnRH-Vakzine behandelten mit kastrierten Tiere, so sind die Auswirkungen auf Masteigenschaften und Schlachtkörperbeschaffenheit als durchaus positiv zu bewerten, obgleich die gewünschte Verhaltensänderung bei den kastrierten Tieren deutlicher ausgeprägt ist (Kiyma et al. 2000). Bei der passiven Immunisierung gegen GnRH wurden in beiden vorliegenden Studien (Lincoln und Fraser 1979; Parthasarathy et al. 2002) keine weiterführenden Untersuchungen hinsichtlich der Fruchtbarkeit der behandelten Tiere sowie der Reversibilität durchgeführt; aufgrund des hohen Aufwandes zur Herstellung einer Vakzine zur passiven Immunisierung liegen die Forschungsschwerpunkte eindeutig bei der aktiven Immunisierung. Hierbei beschäftigt sich der Großteil der Untersuchungen mit juvenilen Tieren (Brown et al. 1994; Cui et al. 2003; Gökdal et al. 2010; Janet et al. 2003; Jeffcoate et al. 1982; Karakuş et al. 2013; Kiyma et al. 2000; Schanbacher et al. 1982; Ülker et al. 2005a, 2005b, 2009b), Studien zur Wirkung einer aktiven Immunisierung auf adulte Schafböcke liegen nur vereinzelt vor (Ferro et al. 2004; Goodwin et al. 2015; Han et al. 2015; Oatley et al. 2005; Yilmaz et al. 2018). Zudem wird meist das Augenmerk auf die Auswirkungen der Vakzination auf Hormon- und Antikörperkonzentrationen im Blut der Tiere gelegt, definitive Aussagen zur Fruchtbarkeit der Versuchstiere gemessen an Spermauntersuchungen treffen nur vereinzelte Autoren (Brown et al. 1994; Janett et al. 2003; Jeffcoate et al. 1982; Karakuş et al. 2013; Ülker et al. 2005a, 2005b, 2009b; Yilmaz et al. 2018). Weiterhin fehlen, bis auf zwei Ausnahmen, Untersuchungen zur Reversibilität der Behandlungen, und in ebendiesen Studien lag bei jeweils einem Tier bis zum Versuchsende eine Irreversibilität vor (Brown et al. 1994; Janett et al. 2003).

2.2.1.2 Langzeitapplikation von GnRH oder eines GnRH-Agonisten

Die Langzeitapplikation von Gonadotropin-Releasing-Hormon oder einem seiner Agonisten stellt eine Methode zur Downregulation der Gonadenfunktion dar, die bereits bei männlichen Tieren vielerlei Spezies angewandt wurde. So gibt es

unter anderem Untersuchungen zum erfolgreichen Einsatz beim Hund (Ludwig et al. 2009), bei der Katze (Fontaine 2015; Goericke-Pesch et al. 2014), bei der Ratte (Labrie et al. 1978), beim Hamster (Sandow und Hahn 1978) und beim Eber (Kauffold et al. 2010). Durch die Langzeitapplikation von GnRH oder eines potenten Agonisten kommt es zu einem paradoxen, inhibitorischen Effekt auf die Reproduktionsorgane (Fraser und Lincoln 1980; Padula 2005). Einer initialen Hyperstimulation der Hypophyse mit dadurch bedingter vermehrter Ausschüttung von LH und FSH folgt eine Phase der verringerten Ansprechbarkeit der Hypophyse für endo- und exogenes GnRH und eine damit verbundene Verminderung der Synthese und Sekretion von Gonadotropinen (Adams 2005). Die erste Veröffentlichung zum Einsatz von GnRH als Langzeitapplikation beim Schafbock stammt aus dem Jahr 1976 (Bremner et al. 1976). Hierbei wurde adulten Tieren mittels einer Infusionspumpe über vier bis zehn Stunden ein synthetisches GnRH in unterschiedlicher Dosierung verabreicht. Als Reaktion auf die Infusion konnte ein Anstieg der Plasmakonzentration des LH gemessen werden, welcher zweiphasig ablief: Kurz nach Beginn der Applikation kam es zu einem steilen Anstieg der LH-Konzentration und nach einer Plateauphase zu einem zweiten Anstieg; dann folgte trotz fortwährender Infusion rund 150 Minuten nach deren Beginn ein Abfall des LH-Plasmaspiegels. Dieser Abfall konnte auch durch die Verlängerung der Infusionsdauer nicht verhindert werden. Bei der FSH-Konzentration im Plasma kam es dagegen nur zu einem leichten, graduellen Anstieg; dieser konnte nicht bei allen Tieren beobachtet werden. Die bei Schafböcken inkonstante Reaktion des FSH-Spiegels auf GnRH-Applikation war zuvor schon von Hopkinson et al. (1974) beobachtet worden, bei denen nur einer von fünf Böcken auf die Injektion einer niedrigen Dosis von GnRH mit einem Anstieg der FSH-Konzentration reagierte; bei einer höheren Konzentration waren es drei von vier Tieren. Die Testosteronkonzentration im Plasma folgte bei der Untersuchung von Bremner et al. (1976) der LH-Konzentration, nach einem starken Anstieg kam es nach dem Erreichen der Maximalkonzentration nach 75 bis 180 Minuten wieder zu einem graduellen Abfall.

Die einmal tägliche Injektion eines GnRH-Agonisten bei adulten Schafböcken über acht Tage führte nach der ersten Injektion zu einem sofortigen und länger

anhaltendem Anstieg der LH- und Testosteronkonzentration; nach der Applikation am letzten Tag war der Anstieg beider Werte noch immer rapide, aber weit weniger ausgeprägt, erreichte seinen Maximalwert schneller und kehrte alsbald in den physiologischen Bereich zurück (LH) beziehungsweise verließ den physiologischen Bereich nicht (Testosteron) (Fraser und Lincoln 1980). Die Hypophyse der Tiere reagierte also noch auf den Stimulus durch das zugeführte GnRH, war in ihrer Ansprechbarkeit jedoch reduziert. Bei dieser Untersuchung kam es nach der Injektion des GnRH-Agonisten am ersten Tag zu einem signifikanten und über mehrere Stunden andauernden Anstieg der Plasmakonzentration von FSH, der nach der achten Applikation nur noch leicht und zeitlich verkürzt stattfand. Einen Tag nach der letzten Behandlung konnte eine signifikant erhöhte Anzahl an episodischen LH-Peaks gemessen werden, deren Amplitude im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant niedriger war; gleichzeitig war auch die mittlere Testosteron-Plasmareaktion bei den Versuchstieren signifikant erniedrigt und die Plasmakonzentration des FSH reduziert. Die Effekte der Langzeitbehandlung mit GnRH sind in der Regel reversibel, bereits sechs Tage nach Behandlungsende reagierten die Tiere auf die Injektion von GnRH mit einem den Kontrolltieren ebenbürtigen Anstieg des Testosteronspiegels; der auf die Injektion folgende Anstieg der LH-Konzentration blieb hingegen bis zu 16 Tage nach Ende der Behandlung erniedrigt. Die Hodengröße der Tiere zeigte während und nach der Behandlung keine Abweichung zu der von Kontrolltieren.

Einen längeren Behandlungsintervall von 16 Wochen und das GnRH-Analogon Buserelin (Butylserylrelin) wählten Lincoln et al. (1986) für die Applikation mittels einer subkutan implantierten Pumpe bei adulten Schafböcken. Wie schon bei den zuvor beschriebenen Untersuchungen kam es initial zu einer rapiden Erhöhung des LH- und des Testosteronspiegels, während es nur bei 50 % der Tiere zu einem minimalen und kurz andauernden Anstieg der FSH-Werte kam und die FSH-Konzentration bereits einen Tag nach Beginn der Behandlung unter dem Ausgangswert lag. 21 Tage nach Beginn waren die Konzentrationen aller drei Hormone bei allen Tieren merklich unterdrückt, es wurden keine signifikanten pulsatischen Veränderungen der LH-Konzentration und nur minimale Fluktuationen

des Testosteronlevels beobachtet. Der Rückgang der LH-Konzentration war graduell, was für einen progressiven Verlust der Ansprechbarkeit der Hypophyse auf endogenes und exogenes GnRH spricht. Die Werte normalisierten sich eine Woche nach Ende der Behandlung; vermutlich durch die während der Behandlung gesteigerte Produktion von endogenem GnRH fiel die pulsatile Ausschüttung des LH bei den Versuchstieren zunächst noch etwas stärker aus als bei Kontrolltieren. Die Hodengrößen von behandelten und unbehandelten Tieren zeigten keinen erwähnenswerten Unterschied. Auf eine Injektion von GnRH an Tag 21 zeigten die Versuchstiere keine Reaktion, auf eine Injektion von LH reagierten sie hingegen mit einem Anstieg der Testosteronkonzentration; die Ansprechbarkeit der Leydig-Zellen im Hoden auf LH war also unverändert.

Ganz ähnliche Ergebnisse brachte eine Studie an adulten Schafböcken, die über 28 Tage einen GnRH-Agonisten ebenfalls über eine subkutan implantierte, osmotische Minipumpe erhielten (Jiménez-Severiano et al. 2007). Die LH-Konzentration im Plasma der Versuchstiere stieg zunächst stark an, um dann deutlich abzufallen und unter dem vor Beginn des Versuches gemessenem Niveau zu verbleiben; die Testosteron-Konzentration verhielt sich anfangs ähnlich, stieg aber bis zum fünften Tag der Behandlung noch einmal leicht an, um bis zum 19. Tag wieder auf den Ausgangswert abzufallen. Wie bei Fraser und Lincoln (1980) kam es am ersten Tag nach Ende der Behandlung als Reaktion auf die Injektion von GnRH nur zu einem leichten Anstieg der LH-Konzentration, aber anders als bei der oben erwähnten Studie auch zu einem signifikanten Anstieg der Testosteron-Konzentration. Ab dem zehnten Tag nach Behandlungsende war die Reaktion auf eine GnRH-Injektion sowohl den LH- als auch den Testosteron-Spiegel betreffend bei den Versuchstieren wie bei den Kontrolltieren.

Den Effekt einer Langzeitapplikation von GnRH auf präpubertäre Tiere mit dem Ziel der Verzögerung des Einsetzens der Pubertät studierten Tilbrook et al. (1993), indem sie Schaflämmer, beginnend in der Phase kurz vor der Pubertät, über 16 Wochen mit einem GnRH-Agonisten behandelten. Es gelang ihnen, den Beginn der Pubertät zu verzögern und das Hodenwachstum zu hemmen: Das sexuell orientierte Verhalten der Versuchstiere war signifikant geringer

ausgeprägt als das von Kontrolltieren und erst acht Wochen nach Ende der Behandlung mit dem von Kontrolltieren vergleichbar. Zudem war das berechnete Gewicht der Hoden bei den Versuchstieren während der Behandlung signifikant erniedrigt und bei der Schlachtung acht Wochen nach Versuchsende war sowohl das Gewicht der Hoden als auch das der Nebenhoden signifikant niedriger als bei Kontrolltieren. Das Wachstum der Tiere wurde durch die Behandlung gehemmt, das Gewicht der Kontrolltiere war bei Schlachtung signifikant höher als das der Versuchstiere.

Das für Hunde und Frettchen zugelassene Suprelorin®-Implantat (Virbac, Frankreich) testete Prestel (2017) an juvenilen Schaf- und Ziegenböcken. Es handelt sich hierbei um das GnRH-Analogon Deslorelin, welches durch das Implantat über einen längeren Zeitraum freigesetzt wird. Das Implantat wurde sieben Schafböcken und drei Ziegenböcken im Alter zwischen zwei und fünf Monaten eingesetzt, fünf Monate später wurden vier Schafböcke und alle Ziegenböcke kastriert. Die verbliebenen drei Schafböcke erhielten ein weiteres Implantat und wurden zehn Wochen später ebenfalls kastriert. Jeweils die gleiche Anzahl an Tieren stand als Kontrollgruppe zur Verfügung. Regelmäßig wurden der Allgemeinzustand, die körperliche Entwicklung, die Hodenentwicklung, die Hodenkonsistenz und die Testosteronkonzentration im Blut kontrolliert sowie sonographische Untersuchungen von Hoden und Nebenhoden inklusive eindimensionaler Grauwertanalyse durchgeführt; nach der Kastration wurde Sperma aus den Nebenhoden gewonnen und spermatologisch untersucht sowie die Hoden histologisch untersucht. Bei keiner der Versuchsgruppen konnte ein Einfluss der Behandlung auf die körperliche Entwicklung nachgewiesen werden. Bei der Hodenentwicklung zeigten die Tiere ein uneinheitliches Verhalten: Bei vier Schafböcken der Versuchsgruppe 1 (einmalige Implantation) lag ein im Vergleich zur Kontrollgruppe uneingeschränktes Hodenwachstum vor, bei zwei Tieren stagnierte das Wachstum, bei einem Tier verringerte sich die Hodengröße leicht. In der Versuchsgruppe 2 (zweimalige Implantation) zeigte ein Tier ein deutliches Hodenwachstum, ein Tier ein geringes Hodenwachstum und ein Tier eine deutliche Verkleinerung der Hoden – ähnliche Ergebnisse wurden hier aber auch bei der Kontrollgruppe ermittelt, in welcher ebenfalls nur bei einem Tier ein

deutliches Hodenwachstum nachgewiesen werden konnte, bei den zwei weiteren Tieren hingegen eine Stagnation des Wachstums vorlag. Bei den Ziegenböcken der Versuchsgruppe wurde bei einem Tier ein deutliches Hodenwachstum, bei einem Tier ein geringes Wachstum und bei einem Tier eine geringe Abnahme der Hodengröße gemessen; in der Kontrollgruppe zeigten hier zwei Tiere ein geringes Wachstum und ein Tier eine geringe Abnahme der Hodengrößen. Bei keinem der drei Versuchsaufbauten konnte bezüglich der Hodenentwicklung ein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden, gleiches gilt für die Hodenkonsistenz, die sonographische Untersuchung der Hoden, die Grauwertanalyse und die Testosteronkonzentration im Blut. Nach der Kastration wurde bei einem Schafbock der Versuchsgruppe 1 keine Spermien im Nebenhodenschwanz vorgefunden, bei einem weiteren Tier lag eine deutlich eingeschränkte Massenbewegung der Spermien vor, bei zwei Tieren konnte Sperma mit einer ungestörten Massenbewegung gewonnen werden; genau dieselben Ergebnisse wurden bei den vier Schafböcken der Kontrollgruppe erreicht. Bei den Schafen der Versuchsgruppe 2 konnte jeweils bei zwei Tieren kein Sperma und bei einem Tier Sperma mit guter Massenbewegung gewonnen werden, bei den Kontrolltieren befand sich in jedem Nebenhodenschwanz Sperma mit einer physiologischen Massenbewegung. Bei den Ziegenböcken lag bei einem Tier kein Sperma vor, bei zwei Tieren wurde eine gute Massenbewegung nachgewiesen; bei den Kontrolltieren wurde wiederum bei jedem Tier eine gute Massenbewegung ermittelt. Die histologische Untersuchung spiegelte bei allen Tieren die Ergebnisse der spermatologischen Untersuchung wider. Somit konnte Prestel (2017) weder bei Schaf- noch bei Ziegenböcken und weder mit einmaliger noch mit zweimaliger Anwendung des Implantates eine zuverlässige Unterdrückung der Hodenentwicklung nachweisen.

Insgesamt belegen eine Vielzahl an Studien (Bremner et al. 1976; Fraser und Lincoln 1980; Jiménez-Severiano et al. 2007; Lincoln et al. 1986; Tilbrook et al. 1993) den erfolgreichen Einsatz einer GnRH-Langzeitapplikation für die reversible Unterdrückung der Hodenfunktion beim Schafbock. All diese Studien konzentrieren sich jedoch auf die in der Folge einer Behandlung auftretenden hormonellen Veränderungen; Studien, die auch die tatsächliche Infertilität der

Tiere während der Behandlung belegen sowie Langzeitstudien über den Einsatz von GnRH beim Schafbock liegen nicht vor. Der Versuch, die Hodenfunktion mithilfe eines GnRH-Implantates zu unterdrücken, ist nicht gelungen (Prestel 2017).

2.2.1.3 Immunisierung gegen LH

Die Immunisierung gegen LH wurde bisher vor allem beim weiblichen Tier erforscht, da dieses Hormon eine wichtige Rolle für die Follikelentwicklung und Ovulation spielt (D'Occhio 1993). So bewirkte beim weiblichen, geschlechtsreifen Schaf eine dreimalige Injektion (Wochen 0, 3 und 5) von LH, gebunden an Ovalbumin als Trägerprotein, dass 90 % der Tiere in Herdenhaltung trotz der Anwesenheit fertiler Böcke auch nach zwei Jahren der Beobachtung nicht tragend wurden (Roberts und Reeves 1989).

Das Schaf gehörte zu den ersten Tieren, an denen die Wirkung der LH-Vakzination auf das männliche Tier getestet wurde. In einer Studie (Schanbacher 1985) erhielten Bocklämmer zweimal im Alter von 18 beziehungsweise 22 Wochen eine LH-Vakzination. Hierbei führten sowohl die Injektion von ovinem LH als auch die Injektion von bovinem LH und die Injektion von ovinem LH, gebunden an humanes Serum Globulin (hSG) als Trägerprotein zu einem nachweisbaren LH-Antikörper-Spiegel im Blut. Die verabreichte Dosis (0,1 beziehungsweise 1 mg) hatte keinen Einfluss auf die Höhe des Antikörper-Spiegels, dieser war allerdings höher, wenn das LH in Kombination mit einem Trägerprotein verabreicht wurde. Die Gruppe mit dem höchsten LH-Antikörper-Spiegel war auch diejenige, bei der die Testosteronkonzentration im Plasma am deutlichsten zurück ging; insgesamt hatte die Behandlung aber trotz der vorhandenen Antikörperspiegel kaum Einfluss auf die Testosteronkonzentration. Das Gewicht der Hoden bei der Schlachtung war bei den Versuchsgruppen kaum geringer als das von unbehandelten Kontrolltieren, die LH-hSG-Gruppe zeigte hier die niedrigsten Gewichte. Die Schlachtkörpergewichte waren bei dieser Gruppe etwas geringer, bei allen anderen Gruppen vergleichbar mit denen der Kontrollgruppe.

Insgesamt konnte also nur bei einer Versuchsgruppe ein annähernd

zufriedenstellendes Ergebnis erreicht werden. Die Autoren bemerken aber, dass die Tiere deutlicher auf eine Injektion von bovinem LH reagierten als auf eine Injektion von ovinem LH und weisen darauf hin, dass möglicherweise die Verbindung von bovinem LH in Kombination mit hSG als Trägerprotein zum erwünschten Ergebnis führen könnte.

Bei Kälbern, die im Rahmen derselben Studie mit einer LH-Vakzine behandelt wurden, konnte eine wesentlich stärkere Reaktion beobachtet werden: Auf die Injektion von ovinem LH, gebunden an hSG, reagierten die Tiere mit einem Abfall der Testosteronkonzentration auf das bei chirurgisch kastrierten Tieren vorliegende Niveau, einem deutlich niedrigerem Hodengewicht als bei den unbehandelten Kontrolltieren und einer histologisch nachgewiesenen Azoospermie. Auch bei Kälbern fiel die Reaktion auf die Behandlung nur mit ovinem LH ohne Trägerprotein wesentlich geringer aus.

Als Grund für die stark unterschiedliche Reaktion der beiden Spezies vermuten die Autoren die physiologisch höhere LH-Konzentration bei Schafen. Auch die Frequenz der pulsatischen LH-Freisetzung aus dem Hypophysenvorderlappen ist bei diesen Tieren höher und könnte ein Grund dafür sein, dass die gebildeten Antikörper nicht ausreichten, um die physiologische Wirkung des LH zu blockieren. Die LH-Immunisierung scheint damit für die Tierart Schaf keine geeignete Alternative zu sein.

2.2.1.4 Immunisierung gegen Testosteron

Ob eine Immunisierung gegen Testosteron zu einer tatsächlichen Verminderung der Fertilität führt, ist umstritten und scheint auch tierartlich unterschiedlich wirkungsvoll zu sein. Durch die gebildeten Antikörper soll die Wirkung des Testosterons aufgehoben werden; gleichzeitig kommt es durch die mit der Vakzine herbeigeführte Erhöhung der Testosteronkonzentration im peripheren Blutkreislauf zu einem negativen Feedback auf die Sekretion von GnRH, sodass es in der Folge zu einer verminderten Ausschüttung von LH und FSH kommt (siehe Übersicht bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015).

Bolt (1971) wies bei Schafböcken nach einmaliger Testosteron-Injektion eine deutliche Erniedrigung der LH-Konzentration im Plasma nach. Einen weiteren

Anhaltspunkt lieferten Nieschlag und Wickings (1979), als sie bei Ratten und Kaninchen als Reaktion auf die Testosteron-Vakzinierung eine Verringerung der Libido sexualis, eine Atrophie der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und eine beeinträchtigte Fruchtbarkeit feststellten. Seitdem konnte das Konzept der Testosteron-Immunisierung zur Downregulation der Gonadenfunktion beim männlichen Tier aber nicht mehr bestätigt werden, sowohl bei Affen (Wickings und Nieschlag 1978), bei Bullen (D'Occhio et al. 1987; Jiménez-Severiano et al. 1996; Walker et al. 1984) als auch bei Schafböcken (siehe Übersicht bei Haynes und Southee 1984; Schanbacher 1982) wurden als Reaktion auf die Immunisierung ein erhöhter Testosterongehalt im Plasma sowie teilweise eine Hypertrophie der Hoden festgestellt. Auch die tägliche Ejakulatmenge war bei immunisierten Bullen erhöht (Walker et al. 1984).

Bei Ebern wurde neben einer erhöhten Testosteronkonzentration im Plasma eine deutliche Erniedrigung der LH- und FSH-Konzentration bei unveränderter Hodengröße und gleicher täglicher Ejakulatmenge im Vergleich zu Kontrolltieren nachgewiesen. In diesem Fall vermuteten die Autoren, dass die erhöhten Testosteronwerte nicht durch eine vermehrte Sekretion von Testosteron, sondern durch die Bindung des Testosterons an die gebildeten Antikörper und eine verringerte Metabolisierung dieser Komplexe im Vergleich zu ungebundenem Testosteron bedingt seien, da die intratestikulär gemessene Androgenkonzentration nicht höher war als bei Kontrolltieren (Thompson et al. 1985).

Ähnliche Ergebnisse erzielte Schanbacher (1982) bei der Immunisierung von Bocklämmern mit Testosteron: Während die LH- und FSH-Konzentrationen im Serum im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren erniedrigt waren, lag eine stark erhöhte Testosteronkonzentration vor. Die Tiere zeigten ein signifikant niedrigeres Schlachtgewicht als die Kontrolltiere, während die Hodengrößen vergleichbar waren. Bei einer histologischen Untersuchung der Hoden konnten Spermien nachgewiesen werden. Die Effekte des Testosterons auf die körperliche Entwicklung der Tiere scheinen damit durch die Immunisierung gehemmt worden zu sein, nicht aber dessen Auswirkungen auf die Hodenentwicklung.

2.2.2 Ziegenbock

Das Alter, in dem männliche Ziegen die Geschlechtsreife erreichen, variiert stark und wird je nach Autor mit 100 bis 250 Tagen (siehe Übersicht bei Bostedt 2001) beziehungsweise mit drei bis sechs Monaten (siehe Übersicht bei Meyer und Coenen 1995) angegeben. Der Eintritt der Pubertät wird von vielen Faktoren, wie zum Beispiel der Rasse, der Ernährung, von genetischen Einflüssen und insbesondere von der Jahreszeit, in welcher die Tiere geboren werden, bestimmt (Chakraborty et al. 1989), sodass sich in der Literatur vielfältige Angaben hierüber finden lassen (Ahmad und Noakes 1996; Barreto de Souza et al. 2011; Bongso et al. 1982; Chakraborty et al. 1989; Delgadillo et al. 2007; Deveson et al. 1992; Louw und Joubert 1964; Madani und Rahal 1988; Nishimura et al. 2000).

Bei Ziegenböcken der Rasse Anglo-Nubische Ziege, geboren im März und April, konnte ab einem Alter von $32,4 \pm 0,9$ Wochen, frühestens aber mit 28 Wochen, ein bewegliche Spermien enthaltendes Ejakulat mittels Elektroejakulation gewonnen werden (Chakraborty et al. 1989). Madani und Rahal (1988) führten bei lybischen Kreuzungsziegen, die im Januar geboren wurden, erstmals mit $158,7 \pm 6,7$ Tagen eine erfolgreiche Elektroejakulation durch; bei im August geborenen Böcken gelang dieses erst mit $192,1 \pm 7$ Tagen. Hieraus schlussfolgerten die Autoren eine Verzögerung der Pubertät durch die abnehmende Tageslichtlänge während der Entwicklung der spät im Jahr geborenen Ziegenböcke. Die erste erfolgreiche Bedeckung eines weiblichen Tieres gelang den im Januar geborenen Böcken mit $239,4 \pm 6,7$ Tagen und den im August geborenen Tieren mit $254,4 \pm 15,4$ Tagen (Madani und Rahal 1988). Ahmad und Noakes (1996) führten bei im Frühjahr geborenen Böcken der Rassen Saanenziege, Toggenburger Ziege und britische Alpenziege im Durchschnitt mit $172,7 \pm 4,47$ Tagen die erste erfolgreiche Absamung mittels einer künstlichen Vagina durch. Bei mexikanische Ziegen, geboren im Januar, konnte mit 131 ± 4 Tagen die erste komplette Bedeckung einer weiblichen Ziege beobachtet werden (Delgadillo et al. 2007); bei im Oktober geborenen Böcken gelang dieses mit 112 ± 5 Tagen, bei im Januar geborenen Tieren mit 131 ± 4 Tagen (Delgadillo et al. 2007). Deveson et al. (1992) wiesen nach, dass im

Oktober geborene Bocklämmer der Rasse Saanenziege während der ersten fünf Lebensmonate konstant höhere Plasmatestosteronkonzentrationen und signifikant höhere Skrotalumfänge als Vergleichstiere aufweisen, wenn die Muttertiere während der Trächtigkeit einem Lichtprogramm mit 20 Stunden intensiver Lichtbestrahlung pro Tag ausgesetzt werden. Bei Bongso et al. (1982) konnte bei Ziegenböcken einer Mischrasse mit 210 Tagen histologisch eine vollständige Spermatogenese nachgewiesen werden; Louw und Joubert (1964) führten bei Burenziegen mit $157 \pm 9,58$ Tagen erstmals erfolgreich eine Elektroejakulation durch. Nishimura et al. (2000) konnten bei Böcken der Rasse Tokara-Ziege mit durchschnittlich 119 Tagen Ejakulate mit guter Beweglichkeit mittels einer künstlichen Vagina gewinnen, histologisch wurde ab einem Alter von vier Monaten eine große Anzahl von Spermatozoen in den Tubuli seminiferi contorti nachgewiesen; Barreto de Souza et al. (2011) wiesen bei Anglo-Nubischen Ziegen mit $145 \pm 9,7$ Tagen bewegliche Spermien im Ejakulat nach. In der eigenen Studie erfolgte eine erste erfolgreiche Absamung der Tiere mittels künstlicher Vagina in einem Alter zwischen sieben und acht Monaten.

Die ausgereiften Hoden eines Ziegenbockes wiegen zwischen 145 und 150 Gramm (siehe Übersicht bei Sinowatz 2001). Die Paarungssaison erstreckt sich von August bis Januar (siehe Übersichten bei Bostedt 2001 sowie Smidt und Ellendorff 1969b). Die üblichen chirurgischen Kastrationsmethoden entsprechen denen beim Schafbock und wurden oben bereits beschrieben (Abschnitt 2.2).

2.2.2.1 Immunisierung gegen GnRH

Die Immunisierung gegen GnRH wurde beim Ziegenbock bereits erfolgreich eingesetzt. Godfrey et al. (1996) immunisierten geschlechtsreife Ziegenböcke zweimal in unterschiedlichen Zeitabständen mit Vaxstrate® (Peptide Technology, Australien) (Wochen 0 und 2 beziehungsweise Wochen 0 und 4). Alle Tiere zeigten zwei Wochen nach der zweiten Injektion signifikant erhöhte GnRH-Antikörperspiegel, vier Wochen nach der zweiten Injektion war auch die Konzentration von LH, FSH und Testosteron im Plasma im Vergleich zu den Kontrolltieren erniedrigt; der saisonal bedingte Anstieg dieser Hormone blieb aus. Bei der Schlachtung über ein Jahr nach der Immunisierung konnte im Plasma der

Tiere, bei denen zwischen den beiden Injektionen zwei Wochen gelegen hatten, kein Testosteron nachgewiesen werden; bei Tieren, die in vierwöchigem Abstand behandelt wurden, war die Testosteronkonzentration signifikant erniedrigt. Der Skrotalumfang nahm bei allen Tieren ab und stieg erst an Tag 394 wieder an; zu diesem Zeitpunkt wurde die Untersuchung beendet. Bei der Schlachtung war das Gewicht von Hoden und Nebenhoden bei den Versuchstieren signifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. An drei Gelegenheiten (Tag 112, 175 und 329 nach zweiter Injektion) konnte von allen Tieren ein Ejakulat gewonnen werden; dieses wies zwar eine niedrigere Spermiedichte auf, jedoch wurden in jedem Ejakulat lebende Spermien vorgefunden.

Bei den behandelten Tieren wurden weniger Rangkämpfe und Konfrontationen mit anderen Tieren dokumentiert als bei intakten Kontrolltieren; noch geringer war diese Rate bei kastrierten Böcken. Zudem konnte bei den Versuchstieren ungefähr sechs Wochen nach der zweiten Injektion subjektiv kein geschlechtstypischer Geruch mehr nachgewiesen werden, bei kastrierten Tieren trat dieser Effekt zum Vergleich schon nach vier Wochen auf.

Somit entsprechen die Ergebnisse der Studie in vielen Punkten den Beobachtungen, die an Schafböcken gemacht werden konnten. Eine zweimalige Injektion hemmte die Hodenfunktion von allen Ziegenböcken, bei 90 % der Tiere hielt der Effekt über ein Jahr an. Dieses war unabhängig davon, ob die zweite Injektion nach zwei oder nach vier Wochen verabreicht wurde. Auch auf das Verhalten und den geschlechtstypischen Geruch hatte die Behandlung Auswirkungen; interessant ist jedoch, dass in allen Ejakulaten lebende Spermien vorgefunden werden konnten. Folglich scheint die Behandlung die Fruchtbarkeit der Tiere zwar einzuschränken, aber nicht dauerhaft aufzuheben. Zudem stellt die schlechte zeitliche Steuerung der Methode hinsichtlich der Reversibilität ein Problem dar.

Aufbauend auf die Ergebnisse von Godfrey et al. (1996) führten Ülker et al. (2009a) eine Studie an zehn Ziegenböcken der Rasse Angoraziege durch. Ebenso wie an Schafböcke, verabreichten die Autoren das bereits in Abschnitt 2.2.1.1 erläuterte rekombinante GnRH-Fusionsprotein Ovalbumin-LHRH-7 (OL) an 18 Wochen alte Tiere, eine Boosterinjektion wurde im Alter von 22 Wochen

vorgenommen. Bei der ersten Injektion wurde hierbei das OL in ein modifiziertes, komplettes Freund-Adjuvans emulgiert; bei der Boosterinjektion in ein modifiziertes, inkomplettes Freund-Adjuvans. Als Kontrollgruppe dienten jeweils zehn unbehandelte sowie zehn chirurgisch kastrierte Tiere derselben Rasse. Alle zwei Wochen wurden Blutuntersuchungen, Messungen des Skrotalumfanges sowie Ultraschalluntersuchungen der Hoden durchgeführt; mit 44 Wochen wurden die Ziegenböcke geschlachtet.

Im Alter von 22 Wochen und damit vier Wochen nach der ersten Injektion konnten erstmals bei den Versuchstieren Antikörper gegen GnRH nachgewiesen werden; diese Werte blieben auf einem Plateau bis zur 42. Lebenswoche, um dann bis zum Versuchsende weiter anzusteigen. Die Boosterinjektion bewirkte keinen weiteren Anstieg der Antikörperwerte. Die Testosteronkonzentration im Blut der behandelten Tiere war ab der vierten Woche nach Injektion auf nicht mehr messbare Werte erniedrigt und blieb bis zum Studienende unter der Nachweisgrenze. Der Skrotalumfang der Versuchstiere veränderte sich bis zum Studienende nicht, während die nicht kastrierten Kontrolltiere ein Hodenwachstum zeigten. Im Alter von 18 und 30 Wochen wurden Hodenbiopsien entnommen und histologisch untersucht. Mit 18 Wochen und damit vor Versuchsbeginn konnten keine Unterschiede zwischen den Biopaten der drei Gruppen festgestellt werden; mit 30 Wochen zeigten die Versuchstiere einen verringerten Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti, während dieser bei den unkastrierten Kontrolltieren angestiegen war. Bei der Schlachtung mit 44 Wochen konnten weder im Hoden noch im Nebenhoden der Versuchstiere Spermatozoen nachgewiesen werden. Die Ultraschalluntersuchung der Hoden ergab bei den Versuchstieren bis zum Studienende eine unverändert hypoechogene Struktur, während die Kontrolltiere die für die pubertäre Entwicklung typischen Wandel zu einer stärker echogenen Hodenstruktur vollzogen. Bei Schlachtung war das Gewicht der akzessorischen Geschlechtsdrüsen der Versuchstiere und der chirurgisch kastrierten Tiere gleich und bei diesen beiden Gruppen deutlich kleiner als bei den intakten Kontrolltieren.

Ülker et al. (2009a) konnten somit bei juvenilen Ziegenböcken erfolgreich die pubertäre Entwicklung verhindern; die Fragen nach der zeitlichen Steuerung der

Methode sowie der Reversibilität bleiben offen.

Die kommerziell für Rinder erhältliche, in Deutschland jedoch zurzeit nicht zugelassene Vakzine Bopriva® (Pfizer Animal Health, Brasilien) verabreichten Lents et al. (2018) an adulte Ziegenböcke; diese war zuvor schon bei Kälbern (Theubet et al. 2010) sowie bei Ebern (Wicks et al. 2013) eingesetzt worden. Sechs Ziegenböcke erhielten 200 µg des in der Vakzine enthaltenen GnRH-Protein-Konjugates im Alter von acht Monaten verabreicht; sechs weitere Tiere erhielten zeitgleich eine Dosis von 400 µg (dieses entspricht der vom Hersteller empfohlenen Dosis für Bullen), eine dritte Tiergruppe diente als unbehandelte Kontrollgruppe. 30 Tage später fand eine Boosterinjektion statt, zu diesem Zeitpunkt hatten sich die Parameter Hodenlänge, Hodenbreite und Skrotalumfang bei keinem Versuchstier signifikant verändert; es lagen jedoch im Vergleich zu der Kontrollgruppe im via Elektroejakulation gewonnenen Ejakulat vermehrt pathologisch veränderte Spermien vor, zudem waren die Werte für die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien niedriger. 90 Tage nach der ersten Injektion, entsprechend 60 Tage nach der Boosterinjektion, zeigten beide Versuchsgruppen signifikant geringere Hodenmaße als die Kontrolltiere. Bei zehn der insgesamt zwölf Versuchstiere lag eine Azoospermie vor, bei jeweils einem Tier pro Versuchsgruppe konnte ein Ejakulat mit geringem Volumen, niedriger Gesamtspermienzahl und schlechter Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien gewonnen werden. Im Anschluss an diese Untersuchungen wurden die Tiere geschlachtet, histologisch konnten bei beiden Gruppen geringere Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti nachgewiesen werden als bei den Kontrolltieren. Auf die Gewichtsentwicklung der Tiere zeigte die Behandlung keine Auswirkungen.

Aus den gewonnenen Ergebnissen schlussfolgerten Lents et al. (2018), dass eine zweimalige Injektion definitiv notwendig sei, um die erwünschte Downregulation der Gonadenfunktion beim Ziegenbock zu erreichen. Zudem wurde mit einer Dosis von 200 µg derselbe Effekt erreicht wie mit einer Dosis von 400 µg, sodass die geringere Dosis ausreichend zu sein scheint. Eine vollständige Azoospermie aller Versuchstiere konnte auch hier nicht erreicht werden, Untersuchungen hinsichtlich der Reversibilität der Methode wurden nicht

unternommen.

2.2.2.2 Langzeitapplikation eines GnRH-Agonisten

Die Studie von Prestel (2017) wurde bereits im Abschnitt 2.2.1.2 erörtert.

2.2.2.3 α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten

Hauptsächlich aufgrund ihrer hohen Libido sexualis wählten Kimsakulvech et al. (2015) Ziegenböcke für eine Studie mit dem α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten Tamsulosin aus. Dieser wird heute üblicherweise in der Humanmedizin für die Behandlung der benignen Prostatahyperplasie verwendet, da er im Vergleich zu anderen α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten eine weniger starke Blutdrucksenkung bewirkt (siehe Übersicht bei Starke 2009). Als Nebeneffekt wurde hierbei teilweise eine Anejakulation beobachtet, woraus die Autoren schlossen, dass α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten möglicherweise eine Ejakulation verhindern können, ohne dabei das normale sexuelle Verhalten zu beeinflussen (Kimsakulvech et al. 2015).

α_1 -Adrenozeptoren kommen an vielen vom Sympathikus innervierten Organen in großer Anzahl vor, beispielsweise im Urogenitaltrakt (Musculus sphincter vesicae, Ductus deferens, Prostata, Uterus), aber auch im Zentralnervensystem, in der Leber, in den Speichel- und Verdauungsdrüsen, in den Sphinkteren des Magen-Darm-Trakts, im kardiovaskulären System (Arterien und Venen) und im Auge (Musculus dilatator pupillae) (siehe Übersichten bei Diener 2015 sowie Starke 2009). Die Erregung dieser Rezeptoren führt zu einem Anstieg der Ca^{2+} -Konzentration in der Zelle und damit zu einer Kontraktion der Muskulatur (siehe Übersicht bei Diener 2015). Werden die α_1 -Adrenozeptoren in der glatten Muskulatur des Blasenhalses stimuliert, kommt es zu einer Harnverhaltung; umgekehrt bewirken α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten eine Relaxation der glatten Muskulatur an Blasen Hals, proximaler Harnröhre und Prostata. Sie erleichtern damit den Harnabfluss, steigern die Harnflussrate und vermindern die Restharmenge (siehe Übersicht bei Starke 2009).

Bei Ratten konnte ein negativer Effekt des Tamsulosin auf die Expulsionsphase der Ejakulation beobachtet werden (Giuliano et al. 2006). Bei Menschen wurden

im Rahmen der Behandlung mit verschiedenen α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten ein erniedrigtes Ejakulatvolumen festgestellt, am signifikantesten erniedrigt war das Volumen hierbei bei Personen, die mit dem Wirkstoff Tamsulosin behandelt worden waren (Hellstrom und Sikka 2006).

Kimsakulvech et al. (2015) verabreichten Tamsulosin einmal wöchentlich an Ziegenböcke und gewannen anschließend von jedem Tier drei Ejakulate mittels einer künstlichen Vagina. Drei Stunden nach der Behandlung zeigten 91,7 % der Tiere eine Anejakulation, nach sechs Stunden 41,7 %, nach 24 Stunden nur noch 8,3 %. Die Ejakulate, welche drei Stunden nach der Behandlung gewonnen wurden, wiesen signifikant weniger lebende und vorwärtsbewegliche Spermien auf; nach 24 Stunden unterschieden sich die Ejakulate nicht mehr signifikant von denen der Kontrolltiere. Ein zusätzlich erhobener Libidoscore zeigte keinen Unterschied zwischen behandelten und nicht behandelten Tieren.

Als Ergebnis konnte somit festgehalten werden, dass Tamsulosin einen zeitlich begrenzten Effekt auf die Ejakulation der Tiere ausübte, ohne dabei das Verhalten der Tiere merklich zu beeinflussen. Aufgrund der Applikationsintervalle ist diese Methode aber für die Anwendung in der Tiermedizin als ungeeignet einzustufen.

2.3 Altrenogest

Das Altrenogest (Synonym: 17 α -Allyltrenbolon) ist ein synthetisches Steroidhormon, das den Gestagenen zugeordnet (siehe Übersicht bei Ebert et al. 2016) und oral wirksam ist (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004). Chemisch betrachtet handelt es sich bei den Steroidhormonen um Sterane mit 18 bis 27 Kohlenstoff-Atomen (siehe Übersicht bei Paschke 2014). Neben den Sexualsteroidhormonen gehören zu der Gruppe der Steroidhormone noch die Gluko- und die Mineralokortikoide (siehe Übersichten bei Berg et al. 2012 sowie Meinecke 2015).

Die Sexualsteroidhormone werden in drei Gruppen eingeteilt, abhängig von der Anzahl der Kohlenstoffatome. Gestagene mit 21 Kohlenstoff-Atomen werden in den Nebennierenrinden beziehungsweise in den Ovarien synthetisiert,

Androgene (19 Kohlenstoff-Atome) in den Nebennierenrinden beziehungsweise den Gonaden und Östrogene (18 Kohlenstoff-Atome) wiederum in den Gonaden (siehe Übersicht bei Berg et al. 2012). Die Biosynthese erfolgt aus Cholesterol als Vorläufer in den Mitochondrien (siehe Übersichten bei Meinecke 2015 sowie Paschke 2014).

Die Sekretion erfolgt durch Diffusion, der Transport im Blut gebunden an Plasmaproteine und spezielle Transportproteine (siehe Übersicht bei Paschke 2014). Eine Speicherung der Steroidhormone erfolgt nicht, die Halbwertszeit im Blut beträgt einige Stunden, die Wirkungsdauer Stunden bis Tage. Wichtigster Metabolisierungsort für die Steroidhormone ist die Leber, ausgeschieden werden sie nach Glukuronidierung und Sulfatierung über die Galle und den Urin (siehe Übersichten bei Ebert et al. 2016 sowie Paschke 2014).

Steroidhormone haben einen lipophilen Charakter und können somit durch die Zellmembran diffundieren, dementsprechend liegen die Steroidhormonrezeptoren intrazellulär (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004; siehe Übersichten bei Korbmacher 2014 sowie Meinecke 2015).

LH und FSH regulieren die Sexualsteroidhormonsynthese und deren Sekretion (siehe Übersicht bei Sinowatz 2000). Periphere Sexualsteroidhormone haben eine Feedback-Wirkung auf die Sekretion von GnRH aus der Hypothalamus, welches wiederum die Synthese und Sekretion von LH und FSH aus dem Hypophysenvorderlappen reguliert – die Sexualsteroidhormone sind somit Bestandteil eines Regelkreises (siehe Übersicht bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015). Dabei bedingt die GnRH-Pulsfrequenz direkt die LH-Pulsfrequenz, da LH von den gonadotropen Zellen der Hypophyse in Granula gespeichert und als Reaktion auf die GnRH-Freisetzung ausgeschüttet wird. Die FSH-Synthese hingegen wird zwar durch GnRH aktiviert, die Freisetzung erfolgt dann aber entsprechend der Syntheseaktivität der Zellen weitgehend kontinuierlich (siehe Übersichten bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015 sowie Thun 1995).

Unter Gestagenen versteht man diejenigen Wirkstoffe, die ähnliche Eigenschaften wie das Gelbkörperhormon Progesteron besitzen; hierbei kann es sich um natürliche oder synthetische Stoffe handeln. Progesteron steuert beim

weiblichen Individuum den zyklischen Auf- und Abbau des Endometriums im Verlauf des Sexualzyklus (siehe Übersicht bei Gudermann 2009). Es kommt außerdem zu einem Verschluss der Zervix und spontane Uteruskontraktionen werden verhindert. Die Hypothalamus-Hypophysen-Achse wird gehemmt und über eine Reduktion von Frequenz und Amplitude der GnRH-Sekretion die Ausschüttung von LH und FSH reduziert (siehe Übersicht bei Meinecke 2015). Milchdrüsenentwicklung und Milchbildung werden unterstützt. Zudem besitzt Progesteron eine antiandrogene Wirkung, da es die Umwandlung von Testosteron in das stärker wirksame Dihydrotestosteron verhindert (siehe Übersicht bei Ebert et al. 2016). Es wirkt außerdem thermogenetisch, antimineralocorticoid und in hohen Konzentrationen katabol (siehe Übersicht bei Gudermann 2009).

Die verschiedenen Derivate des Progesterons besitzen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Teilwirkung des Progesterons (siehe Übersicht bei Ebert et al. 2016). Die Wirkung des Altrenogest ist progestomimetisch, also das Progesteron nachahmend (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004).

Zur Zeit ist Altrenogest in Deutschland im Bereich der Tiermedizin in Form von Suifertil 4 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schweine (Livisto c/o aniMedica GmbH, Deutschland), Regumate® 4 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schweine (Jungsauen) (Intervet Deutschland GmbH), Altresyn 4 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schweine (CEVA Tiergesundheit GmbH, Deutschland) und Virbagest 4 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schweine (Jungsauen) (Virbac Tierarzneimittel GmbH, Frankreich) jeweils zur Brunstsynchronisation bei Jungsauen sowie in Form von Regumate® Equine 2,2 mg/ml Lösung zum Eingeben für Pferde (Intervet Deutschland GmbH) zur Östrusunterdrückung, zur Kontrolle des Östrusbeginns und zur Ovulationssynchronisation während der Übergangsphase vom saisonalen Anöstrus bis zur Zuchtsaison bei der Stute zugelassen.

2.3.1 Molekularstruktur

Altrenogest oder 17 α -Allyltrenbolon ist ein synthetisches Gestagen mit 21

Kohlenstoff-Atomen und ein Derivat des 19-Nortesterons (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004). Der chemische Name lautet 17- α -allyl-17- β -hydroxesta-4,9,11-trien-3-on (Royal Society of Chemistry 2015). Die Summenformel ist $C_{21}H_{26}O_2$, die Strukturformel ist in Abbildung 1 dargestellt.

Das Molekulargewicht beträgt 310,46 g/mol und der Schmelzpunkt liegt bei 120°C (Royal Society of Chemistry 2015).

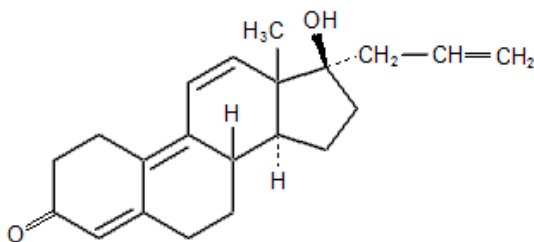


Abbildung 1: Strukturformel von Altrenogest (17 α -Allyltrenbolon) (siehe Übersicht bei Ebert et al. 2016).

2.3.2 Pharmakokinetik

Um die Resorptionszeit von Altrenogest zu erfassen, wurde radioaktiv markiertes Altrenogest an Schweine und Pferde verabreicht. Nach Applikation der jeweils empfohlenen Dosis (20 mg pro Schwein und 0,044 mg/kg beim Pferd) wurden nach drei bis sechs Stunden Maximalkonzentrationen von Altrenogest im Blut nachgewiesen (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004). In anderen Studien wurden nach 15 Minuten bis 3 Stunden beim Pferd (Machnik et al. 2007) beziehungsweise nach $1,96 \pm 1,45$ Stunden beim Schwein (Xiao et al. 2019) Maximalkonzentrationen gemessen. Eine signifikante Akkumulation im Plasma konnte weder beim Schwein noch beim Pferd beobachtet werden (Machnik et al. 2007; Xiao et al. 2019). Die Eliminationshalbwertszeit beim Schwein lag nach eintägiger oraler Applikation von 20 mg pro Tier bei 7,24 Stunden, nach mehrtägiger Applikation bei 9,76 Stunden (Xiao et al. 2019). Beim Pferd wurden Eliminationshalbwertszeiten von

2,6 Stunden nach einmaliger und 3,7 Stunden nach mehrtägiger oraler Applikation von 0,044 mg/kg gemessen (Machnik et al. 2007); nach der oralen Gabe von 0,088 mg/kg Altrenogest über fünf Tage lag die Eliminationshalbwertszeit bei 7,01 Stunden (Ellis et al. 2019). Wie bereits oben erwähnt, sind die Hauptmetabolisierungswege die Konjugation und die Oxidation, die Ausscheidung erfolgt über Fäzes und Urin (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004).

Die höchsten Rückstandskonzentrationen wurden in der Leber nachgewiesen; in Nieren, Muskeln und Fett wurden ebenfalls Rückstände aufgefunden (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004). Altrenogest hat einen Antigonadotropin-Effekt (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004) und unterdrückt mittels eines negativen Feedbacks die Sekretion von GnRH aus dem Hypothalamus und in der Folge die Sekretion von LH und FSH aus dem Hypophysenvorderlappen (Batra und Miller 1985; Clarke und Cummins 1984; Hauger et al. 1977; Hooley et al. 1974; Yamaji et al. 1972).

2.3.3 Auswirkungen auf die Hodenfunktion

Die Wirkung von Altrenogest ist progestomimetisch, also die des Progesterons nachahmend (European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use 2004). Bei männlichen Lämmern konnte nach dem Einsetzen von Progesteron-Implantaten ein Rückgang der LH-Sekretion und als Folge eine erniedrigte Testosteronkonzentration im Plasma nachgewiesen werden; eine Woche nach Entfernung der Implantate stiegen beide Werte wieder an. Es kam zwar während der Pubertät zu einem Hodenwachstum, dieses war aber deutlich verringert und setzte erst nach der Entfernung der Implantate merklich ein (Echtenkamp und Lunstra 1984). Auch eine einmalige Progesteron-Injektion führte bei Schafböcken zu einer deutlichen Erniedrigung der LH-Konzentration im Plasma sowie zu einer Verminderung der physiologischen Schwankungen der LH-Konzentration im Plasma; beide Effekte hielten bei verschiedenen Tieren 27 bis 53 Stunden nach der Injektion an (Bolt 1971).

Nach der oralen Applikation hemmt Altrenogest die Hypothalamus-Hypophysen-

Achse und wirkt sich dadurch auf die Spermatogenese sowie die Testosteronproduktion im Hoden aus (siehe Übersicht bei Ebert et al. 2016). Es kommt zu einem Absinken sowohl des LH- als auch des FSH-Spiegels im Blut. Ein niedriger LH-Spiegel führt zu einer Reduktion der Androgensynthese und – freisetzung aus den Leydigzellen im Hoden (siehe Übersichten bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015 sowie Sinowatz 2000; Squires et al. 1997). Der pulsatilen Freisetzung von LH folgt beim Lamm nach ungefähr 30 Minuten (Echtenkamp und Lunstra 1984), beim adulten Schaf nach ungefähr 20 Minuten (Sandford et al 1974) ein Anstieg der Testosteronkonzentration im Plasma. Maximalkonzentrationen werden nach 30 bis 60 Minuten erreicht (Sandford et al 1974). Die Testosteronkonzentration im Hoden ist 20 bis 100 mal höher als im peripheren Blut, dementsprechend machen sich Veränderungen der Testosteronsynthese am Hoden deutlich bemerkbar (Amann und Schanbacher 1983).

Bei präpubertären Tieren fehlt bei einer verminderten Androgenkonzentration der Stimulus für die vollständige Ausbildung der Geschlechtsorgane; bei adulten Tieren ist die Funktion der Geschlechtsorgane nur unter ausreichendem Androgeneinfluss gewährleistet (siehe Übersicht bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015). Ein ausreichender FSH-Spiegel ist zudem essentiell für die Stimulation und den physiologischen Ablauf der Spermatogenese. FSH hat direkte Effekte auf die Entwicklung der Keimzellen, zudem wird es zur Aufrechterhaltung der Funktion der Leydigzellen im Hoden benötigt (siehe Übersicht bei Aurich und Töpfer-Petersen 2015).

Zu erwarten ist demnach bei einer dauerhaften Applikation von Altrenogest je nach Alter der Tiere entweder eine Hemmung des testikulären Wachstums oder ein Rückgang der Hodenmaße; außerdem ein Rückgang der Spermienproduktion sowie ein Anstieg der Anzahl von pathomorphologisch veränderten Spermien.

2.3.3.1 Eber

Die Tierart Schwein ist aufgrund ihrer intensiven Nutzung als lebensmittellieferndes Tier vom besonderen Interesse. Männliche Ferkel werden

in der Regel innerhalb der ersten sieben Tage nach der Geburt kastriert, da der geschlechtstypische Geruch und Geschmack der Schlachtkörper unkastrierter Tiere vom Konsumenten zumeist nicht toleriert wird. Durch die Kastration wird zudem aggressives Verhalten der Tiere untereinander sowie eine unerwünschte Bedeckung der weiblichen Tiere innerhalb der Mastgruppe verhindert. Auf der anderen Seite zeigen die Schlachtkörper intakter Eber im Vergleich zu denen von Kastraten eine höhere Qualität hinsichtlich Muskelfleischanteil und Magerkeit des Fleisches, eine Ebermast wäre somit nicht nur aus Tierschutzgründen erstrebenswert (Kluber et al. 1985).

Im Alter von ungefähr 126 Tagen kommt es beim Eber zu einem signifikanten Anstieg der Testosteronkonzentration im Plasma, welcher körperliche Veränderungen sowie Veränderungen im Verhalten zur Folge hat (Colenbrander et al. 1978). Ausgehend von einer durchschnittlichen Mastdauer von 150 bis 180 Tagen, würde eine Verzögerung der sexuellen Entwicklung um ein bis zwei Monate ausreichen, um die unerwünschten Effekte der Pubertät zu vermeiden und eine chirurgische Kastration unnötig zu machen (Kluber et al. 1985).

Auf der Basis dieser Überlegungen wurde von Kluber et al. (1985) Altrenogest über drei, fünf beziehungsweise neun Wochen oral an Eber appliziert, beginnend in einem Lebensalter von 15 Wochen. Es wurde eine Dosis von 20 mg pro Tier und Tag gewählt, da diese Dosis zuvor bei geschlechtsreifen Sauen erfolgreich zur Unterdrückung des Östrus angewandt worden war (Kraeling et al. 1981). Nach einer Woche der Behandlung war bei allen Tieren die Testosteronkonzentration im Plasma signifikant niedriger als der Ausgangswert. Der pubertätsbedingte Anstieg der Testosteronkonzentration verzögerte sich proportional zur Dauer der Gestagen-Applikation (um vier Wochen verzögert nach dreiwöchiger Anwendung, um sechs Wochen verzögert bei sechswöchiger Anwendung, nach neun Wochen Behandlung kein Anstieg bis zur Schlachtung im Alter von 24 Wochen). Eine dreiwöchige Applikation reichte dabei nicht aus, um die Testosteronkonzentration auf unter 1 ng/ml zu senken. Hodengröße und –gewicht verringerten sich zunehmend mit der Dauer der Behandlung. Es zeigten sich kaum Auswirkungen der Behandlung auf Futteraufnahme und –verwertung, tendenziell nahmen die über längere Zeit behandelten Tiere etwas mehr Futter

auf, verwerteten dieses aber etwas schlechter. Fünf Tage nach dem Absetzen der Behandlung konnte bei den Tieren wieder sexuell orientiertes Verhalten beobachtet werden. Die Schlachtkörper der behandelten Tiere zeigten keinen höheren Fettanteil als die unbehandelten Kontrolltiere, die Rückenfettdicke war vergleichbar.

In einer Folgestudie verabreichten Kluber et al. (1988) sechs Wochen lang 20 mg Altrenogest täglich an 15 Wochen alte Eber. Anschließend folgten zunächst ein behandlungsfreier Beobachtungszeitraum von 30 Tagen und dann die Schlachtung der Tiere. Als Resultat der Altrenogest-Applikation konnten ein signifikant erniedrigter LH- und Testosteron-Spiegel sowie ein zwar nicht signifikant, aber deutlich erniedrigter FSH-Spiegel im Blut der Tiere gemessen werden. Ungefähr zwei Wochen nach Ende der Altrenogest-Behandlung waren die Testosteronspiegel der behandelten Tiere wieder mit denen der unbehandelten Kontrolltiere vergleichbar. Im Gegensatz zur vorherigen Untersuchung (Kluber et al. 1985) war die tägliche Gewichtszunahme während der Behandlung bei den Versuchstieren signifikant größer als bei gleichaltrigen, kastrierten Tieren und tendenziell größer als bei unbehandelten Kontrolltieren; direkt nach Ende der Behandlung ging die Gewichtszunahme bei den behandelten Tieren jedoch deutlich zurück und war bis zum Versuchsende geringer als bei den anderen beiden Tiergruppen. Kluber et al. (1988) vermuteten hier einen Zusammenhang mit den ab dem fünften Tag nach Ende der Altrenogest-Applikation zunehmend beobachteten sexuell orientierten Verhaltensweisen. Dementsprechend war das Schlachtgewicht der Versuchstiere signifikant geringer als das der Kontrolltiere sowie der kastrierten Eber; die Schlachtkörper der behandelten Tiere sowie diejenigen der Kontrolltiere hatten einen höheren Muskel- und geringeren Fettanteil als die Schlachtkörper der kastrierten Tiere. Das Gewicht von Hoden und Nebenhoden sowie der Geschlechtsdrüsen war bei den behandelten Tieren bei der Schlachtung signifikant geringer als bei den unbehandelten Kontrolltieren. Eine subjektive Beurteilung des Ebergeruches am Fleisch ergab eine vergleichbare Intensität bei Versuchs- und Kontrolltieren, bei den kastrierten Tieren lag eine niedrigere Intensität vorlag.

2.3.3.2 Hengst

Im Bereich des Pferdesports steht Altrenogest aufgrund seiner Dopingrelevanz im Fokus der Forschung. Altrenogest wird eine leicht anabole Wirkung nachgesagt; außerdem reduziert es, angewandt bei Hengsten, das häufig bei Sportpferden unerwünschte geschlechtstypische Verhalten (Machnik et al. 2007). Bei der Fédération Equestre Internationale (FEI) wird Altrenogest bei Hengsten und Wallachen als kontrollierte Substanz geführt und ist im Wettkampf verboten (FEI Cleansport: Prohibited Substances Database - Homepage 2018). Bei Stuten ist die Anwendung erlaubt (siehe Übersicht bei Aurich 2008; FEI Cleansport: Prohibited Substances Database - Homepage 2018). In Deutschland gilt es als verbotene Substanz bei Hengsten und Wallachen gemäß der Anti-Doping- und Medikamentenkontroll-Regeln (ADMR) der Deutschen Reiterlichen Vereinigung (FN), bei Stuten ist die Anwendung ADMR-konform (FN Fairer Sport - Liste der Substanzen 2018). Laut einer Umfrage von Goolsby et al. (2004) in amerikanischen Betrieben, in denen Hengste der Rasse Quarter Horse gehalten wurden, setzen 29 % der Befragten Altrenogest bei Hengsten mit dem Ziel der Verhaltensmodulation ein.

Die empfohlene Dosierung des für Stuten zugelassenen Regumate® Equine 2,2 mg/ml Lösung zum Eingeben für Pferde (MSD Tiergesundheit, Deutschland) beträgt 0,044 mg/kg. Bei Verabreichung derselben Dosis an Hengste konnten weder signifikante Auswirkungen der Behandlung auf das sexuell orientierte Verhalten noch auf Spermaparameter festgestellt werden (Heninger 1999; Miller et al. 1997); die Konzentration von Testosteron im Serum wurden in einer Studie ebenfalls nicht durch die Medikation beeinflusst (Heninger 1999), in einer anderen Studie waren die Testosteronwerte der Versuchstiere trotz ausbleibender Verhaltensänderung und gleichbleibender Fruchtbarkeit signifikant niedriger als diejenigen der Kontrolltiere (Miller et al. 1997). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Zehnder et al. (2006), die nach Verabreichung von 0,044 mg/kg Altrenogest an einen Zebrahengst kaum Auswirkungen auf dessen Verhalten feststellen konnten; nach einer Verabreichung von 0,088 mg/kg hingegen kam es zu einer deutlichen Verminderung der Libido sexualis.

In weiteren Studien nahmen sowohl die LH- als auch die

Testosteronkonzentrationen im Blut von über längere Zeit mit 0,088 mg/kg behandelten Hengsten deutlich ab und stiegen erst nach Ende der Behandlung wieder an (Squires et al. 1997). Zudem konnte eine progressive Abnahme der Hodengröße beobachtet werden; diese Abnahme stoppte sieben Tage nach der letzten Altrenogest-Applikation (Squires et al. 1997). Bei jungen Hengsten war nach einer acht Wochen andauernden Behandlung der Skrotalumfang acht Wochen nach Behandlungsende noch immer geringer als der von unbehandelten Tieren (Johnson et al. 1998); bei erwachsenen Tieren erreichten die Hoden bei einer 150 Tage andauernden Behandlung 50 Tage nach Behandlungsende wieder ihre Ausgangsgröße, nach 240 Behandlungstagen erst 240 Tage nach Behandlungsende (Squires et al. 1997).

Die tägliche Ejakulatmenge sowie die Spermien Gesamtzahl im Ejakulat behandelter Tiere nahmen ab und blieben während der gesamten Behandlung niedrig (Johnson et al. 1998; Squires et al. 1997). Die Gesamtbeweglichkeit der Spermien verringerte sich bei einer Behandlung über 240 Tage, bei einer Behandlung über 150 Tage blieb sie unverändert (Squires et al. 1997). Zudem nahm die Anzahl pathomorphologisch unveränderter Spermien deutlich ab, dafür kam es zu einem signifikanten Anstieg der Kopf-Anomalitäten, bei längerer Behandlungszeit kamen auch Schwanz- und Mittelteilanomalitäten häufiger vor (Squires et al. 1997). Johnson et al. (1998) beobachteten hingegen bereits nach achtwöchiger Behandlung neben Kopf- auch Schwanzveränderungen an den Spermien. All diese Veränderungen bildeten sich bis zum Ende der Versuchsreihen acht Wochen beziehungsweise 90 Tagen nach der letzten Behandlung nicht wieder zurück (Johnson et al. 1998; Squires et al. 1997).

Auch auf die Libido sexualis der Tiere hatte die Behandlung Auswirkungen; diese nahm deutlich ab, Fehlsprünge wurden häufiger, die Zeitspanne zwischen erster Erektion und erfolgreicher Absamung wurde länger. Diese Verhaltensveränderungen blieben bis zum Ende der Studie vorhanden, sodass die Autoren als Grund hierfür ein möglicherweise erlerntes Verhalten in Betracht zogen (Johnson et al. 1998; Squires et al. 1997).

Die Folgen von sich wiederholenden, jeweils kurzzeitigen Verabreichungen von 0,088 mg/kg Altrenogest an junge Hengste, wie sie laut der Autoren häufig in der

Praxis mit dem Ziel der Verhaltensmodulation eingesetzt werden, evaluierten Vartorella et al. (2001). Den Hengsten wurde jeweils zehn Tage lang Altrenogest verabreicht, darauf folgten zehn Tage Behandlungspause; dieser Zyklus wurde dreimal wiederholt. Es zeigten sich keine signifikanten Auswirkungen auf Körpergewicht, Hodenumfang, Testosteronkonzentration im Plasma und Verhalten der Tiere. Bei einer 46 Tage nach der letzten Altrenogest-Applikation durchgeführten Hodenbiopsie konnten bei den Versuchstieren jedoch weniger Spermatozoen gezählt werden als bei Kontrolltieren.

2.4 Grauwertanalyse

Die im Rahmen dieser Untersuchung angewandte computergestützte Grauwertanalyse ist ein Ansatz, mit welchem eine objektivierbare und reproduzierbare Beschreibung von sonographischen Bildern ermöglicht werden soll (Bleck et al. 2000). Ein weiteres Ziel ist es, den Informationsgewinn aus Ultraschallbildern zu maximieren (Graue 2002). Als Grundlage für die Berechnung einer Grauwertanalyse dienen im B-Mode (brightness modulation Mode) aufgenommene sonographische Bilder. Im B-Mode wird die Echointensität eines Gewebes in Helligkeit auf dem Ultraschallbild umgewandelt; die höchste Intensität des Echosignales wird als weiß, die niedrigste als schwarz abgebildet. Gewebetexturveränderungen werden somit durch unterschiedliche Graustufen auf dem Bildschirm sichtbar gemacht und vom Untersuchenden bewertet (Höhne 2002). Dieser achtet dabei auf Kriterien wie die Dichte, die Homogenität und den Kontrast der untersuchten Textur und zieht daraus diagnostische Schlüsse (Graue 2002).

Die häufig nur sehr geringen Unterschiede der Echogenität von verändertem im Vergleich zu gesundem Gewebe sind für das menschliche Auge nicht immer exakt feststellbar (Maeda et al. 1998). Der Untersuchende stellt damit die wesentliche Grenze bei der Bildbeurteilung dar, während die technische Qualität der Bilder stetig zunimmt (Hermes 1998). Hinzu kommt, dass verschiedene Personen Bilder unterschiedlich interpretieren und Untersuchungsergebnisse dadurch intraindividuell schlecht vergleichbar sind (Bleck et al. 2000; Gebel 2000; Kastelic und Brito 2012).

Ein Ultraschallgerät kann zwischen bis zu 256 verschiedenen Graustufen unterscheiden; dabei wird dem dunkelsten Schwarz der Wert 0 und dem hellsten Weiß der Wert 255 zugeteilt (Hermes 1998; Höhne 2002). Das menschliche Auge hingegen ist beim skotischen Sehen, also der visuellen Wahrnehmung in dunkleren Räumen, nur zur Unterscheidung von 15 bis 60 Graustufen fähig; zudem benötigt es für eine Volladaptation vom photopischen (farbiges Tageslichtsehen) zum skopischen Sehen 30 bis 45 Minuten (Bleck et al. 2000). Die natürliche Trägheit des menschlichen Auges begrenzt darüber hinaus die gleichzeitige Wahrnehmung mehrerer Bildelemente in einer Zeiteinheit (Graue 2002; Hermes 1998).

Mithilfe der computergestützten Grauwertanalyse werden alle Pixel einer zuvor vom Untersucher festgelegten Region of Interest (ROI) erfasst und hinsichtlich ihres Grauwertes beurteilt; damit kann die Gewebestruktur quantitativ charakterisiert werden (Hermes 1998). Ein Pixel stellt dabei das kleinste Bildelement eines digitalisierten Ultraschallbildes dar (Schweizer 2006). Die ROI kann eine festgelegte Größe und Form haben oder frei gewählt werden (Höhne 2002). Es wird die Textur des Gewebes bestimmt, welche sich aus der Helligkeit, dem Kontrast und der Homogenität der Bildpunkte ergibt (Graue 2002). Die Analyse der Gewebetextur kann entweder ein- oder mehrdimensional erfolgen (Hermes 1998). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde eine eindimensionale Untersuchung vorgenommen; nur auf diese wird hier näher eingegangen. Bei der eindimensionalen Analyse wird nur die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Grauwerte berechnet, nicht aber deren räumliche Anordnung. Somit können zwei Bilder, die in ihrer Textur völlig verschieden sind, trotzdem dieselbe Grauwertverteilung aufweisen (Graue 2002; Hermes 1998). Die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen Grauwerte in der ROI wird als Histogramm abgebildet; aus diesem Histogramm können dann verschiedene beschreibende Parameter abgeleitet werden (Bleck et al. 2000). Dabei gibt beispielsweise der mittlere Grauwert die mittlere Helligkeit innerhalb der ROI an, die Standardabweichung repräsentiert die Streuung der Grauwerte und damit den Kontrast (Bleck et al. 2000, Schweizer 2006).

3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Die Untersuchungen wurden vom Regierungspräsidium Gießen genehmigt (V 54-19c 20 15 H 01 GI 18/14 Nr. 119/2012).

3.1 Tiere

Für diese Untersuchung standen acht Böcke der Rasse Pfauenziege zur Verfügung. Sieben der Tiere stammten aus derselben Zucht, der achte Bock wurde von einem anderen Halter erworben und mit den weiteren Tieren vergesellschaftet.

Bei einem Ziegenbock (Tier Nummer 1) lag ein einseitiger abdominaler Kryptorchismus des rechten Hodens vor. Da sich das Tier gut absamen ließ und das Ejakulat eine zufriedenstellende Qualität aufwies, verblieb es in der Studie. Die Tiere wurden Frühjahr 2014 geboren und im Alter von drei Monaten im Juli 2014 in die Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität in Gießen eingestallt; zu diesem Zeitpunkt begann die Datensammlung für die vorliegende Untersuchung. Insgesamt wurden die Ziegenböcke neun Monate von Juli 2014 bis April 2015 in der Klinik gehalten.

Zusätzlich standen zwei weibliche Ziegen zur Animation der Böcke bei der Absamung zur Verfügung. Hierbei handelte es sich um eine ein Jahr alte deutsche Edelziege sowie um eine zwei Jahre alte deutsche Edelziege. Beide Tiere waren vom Besitzer wegen Infertilität in die Klinik eingestallt worden.

3.1.1 Haltung und Fütterung

Die Ziegenböcke wurden in zwei Gruppen mit jeweils vier Tieren in geschlossenen Boxen mit Stroheinstreu, die weiblichen Tiere zusammen in einer geschlossenen Box mit Stroheinstreu gehalten. Kurz vor Beginn des Versuchszeitraumes zog sich ein Ziegenbock (Tier Nr. 4) eine Fraktur des Metatarsus des rechten Hinterbeines zu. Um einen optimalen Heilungsverlauf zu erreichen, wurde hieraufhin die Haltung verändert und das verletzte Tier nur noch mit einem weiteren Tier als Begleitung gehalten, sodass es dann drei Gruppen mit jeweils vier, beziehungsweise zwei Tieren gab. Nach Stabilisierung des

Bruches mit einem Castverband und einer zweiwöchigen Pause konnte das betroffene Tier wieder abgesamt werden und verblieb somit in der Studie.

Wasser stand den Ziegenböcken in zwei Wasserbecken pro Box zur Verfügung. Gefüttert wurden die Tiere mit Heu zur freien Verfügung sowie einem Ergänzungsfuttermittel für Schafe (Deuka Schaffutter II, Deutsche Tiernahrung Cremer GmbH & Co. KG, Düsseldorf). In jeder Box stand eine Klettermöglichkeit zur Verfügung, außerdem verfügte jede Gruppe über einen Mineralleckstein.

Regelmäßig wurde bei allen Tieren Klauenpflege durchgeführt, außerdem wurden mehrfach Kotuntersuchungen mit anschließender Entwurmung durchgeführt.

3.2 Gestagenapplikation

3.2.1 Präparat

Als Präparat für die Altrenogest-Applikation wurde Virbages 4 mg/ml Lösung zum Eingeben für Schweine (Jungsauen) (Virbac Tierarzneimittel GmbH, Frankreich) gewählt. Die orale Verabreichung des Medikamentes fand jeden Nachmittag zur gleichen Zeit statt.

3.2.2 Applikationsart, Anwendungsdauer und Dosierung

Mit der Gestagenapplikation wurden begonnen, als die Ziegenböcke ein Alter von acht Monaten (Dezember 2014) erreicht hatten. Vier per Losverfahren ausgesuchte Böcke wurden mit Altrenogest behandelt (Tiere Nr. 1, 4, 6 und 7), vier weitere dienten als Kontrollgruppe und bekamen ein Placebo verabreicht (Tiere Nr. 2, 3, 5 und 8). Die Medikamentenapplikation wurde über sieben Wochen durchgeführt (Versuchszeitraum), anschließend wurden die Tiere noch weitere sieben Wochen in der Klinik gehalten, um das Wiederanlaufen der Gonadenfunktion zu beobachten (Tabelle 1).

Die vier Tiere der Versuchsgruppe bekamen einmal täglich 0,088 mg Altrenogest pro Kilogramm Körpergewicht oral verabreicht; die vier Tiere der Kontrollgruppe erhielten oral eine entsprechende Menge einer fünfprozentigen Glukoselösung. Die Dosis wurde alle 14 Tage an das aktuelle Gewicht der Tiere angepasst. Die Gabe des Altrenogests beziehungsweise des Placebos fand von Tag 1 bis

Tag 49 der Untersuchung statt. Anschließend wurde bis zum Tag 99 das Wiederanlaufen der Gonadenfunktion beobachtet; danach wurden die Tiere kastriert und die Hoden histologisch untersucht.

Tabelle 1: Zeitlicher Ablauf der Studie.

Zeitpunkt	Entspricht Studientag	Vorgänge
1	1 – 14 (Woche 1 – 2)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung an Tag 1; Gestagenapplikation ab Tag 1
2	15 – 28 (Woche 3 – 4)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung
3	29 – 42 (Woche 5 – 6)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung
4	43 – 56 (Woche 7 – 8)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung; letzte Gestagenapplikation an Tag 49
5	57 – 70 (Woche 9 – 10)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung
6	71 – 84 (Woche 11 – 12)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und

		Blutuntersuchung
7	85 – 98 (Woche 13 – 14)	Klinische Untersuchung, Ultraschalluntersuchung, Spermauntersuchung und Blutuntersuchung
8	99	Kastration der Ziegenböcke, anschließend histologische Untersuchung der Hoden

3.3 Methoden

3.3.1 Klinische Untersuchung

Bei allen Tieren wurden täglich das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme adspektorisch kontrolliert. Regelmäßig alle 14 Tage, jeweils zu Beginn eines neuen Zeitabschnittes, wurden die Tiere zudem einer allgemeinen sowie einer andrologischen Untersuchung unterzogen. Dabei wurden neben den in den Punkten 3.3.2.1 bis 3.3.2.7 aufgeführten Parametern folgende Werte erfasst:

- Körpertemperatur
- Schleimhautfarbe
- Zeichnung der Episkleralgefäße
- kapilläre Rückfüllungszeit
- Hydratationszustand
- Beschaffenheit der palpierbaren Lymphknoten
- Herzauskultation inklusive Auszählung der Herzfrequenz und Bestimmung von Intensität, Rhythmus, Abgesetztheit und Nebengeräuschen
- Lungenauscultation inklusive Auszählung der Atemfrequenz
- Pansenauscultation
- Überprüfung der Bauchdeckenspannung

3.3.2 Erfassung von körperlichen Parametern

3.3.2.1 Körpergewicht, Körperlänge und Widerristhöhe

Zur Erfassung des Körpergewichtes wurden die Ziegen anfangs auf dem Arm des

Untersuchers auf einer Personenwaage gewogen. Ab einem Körpergewicht von ungefähr 25 kg wurden die Tiere in eine Viehwaage (Baumann Waagen- und Maschinenbau GmbH, Thiersheim) geführt und dort gewogen (Abbildung 2).

Die Körperlänge wurde am stehenden Tier mit einem Bandmaß bestimmt. Gemessen wurde vom Ansatz der Hörner bis zum Schwanzansatz; hierbei wurden der Kopf sowie die Hals- und Rückenlinie möglichst gerade gehalten.

Die Widerristhöhe wurde am auf festen Boden stehenden Tier mit einem Stockmaß bestimmt.



Abbildung 2: Erfassung des Körpergewichtes eines Ziegenbockes auf der Viehwaage.

3.3.2.2 Hodenlänge, Hodenbreite, Hodentiefe und Hodenvolumen

Die Hodenlänge wurde mit einer digitalen Schublehre (Abbildung 3) gemessen, hierbei wurde der Hoden inklusive des Nebenhodens vom Nebenhodenkopf bis zum Nebenhodenschwanz erfasst. Die Hodenbreite sowie die Hodentiefe wurden an der breitesten beziehungsweise tiefsten Stelle des Hodens ebenfalls mit einer Schublehre gemessen.

Mithilfe der ermittelten Werte für Hodenlänge, Hodenbreite und Hodentiefe wurde das Hodenvolumen berechnet. Hierfür wurde folgende Formel für die Berechnung des Volumens eines Ellipsoids verwendet:

Hodenvolumen (cm³) = $\frac{4}{3} \times \pi \times \frac{1}{2} \times \text{Hodenlänge} \times \frac{1}{2} \times \text{Hodenbreite} \times \frac{1}{2} \times \text{Hodentiefe}$

Dieselbe Formel wurde bereits von Bailey et al. (1998) sowie Böhm (2013) und Young et al. (1986) zur Berechnung des Hodenvolumens bei Bullen beziehungsweise Ebern eingesetzt.



Abbildung 3: Digitale Schublehre zur Bestimmung von Hodenlänge, Hodenbreite und Hodentiefe.

3.3.2.3 Hodenkonsistenz

Die Hodenkonsistenz wurde palpatorisch beurteilt; es wurde zwischen prall-elastisch (1), weich-elastisch (2) und weich (3) unterschieden.

3.3.2.4 Hodensonographie

Die Hodensonographie wurde ab dem achten Lebensmonat alle 14 Tage durchgeführt, beginnend am Tag 1 der Altrenogest-Applikation. Hierfür wurde das Ultraschallgerät „HS-1500V“ (Honda Electronics Co., Ltd., Toyohashi/Japan) mit einer Linearsonde (Typ HLV-375 M, 50 mm, 7,5 MHz, Honda Electronics Co., Ltd., Toyohashi/Japan) verwendet. Bei der Untersuchung wurden Längs- und Querschnitte beider Hoden abgebildet und die Homogenität des Hodengewebes kontrolliert.

3.3.2.4.1 Grauwertanalyse

Zeitgleich mit der Hodensonographie wurde auch mit einer Grauwertanalyse der Hoden begonnen, um eine objektivere Beurteilung der Ultraschallbilder, insbesondere hinsichtlich der Echogenität des Gewebes, zu ermöglichen. Es wurden ebenfalls das Ultraschallgerät „HS-1500V“ und die Linearsonde „HLV-375 M“ von Honda Electronics verwendet. Um eine Vergleichbarkeit der Aufnahmen zu gewährleisten, wurden die Grundeinstellungen des Gerätes nicht verändert (Tabelle 2).

Tabelle 2: Einstellungen des Ultraschallgerätes bei der Grauwertanalyse.

Parameter	Wählbarer Bereich	Verwendete Einstellung
Betriebsmodus	B-, BB-L, BB-R, B/M	B-Mode
Gesamtverstärkung	36 – 100 dB	65 dB
Dynamikbereich	35 – 95 dB	75 dB
Dynamischer Fokus	Ein / Aus	Ein
Tiefenverstärkung	6 Schieberegler	In mittiger Position fixiert
Bildgröße	40 – 120	60
γ-Kurve	1 – 8	1
Histogrammessung	Box / Ellipse / manuell	Box

Die Grauwertmessungen wurden im Hodenparenchym durchgeführt. Hierfür wurden von jedem Hoden ein kranio-kaudaler Längs- sowie ein Querschnitt angefertigt. Auf beiden Bildern wurden jeweils im artefaktfreien Bereich des Hodenparenchyms zwei Regions Of Interest (ROI) ausgewählt. Die Fläche einer quadratischen Region Of Interest betrug 0,25 cm² (Abbildung 4).

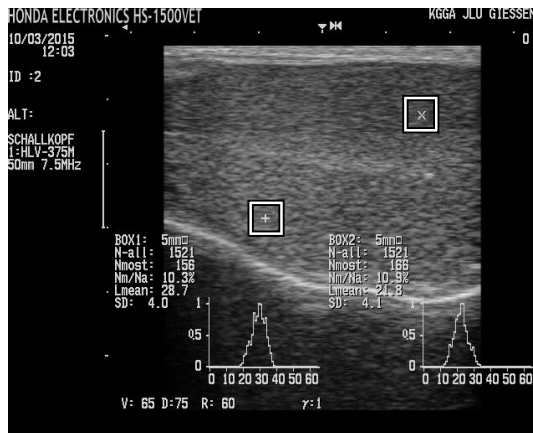


Abbildung 4: Ultraschallbild mit einem Längsschnitt durch den Hoden eines Ziegenbocks. Die beiden ROI sind durch Kästchen markiert.

In jedem Pixel der ROI wurde zwischen 256 Grauwerten differenziert, die Analyse erfolgte direkt mit der integrierten Software des Ultraschallgerätes. Das „HS-1500V“ ermittelt bei jeder Grauwertanalyse folgende Werte:

- Häufigkeitsverteilung des Grauwertspektrums, dargestellt als Histogramm
- Daten gesamt innerhalb des Bereiches (N-all)
- Menge an Daten für die häufigste Stufe (Nmost)
- Menge an Daten für die häufigste Stufe / Daten gesamt (Nm/Na)
- Durchschnittliche Stufe (Lmean)
- Standardabweichung (SD)

Die Ultraschallbilder wurden zunächst auf dem Ultraschallgerät gespeichert und anschließend auf einen Computer zur dauerhaften Archivierung im JPEG-Format übertragen.

3.3.3 Erfassung von Blutparametern

3.3.3.1 Blutentnahme

Beginnend am Tag 1 der Untersuchung, unmittelbar vor der ersten Altrenogest-

beziehungsweise Placebo-Applikation, wurde den Tieren in 14-tägigem Abstand Blut aus der Vena jugularis entnommen. Die Blutentnahmen wurden bis zum Ende der Studie fortgeführt. Die Proben wurden am stehend fixierten Tier mit Kanülen der Marke „Sterican“ (B. Braun Medical AG, Emmenbrücken/Schweiz) mit einem Durchmesser von 0,9 mm und einer Länge von 40 mm entnommen. Es wurden jeweils 10 ml Blut mit einer Heparin-Monovette (S-Monovette® 9 ml Z, Sarstedt Aktiengesellschaft + Co., Nümbrecht) entnommen und anschließend in der Zentrifuge „ROTINA 35R“ (Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen) bei 20°C und 400 Umdrehungen/Minute über einen Zeitraum von fünf Minuten zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde anschließend abpipettiert und bis zur Untersuchung bei -18°C gelagert.

3.3.3.2 Testosteronbestimmung

Am Ende des Untersuchungszeitraumes wurden alle eingelagerten Plasmaproben untersucht. Es wurde im endokrinologischen Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität in Gießen der Testosterongehalt der Proben bestimmt. Hierfür wurde, wie bereits zuvor in der Literatur beschrieben, ein Radioimmunoassay durchgeführt (Bernhardt 2012; Hoffmann und Landeck 1999; Röcken et al. 1995). Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden in ng/ml und nmol/l angegeben. Die untere Nachweisgrenze der Untersuchung lag bei < 0,1 ng/ml beziehungsweise < 0,35 nmol/l.

3.3.4 Erfassung von Spermaparametern

3.3.4.1 Absamtraining und Ejakulatgewinnung

In den ersten Wochen nach Einstellung wurden die Tiere zunächst an den Menschen sowie die zur Absamung angedachten Räumlichkeiten gewöhnt. Im Alter von fünf Monaten wurde mit dem Absamtraining an der weiblichen Ziege begonnen. Die Böcke wurden zunächst mehrmals wöchentlich, nach der ersten erfolgreichen Absamung einmal wöchentlich an die durch Hilfspersonen fixierten weiblichen Tiere herangeführt und mit Hilfe einer künstlichen Vagina (Minitüb

GmbH, Tiefenbach; Abbildung 5) abgesamt. Hierbei wurde beim Aufsprung des Bockes auf die weibliche Ziege die künstliche Vagina vor den ausschachtenden Penis gehalten; eine Berührung des Penis mit der Hand wurde vermieden, um die Reflexkette der Tiere nicht zu unterbrechen. Um eine bestmögliche Stimulation zu erreichen, wurde die Innentemperatur der künstlichen Vagina stets zwischen 40 und 42 °C gehalten; zusätzlich wurde über ein Ventil Luft in die künstliche Vagina eingebracht und der Silikonschlauch im Inneren mit Vaseline gleitfähig gemacht. Aufgefangen wurde das Ejakulat mit an der künstlichen Vagina befestigten, zuvor temperierten Samenauffanggläsern. Um das Ejakulat vor direkter Sonneneinstrahlung und kalten Temperaturen zu schützen, wurde das Samenauffangglas mit einem gepolsterten Wärmebeutel umgeben.

Das Lebensalter, in dem die erste erfolgreiche Absamung stattfand, variierte bei den Tieren zum Teil erheblich, sodass die erste Spermauntersuchung zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt werden konnte. Im Folgenden wurde wöchentlich Sperma untersucht, bis von jedem Bock mindestens zwei vollständige Untersuchungen vorlagen und mit der Gestagenapplikation bei vier zufällig bestimmten Böcken begonnen werden konnte.

3.3.4.1.1 Libidoscore

Bei jeder Absamung wurde die Böcke nach einem Libidoscore auf einer Skala von 0 bis 4 beurteilt (Tabelle 3). Hierfür wurde der von Frydrychová et al. (2011) bei Ebern angewandte Score (Tabelle 4) übersetzt und modifiziert: Um eine objektive Einstufung zu ermöglichen, wurden den einzelnen Stufen konkrete Zeitspannen zugeordnet. Ausgehend vom Versuchsaufbau wurde es zudem als wichtig erachtet, eine Stufe zu haben, welche leichtes sexuelles Interesse und einen Aufsprungversuch mit Eindringen in die künstliche Vagina ohne folgende Ejakulation beschreibt; die Stufe eins wurde dementsprechend angepasst. Die Stufen drei und vier wurden zusammengefasst, da die Ziegenböcke in der vorliegenden Studie im Gegensatz zu den Ebern in der Untersuchung von Frydrychová et al. (2011) während des Absamens in keiner Weise von außen beeinflusst wurden.

Wenn sich nach zweimaligen Eindringen kein Ejakulat in der künstlichen Vagina befand oder der Ziegenbock innerhalb von zehn Minuten nach dem ersten keinen weiteren Aufsprungversuch unternahm, wurde von einer Anejakulation ausgegangen.

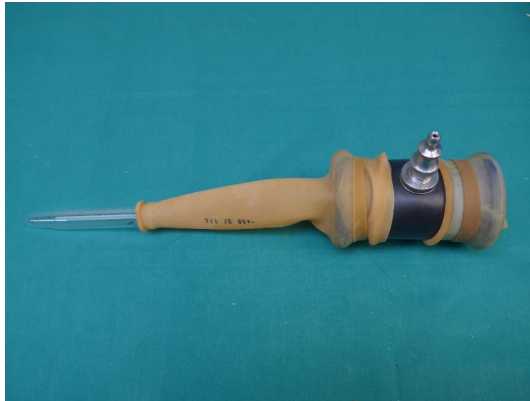


Abbildung 5: Künstliche Vagina (Minitüb GmbH, Tiefenbach) zur Ejakulatgewinnung; der Wärmebeutel am Samenauffanggefäß wurde vor Aufnahme des Fotos entfernt.

Tabelle 3: Libidoscore für Ziegenböcke, modifiziert nach Frydrychová et al. (2011).

Score	Beurteilung	Beschreibung der Libido
0	Kein Aufsprungversuch	Ziegenbock zeigt kein sexuelles Interesse an der weiblichen Ziege
1	Keine Ejakulation	Wenig sexuelles Interesse, trotz mehrerer Aufsprungversuche und Eindringen in die künstliche Vagina zwanzig Minuten nach Erstkontakt keine Ejakulation
2	Unterdurchschnittlich	Wenig sexuelles Interesse, mehrere Aufsprungversuche, verlängertes Begatten,

		bis zu zehn Minuten zwischen Erstkontakt und Ejakulation
3	Durchschnittlich	Moderates sexuelles Interesse, maximal zwei Aufsprungversuche und bis zu fünf Minuten zwischen Erstkontakt und Ejakulation
4	Überdurchschnittlich	Intensives sexuelles Interesse, Begattung unmittelbar nach Erstkontakt, Aufsprung und Ejakulation innerhalb von einer Minute

Tabelle 4: Libidoscore für Eber nach Frydrychová et al. (2011).

Point scale	Evaluation	Characterization of libido
0	No jump	No sexual interest and unable to collect
1	Inconvenient	Very little sexual interest and slow to achieve erection and ejaculation
2	Substandard	Little sexual interest, several times follow out the jump, longer time for erection and ejaculation
3	Standard	Moderate sexual interest, using incentive to jump with consecutive erection and ejaculation
4	Very good	Great sexual interest, longer search reflex with consecutive erection and ejaculation
5	Excellent	Intense sexual interest, immediate erection and ejaculation

3.3.4.2 Spermatologische Untersuchung

Direkt im Anschluss an den Absamvorgang wurde das gewonnene Ejakulat im

linikseigenen andrologischen Labor untersucht. Hierbei wurde sowohl eine makro- als auch eine mikroskopische Spermauntersuchung durchgeführt. Als Standardanforderungen an die Ejakulate wurden die in Tabelle 5 aufgeführten Werte nach Busch und Fischer (2007), Smidt und Ellendorff (1969b) und Weitze (2001) zugrunde gelegt.

Tabelle 5: Anforderungen an Ejakulatparameter des Ziegenbockes (siehe Übersichten bei Busch und Fischer 2007, Smidt und Ellendorff 1969b sowie Weitze 2001).

Parameter	Anforderung
Volumen	0,2 – 2,5 ml
Farbe	Elfenbeinfärbend, gelblich
Konsistenz	Wässrig bis milchig, rahmig
Geruch	Nahezu geruchslos; geschlechtsspezifisch
Beimengungen	Keine
pH-Wert	5,9 – 7,3
Vorwärtsbewegung %	≥ 60 %
Orts- / Kreisbewegung %	Nur Vorwärtsbewegung erwünscht
Dichte/ μ l	≥ 0,8 x 10 ⁶
Spermien mit pathomorphologischen Abweichungen %	≤ 20 %

3.3.4.2.1 Volumen

Das Volumen des Ejakulates wurde nach jeder Absamung anhand der Skala auf dem an der künstlichen Vagina fixierten Samenauffangglas ermittelt.

3.3.4.2.2 Farbe

Die Farbe des Ejakulates wurde subjektiv im Zuge der makroskopischen

Spermauntersuchung beurteilt.

3.3.4.2.3 Konsistenz

Die Konsistenz des Ejakulates wurde ebenfalls subjektiv durch leichtes Schwenken im Samenauffangglas beurteilt. Aufgrund der hohen Spermiedichte besitzt Wiederkäuersperma in der Regel eine rahmige Konsistenz.

3.3.4.2.4 Geruch

Jedes Ejakulat wurde sensorisch auf geruchliche Abweichungen untersucht.

3.3.4.2.5 Beimengungen

Während der makroskopischen Untersuchung wurde das Sperma auf eventuelle Beimengungen wie Blut oder Eiter überprüft. Auch auf das Vorhandensein von umweltbedingten Verunreinigungen wurde geachtet.

3.3.4.2.6 pH-Wert

Der pH-Wert wurde zu Beginn der Spermauntersuchung mittels Indikatorpapier (pH-indicator paper pH 6,4 – 8,0, Merck KGaA, Darmstadt) bestimmt. Hierzu wurde mit einer Pipette ein Tropfen unverdünntes Sperma auf das Papier gegeben und nach dem Farbumschlag entsprechend der Auswertungsskala beurteilt.

3.3.4.2.7 Motilität

Die Bewertung der Motilität wurde am Anfang der mikroskopischen Spermauntersuchung, unmittelbar nach der makroskopischen Spermauntersuchung, durchgeführt. Hierfür wurde zunächst die Massenbewegung bestimmt, indem ein Tropfen unverdünntes Sperma mit einer Pipette auf einen vorgewärmten Objektträger (Objektträger 76x26 mm, iDL, Nidderau) gegeben und anschließend auf dem beheizten Objektisch eines Lichtmikroskopes (H 500, Helmut Hund GmbH, Wetzlar) bei einhundertfacher Vergrößerung beurteilt wurde. Die Massenbewegung wurde subjektiv bewertet und in vier Kategorien eingeteilt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Beurteilung der Massenbewegung.

Beurteilung	Beobachtung
-	Keine Wellenbewegung
+	Langsame Wellenbewegung
++	Lebhafte Wellenbewegung
+++	Intensive Wellen- und Wirbelbildung

Anschließend wurde die Einzelbewegung der Spermien subjektiv bestimmt, indem die Vorwärtsbeweglichkeit in Prozent sowie der prozentuale Anteil von Spermien mit Orts- oder Kreisbewegungen geschätzt wurden. Hierfür wurde ein Tropfen 1:10 mit Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) verdünnten Spermas auf einen vorgewärmten Objektträger gegeben und auf dem beheizten Objektisch des Lichtmikroskopes bei vierhundertfacher Vergrößerung betrachtet.

3.3.4.2.8 Lebend-Tot-Färbung

Um den prozentualen Anteil von lebenden und toten Spermien im Ejakulat zu bestimmen, wurde direkt im Anschluss an die Bewertung der Motilität eine Lebend-Tot-Färbung durchgeführt. Das Ejakulat wurde 1:10 mit Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) verdünnt und mit Bromphenol-Nigrosin angefärbt; die Zellmembran lebender Spermien ist für diesen Farbstoff nicht durchlässig, dementsprechend färben sich lebende Spermien nicht an. Die poröse Membran toter Spermien hingegen hält den Farbstoff nicht vom Eindringen in die Zelle ab; diese Spermien färben sich blau an. Zum Anfertigen der Färbung wurden je ein Tropfen verdünnten Ejakulates und eine gleich große Menge Färbelösung nebeneinander auf einen Objektträger gegeben, anschließend wurden beide Tropfen durch vorsichtiges Schwenken des Objektträgers vermischt. Mit Hilfe eines zweiten Objektträgers wurde das Gemisch vorsichtig ausgestrichen und der Ausstrich anschließend auf einem auf 37 °C erwärmten Tisch schnell getrocknet. Im fertigen Ausstrich wurden unter einem Lichtmikroskop bei vierhundertfacher Vergrößerung 200 Spermien

ausgezählt und der Anteil lebender und toter Spermien in Prozent errechnet.

3.3.4.2.9 Morphologisch abnorme Spermien

Zur Bestimmung des prozentualen Anteils von pathomorphologisch veränderten Spermien im Gesamtejakulat wurden im für die Lebend-Tot-Färbung angefertigten Bromphenol-Nigrosin-Ausstrich jeweils 200 Spermien unter dem Lichtmikroskop bei vierhundertfacher Vergrößerung ausgezählt. Alle veränderten Spermien wurden entsprechend ihrer Formabweichungen in die folgenden Kategorien eingeteilt:

- Veränderungen am Kopf: Kopf vergrößert, verkleinert, lanzenförmig, abgelöste Kopfkappen, Kopfkappe in Ablösung, Kopf abgelöst
- Veränderungen am Schwanzansatz: Retroaxialer Ansatz, paraxialer Ansatz, abaxialer Ansatz
- Veränderungen am Schwanz: Geknickter Schwanz, gefalteter Schwanz, schleifenförmiger Schwanz, aufgerollter Schwanz, Doppelschwanz
- Vorhandensein von Zytoplasmatrophen

Nach Zuordnung in diese Kategorien wurde der prozentuale Anteil, bezogen auf die Gesamtzahl der ausgezählten Spermien, bestimmt.

3.3.4.2.10 Dichtebestimmung

Zur Bestimmung der Dichte wurde das Sperma mit Hilfe einer Erythrozytenmischpipette (Blutmischpipette nach Thoma, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen) im Verhältnis 1:200 mit Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) verdünnt und nach Verwerfen der ersten Tropfen in eine Neubauer-Zählkammer (Heinz Herenz Medizinalbedarf GmbH, Hamburg) eingefüllt. Dann wurde unter dem Lichtmikroskop bei vierhundertfacher Vergrößerung die Spermienzahl in fünf mittleren Quadraten, entsprechend 80 Kleinstquadraten, ausgezählt. Hierbei wurden nur die Spermien berücksichtigt, deren Köpfe im Quadrat oder aber auf der linken oder unteren Begrenzungslinie lagen. Anschließend wurde, basierend

auf folgender Formel, die Dichte in Spermienanzahl pro μl berechnet:

Dichte (in Anzahl/ μl) = Mittelwert der Samenzellen in einem Kleinstquadrat
(Gesamtzahl der gezählten Spermien/80) x Verdünnung x 4000

3.3.4.2.11 Spermiengesamtzahl

Die Berechnung der Spermiengesamtzahl erfolgte aus Multiplikation der ermittelten Spermienanzahl pro μl mit dem Gesamtejakulatvolumen.

3.3.5 Kastration der Ziegenböcke

Nach Abschluss der Beobachtungsphase wurden alle acht Ziegenböcke kastriert. Nacheinander wurden die Tiere von ihren Artgenossen separiert und über mindestens zwölf Stunden nüchtern gehalten, wobei ihnen jederzeit Wasser ad libitum zur Verfügung stand. Es wurde ein Venenverweilkatheter mit einer Länge von 45 mm und einem Durchmesser von 1,8 mm (Orocat-Healvan, Oromedical Hamburg) in die Vena jugularis eingebracht. Den Tieren wurde zunächst Xylazinhydrochlorid (0,05 – 0,1 mg/kg Xylazin 2 % Bernburg, Serumwerk Bernburg AG) intramuskulär verabreicht, nach Eintritt der Wirkung wurden sie dann mit Ketaminhydrochlorid (5 mg/kg Ursotamin 100 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG) intravenös in Narkose gelegt. Während der Operation wurde die Narkose mit Ketaminhydrochlorid nach Bedarf aufrechterhalten. Die Tiere erhielten eine Natriumchlorid-Lösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) als Dauertropfinfusion, ergänzt durch Metamizol-Natrium (20 – 50 mg/kg, Metamizol WDT, Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, Garbsen). Außerdem wurden ihnen Meloxicam (0,5 mg/kg Metacam® 20 mg/ml subkutan, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim am Rhein), Tetanusserum (3 ml Tetanus-Serum WDT/Tier subkutan, Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, Garbsen) und dreimal im Abstand von je 48 Stunden Amoxicillin-Trihydrat (15 mg/kg Betamox Injection intramuskulär, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) verabreicht.

Nachdem sich die Tiere stabil in Narkose befanden, wurden sie auf den Operationstisch verbracht und in linker Seitenlage fixiert, wobei das rechte

Hinterbein nach oben ausgebundener wurde. Das Skrotum wurde gewaschen, rasiert und mit Ethanol desinfiziert.

Nach einer Lokalanästhesie der Samenstränge mit Procainhydrochlorid (10 ml Minocain 2 % je Tier, belapharm GmbH & Co. KG, Vechta) wurde das Operationsfeld erneut desinfiziert und steril abgedeckt. Anschließend wurde die Skrotumspitze mit einem Längsschnitt abgesetzt. Nacheinander wurden die Hoden stumpf vorgelagert und zunächst mit einer doppelten Ligatur versehen, anschließend wurde proximal der Ligatur ein Emaskulator angewandt und der Hoden abgesetzt. Die Stümpfe wurden auf Nachblutungen kontrolliert, das Skrotum verblieb unverschlossen. Mittels Aluminiumspray (Alu-Spray Spühverband für Tiere, Selectavet Dr. Otto Fischer GmbH, Weyarn-Holzolling) wurde die Wunde abgedeckt. Die Tiere wurden während der Aufwachphase in Einzelboxen beobachtet, während der nächsten fünf Tage in Zweiergruppen unter ständiger Beobachtung gehalten und anschließend wieder in ihre Gruppen integriert.

Bei dem kryptorchiden Ziegenbock (Ziegenbock Nr. 1) wurde mit Hilfe einer Ultraschalluntersuchung der im Vergleich zum abgestiegenen linken Hoden wesentlich kleinere, rechte Hoden (Abbildung 6) sehr weit dorsal in der Bauchhöhle lokalisiert. Im Gegensatz zu den anderen Tieren erhielt dieser Ziegenbock nach der Narkoseeinleitung mit Xylazinhydrochlorid (0,05 – 0,1 mg/kg Xylazin 2 % Bernburg, Serumwerk Bernburg AG) und Ketaminhydrochlorid (5 mg/kg Ursotamin 100 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG) eine Inhalationsnarkose mit Isofluran (Isothesia®, Henry Schein® Vet GmbH, Hamburg) nach Bedarf. Die Bauchhöhle wurde eröffnet, der Hoden mit einer Ligatur versehen und abgetrennt. Nach einer Kontrolle auf Nachblutungen wurde die Bauchhöhle wieder verschlossen; der linke, in das Skrotum abgestiegene Hoden wurde wie oben beschrieben entfernt. Der Ziegenbock erhielt wie die anderen Tiere während der Operation eine Natriumchlorid-Lösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) als Dauertropfinfusion, ergänzt durch Metamizol-Natrium (20 – 50 mg/kg, Metamizol WDT, Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, Garbsen) sowie Meloxicam (0,5 mg/kg Metacam® 20 mg/ml subkutan, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH,

Ingelheim am Rhein), Tetanusserum (3 ml Tetanus-Serum WDT/Tier subkutan, Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, Garbsen) und dreimal im Abstand von je 48 Stunden Amoxicillin-Trihydrat (15 mg/kg Betamox Injection intramuskulär, Bayer Vital GmbH, Leverkusen).



Abbildung 6: Größenvergleich des in das Skrotum abgestiegenen linken Hodens (Länge: 7,2 cm, Breite: 5,7 cm, Tiefe: 3,9 cm) mit dem intraabdominal gelegenen rechten Hoden (Länge: 4,3 cm, Breite: 3,0 cm, Tiefe: 1,9 cm) von Ziegenbock Nr. 1.

3.3.6 Histologische Untersuchung

3.3.6.1 Probenkonservierung und Fixierung

Die abgesetzten Hoden wurden in ein Gefäß mit steriler Natriumchloridlösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9 %, B. Braun Melsungen AG) verbracht und anschließend umgehend im andrologischen Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität in Gießen präpariert. Es erfolgte zunächst eine makroskopische Betrachtung von Hoden und Nebenhoden, anschließend wurden die Tunica vaginalis sowie der Nebenhoden entfernt. Von jedem Hoden wurde an zwei Stellen eine Gewebeprobe aus dem Parenchym entnommen. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Kantenlänge der Proben nicht länger als 10 mm war, damit eine sichere Durchtränkung der gesamten Probe mit der

Fixierlösung gewährleistet werden konnte.

Die Gewebeproben wurden in Einbettkassetten (Einbettkassette Makro, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) verbracht und in neutral gepuffertem Formol nach Lillie fixiert. Dieses wurde im Labor der Klinik hergestellt, bestehend aus 100 ml Formol 40 %, 4 g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$), 6,5 g Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2PO_4) und 900 ml destilliertem Wasser je 1000 ml Formol nach Lillie. Nach der Fixierung wurden die Proben über drei Tage mit Phosphatpuffer gespült. Hierfür wurden zunächst zwei Lösungen hergestellt, wobei die erste Lösung aus 13,8 g Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4) auf 1000 ml destilliertem Wasser und die zweite Lösung aus 17,8 g Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) auf 1000 ml destilliertem Wasser zusammengesetzt wurde. Anschließend wurde der Phosphatpuffer jeden Tag frisch aus 28,3 ml von Lösung 1 und 71,7 ml von Lösung 2 je 100 ml Phosphatpuffer angefertigt, es wurde so ein pH-Wert von 7,2 erreicht. Nach den Spülungen wurden die Proben bis zur Einbettung in siebzigprozentigem Ethanol gelagert.

Die Einbettung der Proben in Paraffin erfolgte im Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie der Justus-Liebig-Universität in Gießen mithilfe des Microm Einbettautomaten (Microm Laborgeräte GmbH, Heidelberg). Die Proben wurden zunächst bei Raumtemperatur jeweils 15 Minuten in eine aufsteigende Alkoholreihe (Isopropanol 70 %, Isopropanol 80 %, Isopropanol 96 %, Isopropanol 100 %, Isopropanol 100 %) und anschließend zweimal 15 Minuten in Xylol verbracht. Dann wurden die Proben in Metallformen mit auf 60 °C erhitztem Paraffin übergossen. Nach dem Abkühlen wurden die Paraffinblöcke aus den Formen gelöst und bis zur Anfertigung der Schnitte im Kühlschrank bei 8° C gelagert.

3.3.6.2 Anfertigung der Gewebeschnitte

Die Anfertigung sowie die Färbung der Schnitte erfolgten im Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen. Für die Anfertigung der Schnitte wurde ein Mikrotom (Leica RM2125RT, Leica

Biosystems Nussloch GmbH) verwendet. Von jeder Probe wurde jeweils ein Schnitt mit einer Dicke von drei, vier und fünf μm angefertigt.

Unmittelbar vor Anfertigung der Schnitte wurden die in Paraffin eingebetteten Proben aus dem Kühlschrank entnommen und auf Eisblöcken weiter gekühlt. Mithilfe einer in das Mikrotom eingespannten Einmalklinge (Microtome Blades Type A 35 „Superior“, Feather Safety Razor Co., Ltd., Osaka/Japan) wurden die verschieden dicken Schnitte erstellt. Um die Schnitte zu glätten, wurden diese aus dem Wasserbad des Mikrotoms (destilliertes Wasser, Zimmertemperatur) mithilfe eines Objektträgers (Objektträger 76 x 26 mm, iDL, Nidderau) in ein 38 °C Wasserbad mit destilliertem Wasser überführt (GFL 1052, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel). Anschließend wurden die geglätteten Schnitte auf mit zweiprozentigem 3-Triethoxysilyl-proylamin (APES, Merck, Darmstadt) beschichtete Objektträger (Objektträger 76 x 26 mm, iDL, Nidderau) aufgebracht. Zur Herstellung der beschichteten Objektträger waren diese zunächst 20 Sekunden in 1:50 mit Aceton verdünntes 3-Triethoxysilyl-proylamin gegeben und anschließend jeweils zweimal mit Aceton und destilliertem Wasser gespült worden. Die Objektträger mit den Schnitten wurden in einem Wärmeschrank getrocknet und bis zur Färbung in geschlossenen Kästen bei Raumtemperatur gelagert.

3.3.6.3 Färbung der Gewebeschnitte

Es erfolgte eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung der Gewebeschnitte direkt auf dem Objektträger. Das Protokoll der Färbung ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Abfolge der Hämatoxylin-Eosin-Färbung der Gewebeschnitte auf dem Objektträger.

Lösung	Dauer
Xylol	Mindestens 20 Minuten
Absteigende Alkoholreihe: a. Absoluter Alkohol b. 96 % Ethanol	Jeweils 5 Minuten

c. 80 % Ethanol	
d. 70 % Ethanol	
e. 60 % Ethanol	
f. 50 % Ethanol	
Destilliertes Wasser	5 Minuten
Hämatoxylin nach Meyer	9 Minuten
Leitungswasser	12 Minuten wässern
Eosin	5 Minuten
Leitungswasser	Dreimal tauchen
80 % Ethanol	Einmal tauchen
96 % Ethanol	Einmal tauchen
Absoluter Alkohol	Zweimal 2,5 Minuten
Xylol	Zweimal 10 Minuten

Im Anschluss an die Färbereihe wurden die Gewebeproben mit Entellan® Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie (Merck KGaA, Darmstadt) benetzt und mit Deckgläsern (Deckgläser 24 x 50 mm, iDL, Nidderau) abgedeckt. Anschließend wurden die Objektträger über Nacht unter dem Abzug getrocknet und bis zur Auswertung in geschlossenen Kästen bei Raumtemperatur gelagert.

3.3.6.4 Auswertung der Gewebeschnitte

Die Gewebeschnitte wurden unter dem Lichtmikroskop „DMR“ (Leica Microsystems Wetzlar GmbH) ausgewertet. An dieses war eine Digitalkamera (Leica MC170 HD, Leica Microsystems Wetzlar GmbH) angeschlossen, mit deren Hilfe das mikroskopierte Bild direkt über ein Bildanalyseprogramm (Leica Image Manager, Leica, Wetzlar) an einen Computer (GX 240, Dell, Frankfurt am Main) gesendet werden konnte. Die Bilder konnten somit digitalisiert und gespeichert werden.

Alle Schnitte wurden zunächst bei einhundertfacher Vergrößerung hinsichtlich ihrer Auswertbarkeit überprüft. Hierbei wurde auf die Intaktheit des darzustellenden Hodengewebes sowie die Intensität und Gleichmäßigkeit der

Hämatoxylin-Eosin-Färbung geachtet. Nicht zufriedenstellende Schnitte wurden nicht ausgewertet. Es wurde von jedem Hoden jeweils der beste Schnitt von beiden Lokalisationen der Gewebeprobenentnahme beurteilt; es handelte sich dabei ausschließlich um Schnitte mit einer Dicke von 3 μm . Bei vierhundertfacher Vergrößerung wurden pro Schnitt zehn Hodentubuli-Anschnitte an verschiedenen Stellen des Präparates betrachtet und auf das Vorhandensein von Spermien im Lumen überprüft. Zudem wurde der innere Durchmesser dieser zehn Tubuli seminiferi contorti bestimmt und daraus der mittlere Durchmesser für jede Probe berechnet.

3.3.7 Statistische Methoden

Die Auswertung der Daten wurde in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen durchgeführt. Nach Erfassung aller Daten in CALC-Tabellen (Tabellenkalkulation von Open Office) wurden diese mit den Statistikprogrammpaketen BMDP/Dynamic, Release 8.1 (Dixon, 1993) und R (Version R 3.2.3, FreeSoftware Foundation's GNU project, 2015) ausgewertet; die grafischen Abbildungen wurden mit dem Programm Microsoft® Excel® 2013 (Microsoft® Corporation) erstellt.

Um in Anlehnung an den Versuchsplan den Gruppen- und Zeiteinfluss sowie die Wechselwirkung zwischen den Faktoren Gruppe und Zeitpunkt in Bezug auf die Mittelwerte der erhobenen Merkmale statistisch auf Signifikanz zu prüfen, wurde für die (teilweise nach logarithmischer Transformation) annähernd normalverteilten Parameter Körpergewicht, Widerristhöhe, Körperlänge, Hodenlänge links und rechts, Hodenbreite links und rechts, Hodentiefe links und rechts, Hodenvolumen, Ejakulatvolumen, pH-Wert des Ejakulates, Vorwärtsbewegung, Orts-/ Kreisbewegung, Lebende Spermien, Spermiedichte im Ejakulat, Gesamtspermienzahl im Ejakulat, Testosteronkonzentration im Plasma sowie die Ergebnisse der Grauwertanalyse eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich des Zeitpunktes durchgeführt. Hierfür wurde das Programm BMDP2V genutzt.

Bei den Parametern Hodenkonsistenz links und rechts, Massenbewegung und

Libidoscore handelte es sich um ordinal skalierte Daten, welche mit einem zweifaktoriellen Ansatz, zerlegt in zwei einfaktorielle Vergleiche mit nicht-parametrischen Rangverfahren, ausgewertet wurden. Aufgrund des kleinen Stichprobenumfanges wurden die exakten Varianten verwendet. Es wurden der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test zur Überprüfung der Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sowie des Einflusses des Haupteffektes Gruppe und der Friedmann-Test zur Überprüfung des Haupteffektes Zeit innerhalb der Gruppen verwendet.

Für alle Parameter wurde zuvor eine Residualanalyse zur Überprüfung des Vorliegens einer Normalverteilung durchgeführt. Für die Parameter Anzahl pathologisch veränderter unter 200 betrachteten Spermien, abgelöste Köpfe, abgeknickte Schwänze, schleifenförmige Schwänze, aufgerollte Schwänze, abaxiale Schwanzansätze und Plasmotropfen, bei welchen es sich um Zählergebnisse handelt, wurde analog zu den vorher genannten Verfahren eine Poisson-Regression mit zwei Einflussfaktoren durchgeführt.

Für die Beschreibung der Daten von quantitativen, annähernd normalverteilten Merkmalen wurden die arithmetischen Mittelwerte ($\bar{x}$), die Standardabweichungen (s), die Minima ($x_{\min}$), die Maxima ($x_{\max}$) sowie die Stichprobenumfänge (n) berechnet. Bei den positiv quantitativen Parametern Ejakulatvolumen und Testosteronkonzentration lag eine rechtsschiefe Verteilung vor, sodass hier eine logarithmische Transformation der Daten erfolgte. Die Datenbeschreibung dieser Parameter erfolgte durch den geometrischen Mittelwert ($\bar{x}_g$) und den Streufaktor (SF).

Bei der statistischen Auswertung wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt. Ergebnisse mit einem p-Wert von $p \leq 0,05$ wurden somit als statistisch signifikant eingeordnet, wobei Ergebnisse mit einem $p \leq 0,001$ als hoch signifikant bezeichnet wurden. Zusätzlich wurde neben diesen verwendeten Signifikanzbezeichnungen jeweils der errechnete p-Wert angegeben.

4 ERGEBNISSE

4.1 Klinische Untersuchung

Während der klinischen Untersuchungen wurden nur wenige von der Norm abweichende Ergebnisse festgestellt. Zum Zeitpunkt 1 wies das Tier Nr. 2 eine kleine Verletzung am Skrotum auf, welche keiner weiteren Behandlung bedurfte. Ebenfalls am Zeitpunkt 1 konnte bei Tier Nr. 4 der Stützverband entfernt werden. An Zeitpunkt 4 musste das Tier Nr. 6 wegen einer Bronchopneumonie behandelt werden, dasselbe gilt für Tier Nr. 1 an Zeitpunkt 7. Alle anderen Tiere waren während der gesamten Studie klinisch gesund.

4.2 Körperliche Parameter

Für alle körperlichen Parameter konnte in der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich des Zeitpunktes ein signifikanter Einfluss ($p < 0,05$) des Faktors Zeitpunkt festgestellt werden (Tabelle 8). Im Vergleich der Kontroll- mit der Versuchsgruppe über alle Zeitpunkte hinweg wurde bei der Breite des rechten Hodens sowie bei der Tiefe beider Hoden und beim Hodenvolumen ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ermittelt. Bei der Hodenlänge und –tiefe des rechten Hodens liegt zudem ein signifikanter, bei der Hodentiefe des linken Hodens und dem Hodenvolumen ein hoch signifikanter Einfluss der Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeitpunkt vor.

ERGEBNISSE

Tabelle 8: Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich des Zeitpunktes der körperlichen Parameter der Ziegenböcke.

Parameter	Haupteffekte		
	Gruppe	Zeitpunkt	Wechselwirkung Zeitpunkt x Gruppe
Körpergewicht	0,64	< 0,0001	0,70
Körperlänge	0,61	< 0,0001	0,63
Widerristhöhe	0,93	< 0,0001	0,94
Hodenlänge links	0,11	< 0,0001	0,06
Hodenlänge rechts	0,14	0,0001	0,02
Hodenbreite links	0,50	< 0,0001	0,12
Hodenbreite rechts	0,03	0,0009	0,59
Hodentiefe links	0,01	< 0,0001	0,0003
Hodentiefe rechts	0,03	< 0,0001	0,001
Hodenvolumen	0,02	< 0,0001	0,0005

4.2.1 Körpergewicht, Körperlänge und Widerristhöhe

Beim Körpergewicht, der Körperlänge und der Widerristhöhe aller Ziegenböcke liegt ein hoch signifikanter Einfluss des Faktors Zeitpunkt vor ($p < 0,0001$).

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem Körpergewicht der Versuchs- und der Kontrollgruppe ermittelt werden ($p = 0,64$), jedoch liegt das durchschnittliche Körpergewicht der Kontrolltiere zu allen Untersuchungszeitpunkten leicht über dem Körpergewicht der Versuchstiere (Abbildung 7).

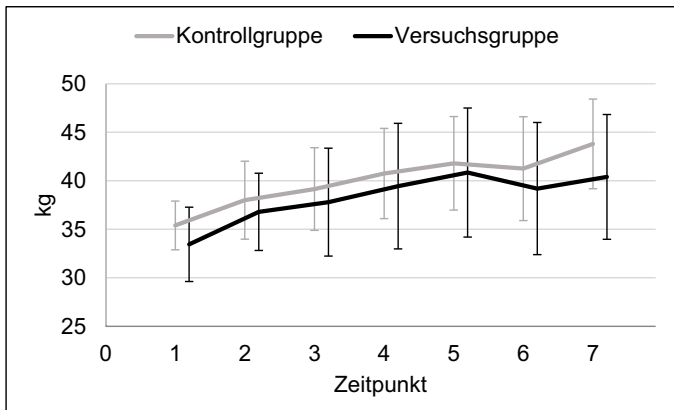


Abbildung 7: Entwicklung des Körpergewichtes der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,64$ beziehungsweise $p = 0,70$).

Bei der Körperlänge sowie der Widerristhöhe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden; die Körperlänge der Kontrolltiere liegt ab dem Zeitpunkt 4 stets über der Körperlänge der Versuchstiere (Abbildung 8), während bei der Widerristhöhe kaum Unterschiede ermittelt werden konnten (Abbildung 9).

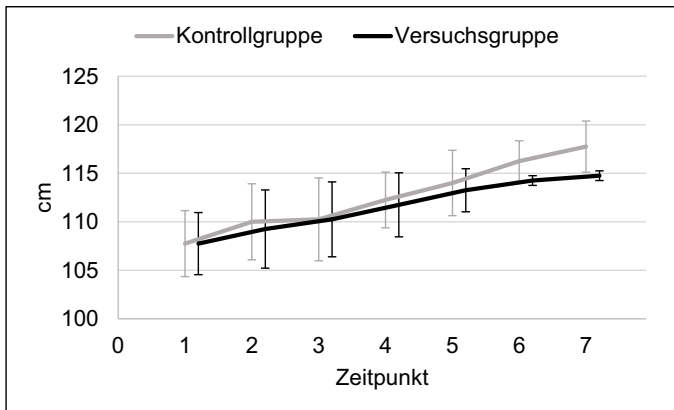


Abbildung 8: Entwicklung der Körperlänge der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,61$ beziehungsweise $p = 0,63$).

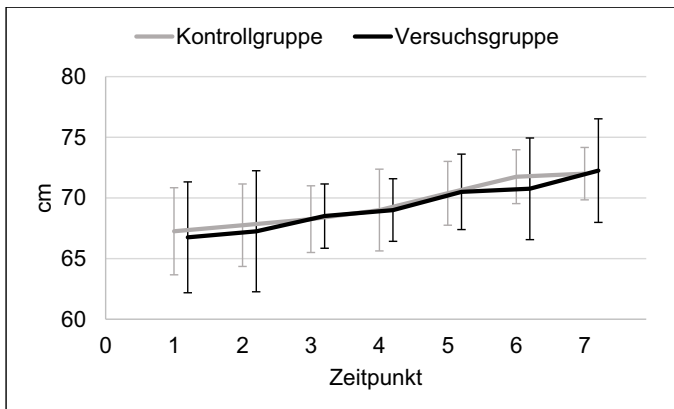


Abbildung 9: Entwicklung der Widerristhöhe der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,93$ beziehungsweise $p = 0,94$).

4.2.2 Hodenmaße

Bei der Hodenlänge beider Hoden liegt ein hoch signifikanter Einfluss des Faktors Zeitpunkt vor (linker Hoden: $p < 0,0001$, rechter Hoden: $p = 0,0001$). Die Hodenlängen der Kontrolltiere liegen zu fast allen Zeitpunkten über denen der Versuchstiere, wobei der Unterschied zum Zeitpunkt 4 am deutlichsten in Erscheinung tritt. Der Verlauf der Hodenlängen ist bei der Versuchsgruppe tendenziell abfallend bis zum Zeitpunkt 3 beim linken Hoden und bis zum Zeitpunkt 4 beim rechten Hoden, um dann wieder leicht anzusteigen. In der Kontrollgruppe folgt bei beiden Hoden auf die abfallende Tendenz bis zum Zeitpunkt 3 ein Anstieg zum Zeitpunkt 4, ein erneuter Abfall zum Zeitpunkt 5 und dann wiederum eine steigende Tendenz bis zum Zeitpunkt 7 (Abbildungen 10 und 11). Die Wechselwirkungen zwischen Gruppe und Zeit sind beim linken Hoden mit einem $p = 0,06$ statistisch knapp nicht signifikant; beim rechten Hoden hingegen mit einem $p = 0,02$ statistisch signifikant, was auf einen nicht-parallelen Verlauf hindeutet.

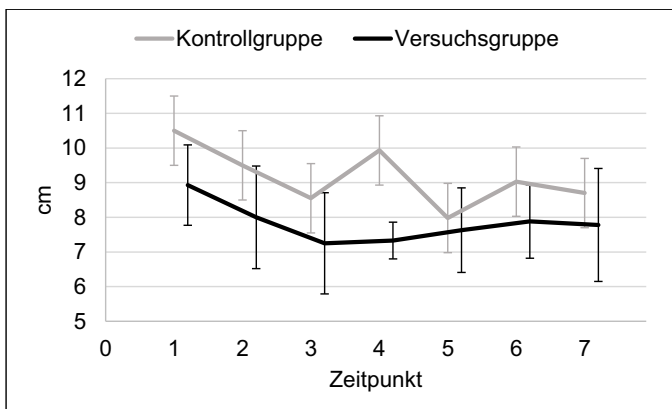


Abbildung 10: Entwicklung der Hodenlänge des linken Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,11$ beziehungsweise $p = 0,06$).

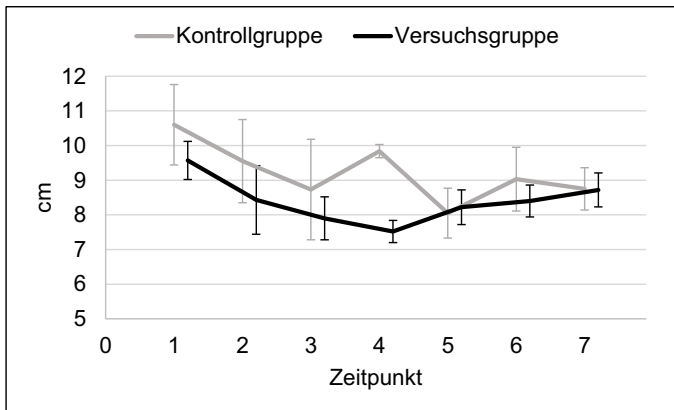


Abbildung 11: Entwicklung der Hodenlänge des rechten Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe nicht signifikant ($p = 0,14$), die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit ist signifikant ($p = 0,02$)

Auch bei der Hodenbreite liegt beim linken Hoden ein hoch signifikanter, beim rechten Hoden ein signifikanter Einfluss des Zeitpunktes vor (linker Hoden: $p < 0,0001$, rechter Hoden: $p = 0,009$). Bei der Breite des rechten Hodens besteht, gemittelt über alle Zeitpunkte, ein signifikanter Gruppenunterschied ($p = 0,032$). Die Werte der Kontrollgruppe liegen zu fast allen Zeitpunkten über denen der Versuchsgruppe, mit einem besonders deutlichen Unterschied am Zeitpunkt 4. Bei den Hodenbreiten liegt bei beiden Gruppen eine abfallende Tendenz bis zum Zeitpunkt 3 (Kontrollgruppe) beziehungsweise 4 (Versuchsgruppe) sowie eine darauf folgende ansteigende Tendenz der Kurven vor (Abbildungen 12 und 13).

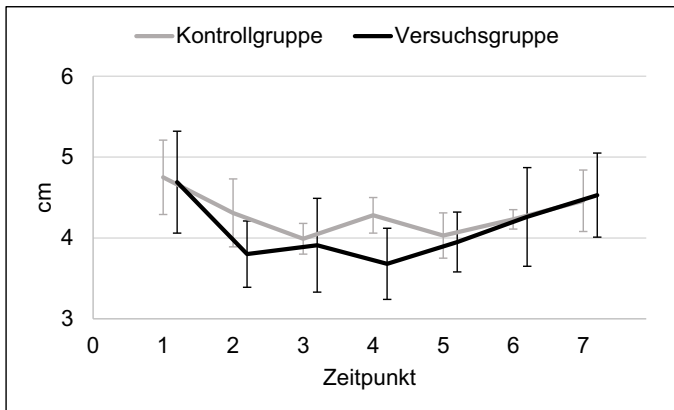


Abbildung 12: Entwicklung der Hodenbreite des linken Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,50$ beziehungsweise $p = 0,12$).

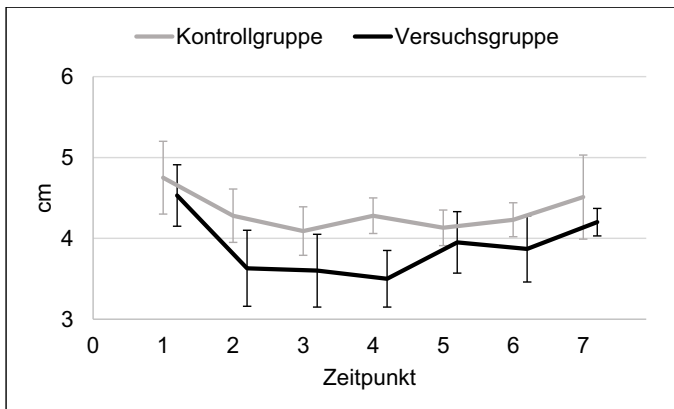


Abbildung 13: Entwicklung der Hodenbreite des rechten Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Die Einflüsse der Faktoren Zeitpunkt sowie Gruppe sind signifikant ($p = 0,0009$ beziehungsweise $p = 0,032$), die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit ist nicht signifikant ($p = 0,59$).

ERGEBNISSE

Die Hodentiefe verändert sich hoch signifikant mit der Zeit ($p < 0,0001$ für den linken und den rechten Hoden), zudem liegt ein signifikanter Gruppenunterschied vor (linker Hoden: $p = 0,0106$; rechter Hoden: $p = 0,0270$). Die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit erweist sich beim linken Hoden ebenfalls als hoch signifikant, beim rechten Hoden als signifikant (linker Hoden: $p = 0,0003$; rechter Hoden: $p = 0,0012$). Die Werte der Kontrollgruppe liegen zu fast allen Zeitpunkten über denen der Versuchsgruppe, ebenfalls mit einem besonders deutlichen Unterschied am Zeitpunkt 4. Der Kurvenverlauf der Versuchsgruppe ist leicht abfallend bis zum Zeitpunkt 4, darauf folgt ein leichter Anstieg der Kurve. Bei der Kontrollgruppe ist die Kurve, bis auf einen Zwischenanstieg am Zeitpunkt 4, abfallend bis zum Zeitpunkt 6 (linker Hoden) beziehungsweise 5 (rechter Hoden) und steigt erst zum Zeitpunkt 7 tendenziell wieder an (Abbildungen 14 und 15).

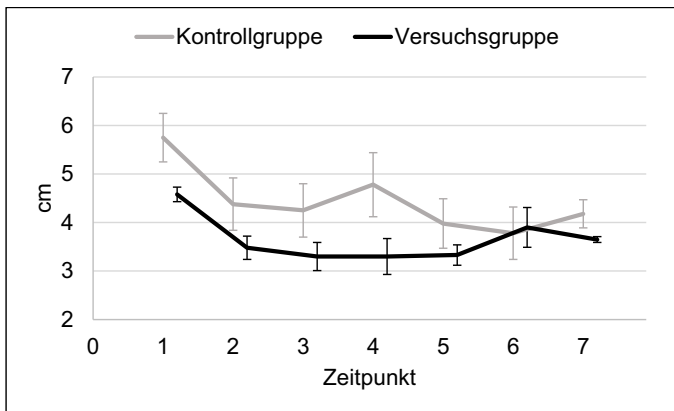


Abbildung 14: Entwicklung der Hodentiefe des linken Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind hoch signifikant ($p < 0,0001$ beziehungsweise $p = 0,0003$), derjenige des Faktors Gruppe ist signifikant ($p = 0,0106$).

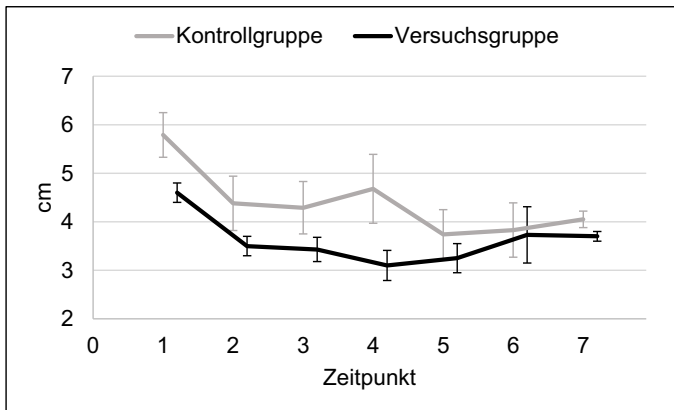


Abbildung 15: Entwicklung der Hodentiefe des rechten Hodens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p < 0,0001$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind signifikant ($p = 0,03$ beziehungsweise $p = 0,0012$).

Für das Hodenvolumen liegt eine hoch signifikanter Einfluss des Zeitpunktes ($p < 0,0001$) sowie ein signifikanter Gruppenunterschied ($p = 0,019$) vor (Abbildung 16). Die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit ist hoch signifikant ($p = 0,0005$). Besonders deutlich wird beim Hodenvolumen die abfallende Tendenz der Kurven beider Gruppen bis zum Zeitpunkt 3 bei der Kontrollgruppe und bis zum Zeitpunkt 5 bei der Versuchsgruppe, danach folgt jeweils ein tendenzieller Anstieg bis zum Zeitpunkt 7. Zu jedem Zeitpunkt wurde der niedrigste Wert für das Hodenvolumen in der Versuchsgruppe gemessen, der höchste Wert jeweils in der Kontrollgruppe.

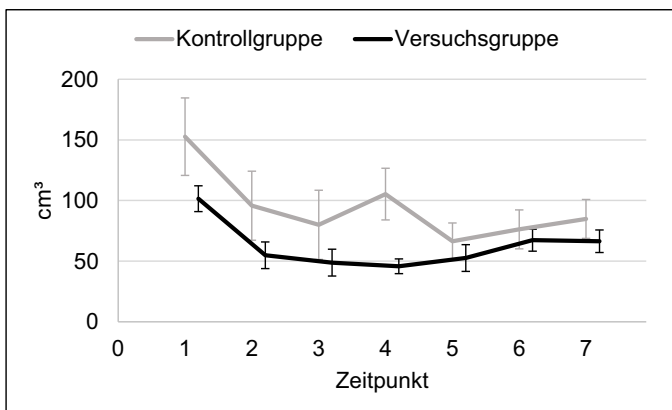


Abbildung 16: Entwicklung des Hodenvolumens der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind hoch signifikant ($p < 0,0001$ beziehungsweise $p = 0,0005$), derjenige des Faktors Gruppe ist signifikant ($p = 0,019$).

4.2.3 Hodenkonsistenz

In der Hodenkonsistenz konnte zu keinem Zeitpunkt und bei keinem Tier ein Unterschied zwischen dem linken und dem rechten Hoden festgestellt werden, sodass die in den Abbildungen 17 und 18 dargestellten Ergebnisse jeweils für beide Hoden gelten. Bei der gesamten Kontrollgruppe sowie bei Ziegenbock Nr. 6 (Versuchsgruppe) konnten keinerlei Veränderungen der Hodenkonsistenz festgestellt werden, wohingegen bei Tier Nr. 1 (Versuchsgruppe) von Zeitpunkt 2 bis zum Ende der Beobachtungsphase, bei Tier Nr. 4 (Versuchsgruppe) von Zeitpunkt 2 bis 7 und bei Tier Nr. 7 (Versuchsgruppe) von Zeitpunkt 4 bis 6 die Hodenkonsistenz weicher war.

Mithilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests (exakt) konnte weder eine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen Gruppen- und Zeiteinfluss (minimaler p-Wert 0,07) noch ein Gruppeneffekt ($p = 0,14$) nachgewiesen werden. Der Friedmann-Test ergab einen signifikanten Einfluss des Haupteffektes Zeit ($p = 0,04$).

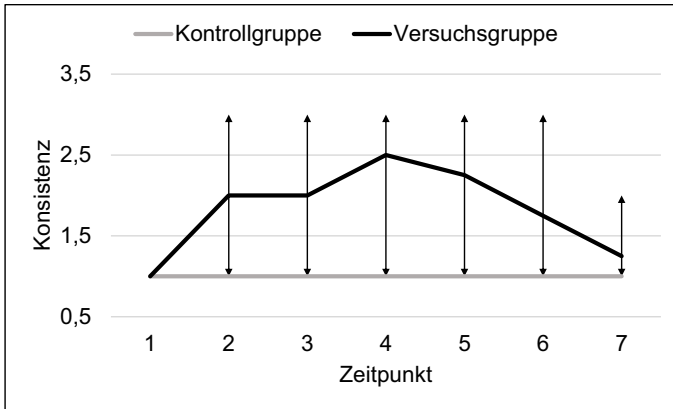


Abbildung 17: Entwicklung der Hodenkonsistenz der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Minima und der Maxima. Es wurde zwischen prall-elastisch (1), weich-elastisch (2) und weich (3) unterschieden. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist signifikant ($p = 0,04$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,14$ beziehungsweise $p = 0,07$).

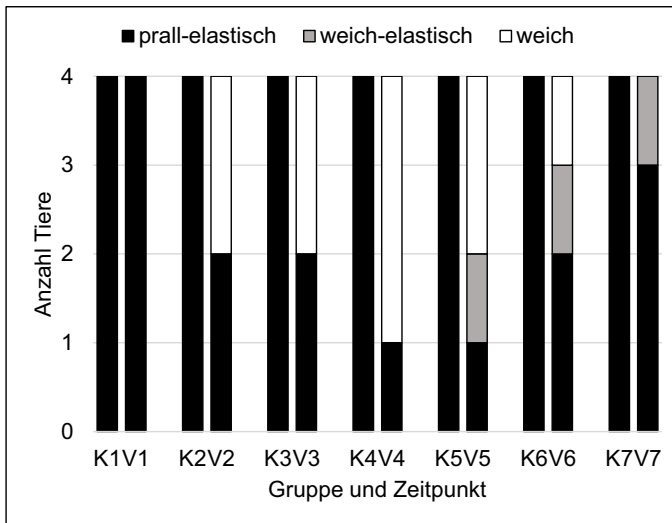


Abbildung 18: Dreidimensionale Auszählung der Entwicklung der Hodenkonsistenz der Ziegenböcke. Es wurde zwischen prall-elastisch (1), weich-elastisch (2) und weich (3) unterschieden. K1 = Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 1, V1 = Versuchsgruppe zum Zeitpunkt 1 etc.

4.2.4 Hodensonographie

Zu allen Zeitpunkten stellte sich das Parenchym als homogener Bereich mit mittlerer Echogenität dar; umgeben von einem durch die Tunica vaginalis, die Fascia spermatica interna sowie der Haut gebildeten hyperechogenen Bereich. Das Mediastinum konnte stets dargestellt werden und bildete sich im Längsschnitt des Hodens als schmaler, homogener, zentral gelegener Streifen beziehungsweise als zentral gelegener Punkt im Querschnitt des Hodens ab; es zeigte sich stärker hyperechogen als das Parenchym (Abbildungen 19 und 20). Dieses sonographische Erscheinungsbild der Hoden veränderte sich bei den Tieren beider Gruppen während aller Untersuchungen nicht.

ERGEBNISSE

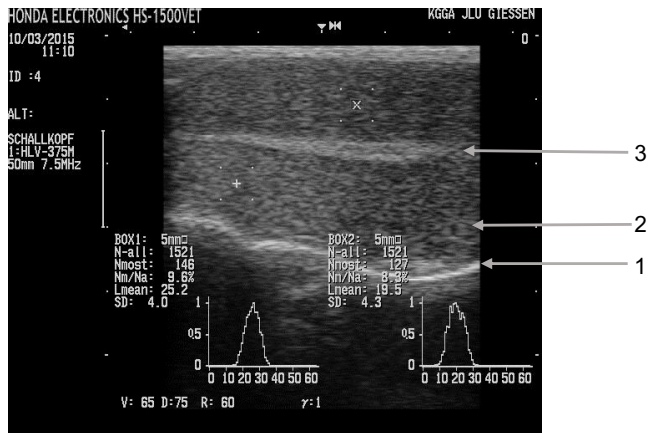


Abbildung 19: Sonographischer Längsschnitt durch den Hoden eines Ziegenbockes. Zu sehen sind die Tunica vaginalis, die Fascia spermatica interna und die Haut (1), das Parenchym (2) und das Mediastinum (3).

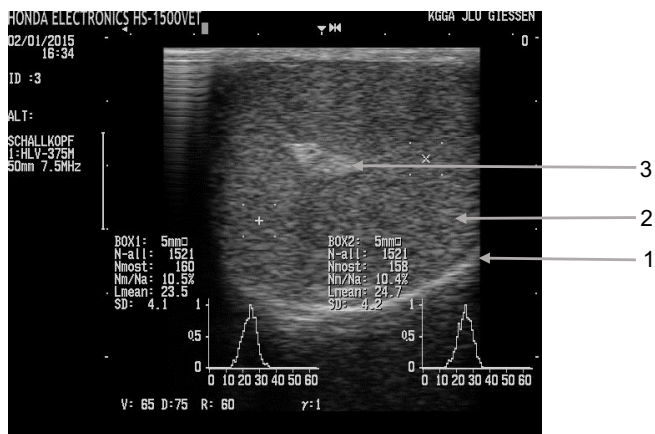


Abbildung 20: Sonographischer Querschnitt durch den Hoden eines Ziegenbockes. Zu sehen sind die Tunica vaginalis, die Fascia spermatica interna und die Haut (1), das Parenchym (2) und das Mediastinum (3).

4.2.4.1 Grauwertanalyse

Zur Auswertung der Grauwertanalyse wurde jeweils der durchschnittliche Grauwert (Lmean) beider Regions of Interest (ROI) eines jeden Längs- und Querschnittes des linken und des rechten Hodens herangezogen. Aus den somit vorliegenden acht Grauwerten pro Tier und Zeitpunkt wurde ein Mittelwert gebildet, mit welchem dann die zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung bezüglich des Faktors Zeitpunkt durchgeführt wurde.

Die Mittelwerte der Grauwerte befinden sich zwischen $20,4 \pm 3,99$ und $23,79 \pm 2,09$ bei der Kontrollgruppe und $18,03 \pm 5,03$ und $24,58 \pm 1$ bei der Versuchsgruppe. Es liegt ein hoch signifikanter Einfluss des Faktors Zeitpunkt ($p = 0,0002$) vor. Die Einflüsse des Faktors Gruppe ($p = 0,77$) sowie der Wechselwirkung Gruppe x Zeit ($p = 0,11$) auf den Grauwert sind nicht signifikant. Der Kurvenverlauf der Grauwerte für die Kontroll- und die Versuchsgruppe wird in Abbildung 21 dargestellt.

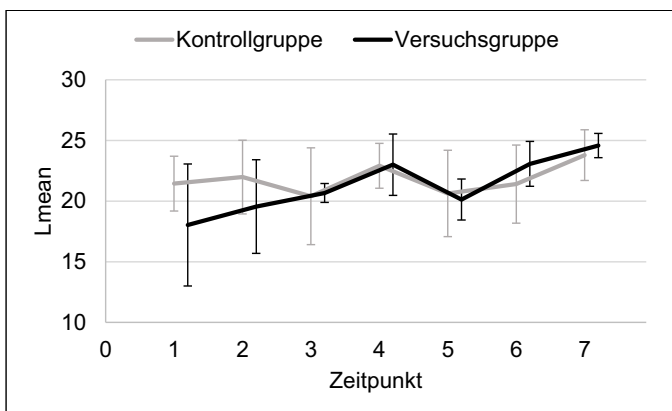


Abbildung 21: Ergebnisse der Grauwertanalyse der Hoden, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Standardabweichungen. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist hoch signifikant ($p = 0,0002$), derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind signifikant ($p = 0,77$ beziehungsweise $p = 0,11$).

4.3 Testosteronkonzentration

Bei der Testosteronkonzentration im Plasma (Abbildung 22) liegt ein signifikanter Einfluss des Faktors Zeitpunkt vor ($p = 0,026$); die Einflüsse des Faktors Gruppe ($p = 0,65$) sowie der Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeitpunkt ($p = 0,59$) sind nicht signifikant. Insgesamt liegt ein leicht schwankender Verlauf der Werte vor, wobei die Testosteronwerte der Tiere der Kontrollgruppe weniger variieren als diejenigen der Versuchstiere. Sowohl der niedrigste ($0,38 \text{ ng/ml}$ an Zeitpunkt 1) als auch der höchste ($4,63 \text{ ng/ml}$ an Zeitpunkt 7) Mittelwert finden sich in der Versuchsgruppe.

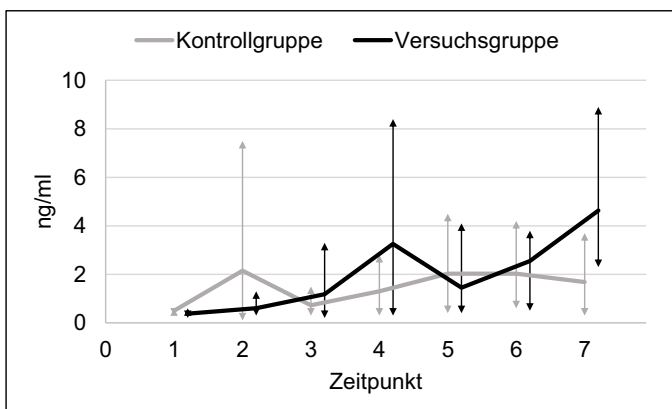


Abbildung 22: Ergebnisse der Messung der Testosteronkonzentration im Plasma in ng/ml, dargestellt durch Angabe der geometrischen Mittelwerte sowie der Minima und Maxima. Der Einfluss des Faktors Zeitpunkt ist signifikant ($p = 0,026$) derjenige des Faktors Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,65$ beziehungsweise $p = 0,59$).

4.4 Spermaparameter

Aufgrund einzelner fehlender Werte wurden bei den Spermaparametern für die zweifaktorielle Varianzanalyse jeweils die zu den Zeitpunkten 2 und 3, 4 und 5 sowie 6 und 7 ermittelten Daten zusammengefasst.

Bei der Gesamtspermienzahl konnte ein hoch signifikanter Einfluss des

ERGEBNISSE

Zeitpunktes festgestellt werden ($p = 0,0004$). Bei den Parametern Volumen, Dichte und pH-Wert ist der Einfluss des Zeitpunktes auf die Daten signifikant ($p = 0,0046$ für das Volumen, $p = 0,0058$ für die Dichte, $p = 0,026$ für den pH-Wert) und beim Parameter Vorwärtsbeweglichkeit knapp nicht signifikant ($p = 0,051$, Tabelle 9).

Tabelle 9: Ergebnisse der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich des Zeitpunktes der Spermaparameter der Ziegenböcke.

Parameter	Haupteffekte		
	Gruppe	Zeitpunkt	Wechselwirkung Zeitpunkt x Gruppe
Volumen	0,31	0,005	0,22
pH-Wert	0,33	0,03	0,13
Vorwärtsbeweglichkeit	0,81	0,05	0,34
Lebende Spermien	0,79	0,11	0,46
Dichte	0,14	0,006	0,25
Gesamtspermienzahl	0,22	0,0004	0,10

4.4.1 Makroskopische Parameter

Die Farbe der untersuchten Spermaproben war bei fast allen Ejakulaten elfenbeinartig bis leicht gelblich. Lediglich bei der Spermaprobe von Ziegenbock Nr. 7 (Versuchsgruppe) lag an den Zeitpunkten 3 und 6 eine ungewöhnlich helle Farbe des Ejakulates vor, dasselbe gilt für die Probe von Ziegenbock Nr. 6 (ebenfalls Versuchsgruppe) am Zeitpunkt 6. Die Konsistenz der Proben bewegte sich zwischen rahmig und milchig, einzige Ausnahmen waren eine wässrige Konsistenz bei Tier Nr. 7 zu den Zeitpunkten 5 und 6.

Der Geruch der untersuchten Spermaproben war stets geschlechtsspezifisch; bei keiner Probe konnten Beimengungen festgestellt werden.

4.4.2 Motilität

Die Massenbewegung der Ejakulate der Kontrollgruppe liegt ab dem Zeitpunkt 3 über derjenigen der Versuchsgruppe, beide Gruppen zeigen über den gesamten Zeitraum betrachtet eine abfallende Tendenz (Abbildung 23). Der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (exakt) ergab weder einen signifikanten Einfluss der Wechselwirkung Gruppe mal Zeit (minimaler p-Wert 0,10) noch einen Gruppeneffekt ($p = 0,57$), der Friedmann-Test keinen signifikanten Zeiteffekt ($p = 0,93$).

Beim Parameter Vorwärtsbeweglichkeit war der Einfluss des Zeitpunktes auf die Daten signifikant ($p = 0,05$). Ortsbewegungen konnten nur vereinzelt beobachtet werden und sind somit statistisch nicht relevant (Tier Nr. 2 (Kontrollgruppe) zum Zeitpunkt 3, Tier Nr. 7 (Versuchsgruppe) zu den Zeitpunkten 3 und 6).

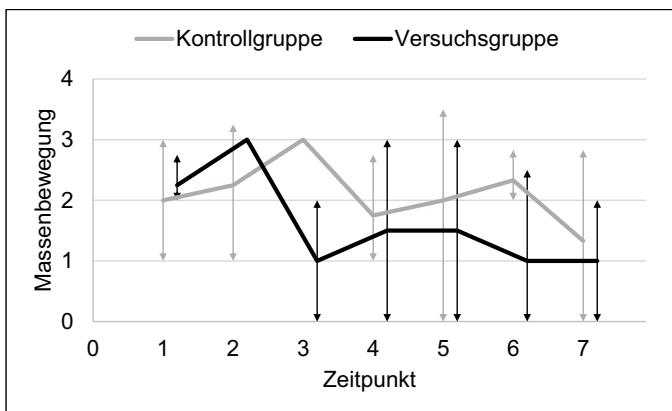


Abbildung 23: Massenbewegung im Ejakulat der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Minima und der Maxima. Die Einflüsse der Faktoren Zeitpunkt und Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,93$ beziehungsweise $p = 0,57$ beziehungsweise $p = 0,10$).

4.4.3 Morphologisch abnorme Spermien

Mit der Poisson-Regression konnte ein signifikanter Einfluss der Gruppe auf die

ERGEBNISSE

Gesamtzahl pathologisch veränderter Spermien nachgewiesen werden ($p = 0,05$), die Einflüsse des Zeitpunktes sowie der Wechselwirkung zwischen Zeitpunkt und Gruppe auf diese Daten waren hingegen statistisch nicht signifikant ($p = 0,68$ beziehungsweise $p = 0,21$). Der Effekt des Zeitpunktes auf die Anzahl an Spermien mit schleifenförmigen Schwänzen und der Gruppeneffekt auf die Anzahl an Spermien mit Plasmotropfen waren jeweils signifikant ($p = 0,017$ beziehungsweise $p = 0,031$) (Tabelle 10)

Tabelle 10: Ergebnisse der Poisson-Regression der pathologisch veränderten Spermien im Ejakulat der Ziegenböcke.

Parameter	Haupteffekte		
	Gruppe	Zeitpunkt	Wechselwirkung Zeitpunkt x Gruppe
Gesamtzahl pathologisch veränderter Spermien	0,05	0,68	0,21
Abgelöste Köpfe	0,92	0,11	0,22
Abgeknickte Schwänze	0,42	0,54	0,36
Schleifenförmige Schwänze	0,68	0,02	1,00
Aufgerollte Schwänze	0,43	0,42	0,84
Plasmotropfen	0,03	0,96	0,79

Betrachtet man die deskriptive Beschreibung der festgestellten Werte, so zeigen die Tiere der Versuchsgruppe, gemittelt über alle Zeitpunkte, mehr pathologisch veränderte Spermien im Ejakulat (Abbildung 24). Im Zeitverlauf liegen die Prozentzahlen von pathologisch veränderten Spermien bei den Versuchstieren stets über denen der Kontrolltiere. Während die Wertekurve der Kontrolltiere

ERGEBNISSE

relativ gleichmäßig verläuft, steigt sie bei den Versuchstieren zunächst an, um ab Zeitpunkt 6 wieder abzusinken (Abbildung 25).

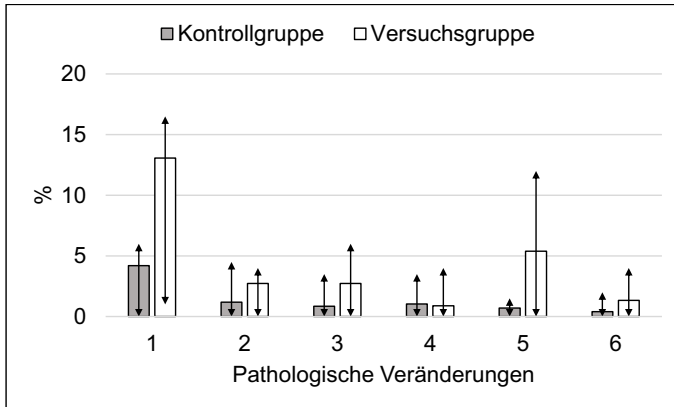


Abbildung 24: Pathologische Veränderungen im Ejakulat der Ziegenböcke in Prozent, gemittelt über alle Zeitpunkte, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Minima und der Maxima. 1 = Gesamtanteil pathologisch veränderter Spermien, 2 = Abgelöste Köpfe, 3 = Abgeknickte Schwänze, 4 = Schleifenförmige Schwänze, 5 = Aufgerollte Schwänze, 6 = Plasmatropfen.

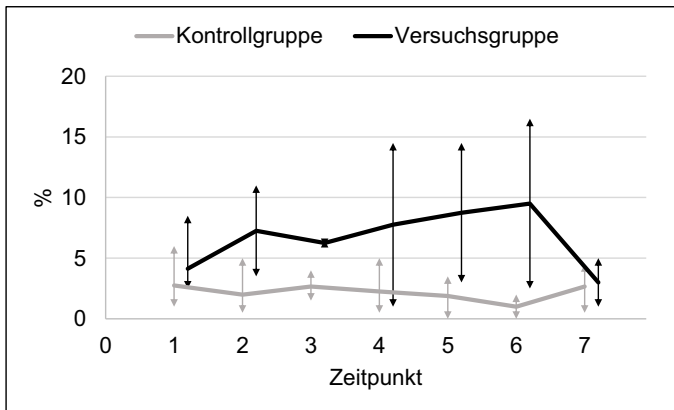


Abbildung 25: Pathologische Veränderungen in Prozent im Ejakulat der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Minima und der Maxima. Der Einfluss des Faktors Gruppe ist signifikant ($p = 0,05$), derjenige des Faktors Zeitpunkt sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,68$ beziehungsweise $p = 0,21$).

4.5 Libidoscore

Der Libidoscore zeigt insgesamt eine stärker ausgeprägte Libido sexualis in der Kontrollgruppe (Abbildung 26). Zum Zeitpunkt 1 sind beide Gruppen auf einem ähnlichen Niveau, danach liegt die Kontrollgruppe über der Versuchsgruppe. Dieser Effekt besteht über den Versuchszeitraum hinaus, die Kurven nähern sich erst am Ende des Beobachtungszeitraumes an. Aufgrund großer individueller Unterschiede in der Libido sexualis der einzelnen Ziegenböcke ist die Standardabweichung sehr hoch. Es gibt keinen signifikanten Effekt bezüglich der Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit (minimaler p -Wert 0,21), des Haupteffektes Gruppe ($p = 0,11$) und des Haupteffektes Zeit ($p = 0,12$, p -Werte ermittelt mithilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests (exakt) beziehungsweise des Friedman-Tests).

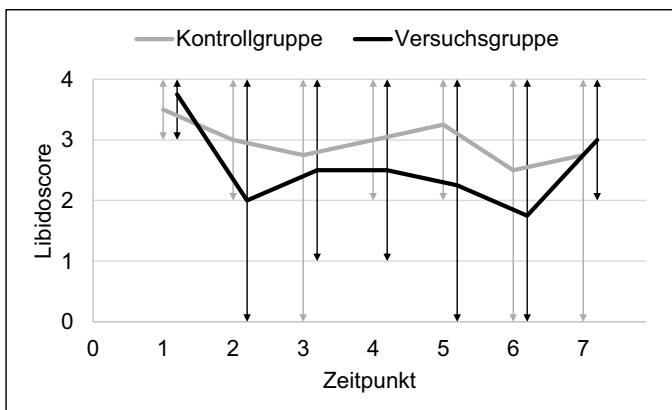


Abbildung 26: Verlauf des ermittelten Libidoscores der Ziegenböcke, dargestellt durch Angabe der arithmetischen Mittelwerte sowie der Minima und der Maxima. Die Einflüsse der Faktoren Zeitpunkt und Gruppe sowie die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind nicht signifikant ($p = 0,12$ beziehungsweise $p = 0,11$ beziehungsweise $p = 0,21$).

4.6 Histologische Untersuchung

In der histologischen Untersuchung der Gewebepreparate konnte bei allen Tieren histologisch funktional aufgebautes Hodengewebe nachgewiesen werden. Die Gewebeschnitte wurden auf das Vorhandensein aller Stadien der Spermatogenese im Tubulusepithel sowie auf Spermatozoen im Tubuluslumen hin überprüft. Aufgrund von nicht optimalen Fixierungsergebnissen konnten die Stadien der Spermatogenese nicht immer durchgehend evaluiert und differenziert werden, es lagen aber jeweils Spermatozoen im Tubuluslumen vor (Abbildungen 27, 28 und 29). Die einzige Ausnahme bildete der rechte, intraabdominal gelegene Hoden von Ziegenbock Nr. 1. Hier konnten keine ausgereiften Spermien nachgewiesen werden.

Der durchschnittliche innere Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti der Kontrollgruppe lag bei $205,64 \mu\text{m}$, derjenige der Versuchsgruppe bei $201,86 \mu\text{m}$ (arithmetischer Mittelwerte; Standardabweichung für die Kontrollgruppe $22,30$, für die Versuchsgruppe $46,78$).

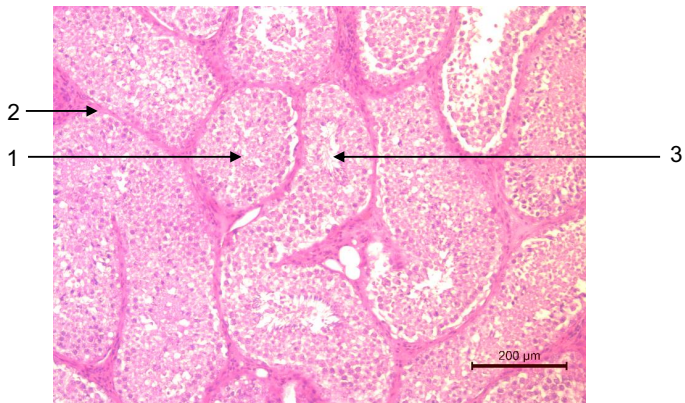


Abbildung 27: Histologischer Schnitt durch den linken Hoden von Ziegenbock Nr. 1 (Versuchsgruppe), Übersicht in einhundertfache Vergrößerung. Es sind die Tubuli seminiferi contorti (1), Bindegewebe mit Leydig-Zellen (2) sowie Spermatozoen (3) zu erkennen (HE-Färbung).

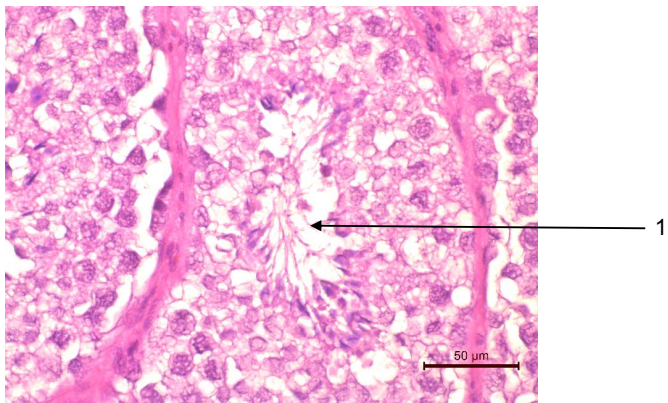


Abbildung 28: Histologischer Schnitt durch den linken Hoden von Ziegenbock Nr. 1 (Versuchsgruppe) in vierhundertfache Vergrößerung. Es sind Spermatozoen (1) zu erkennen (HE-Färbung).

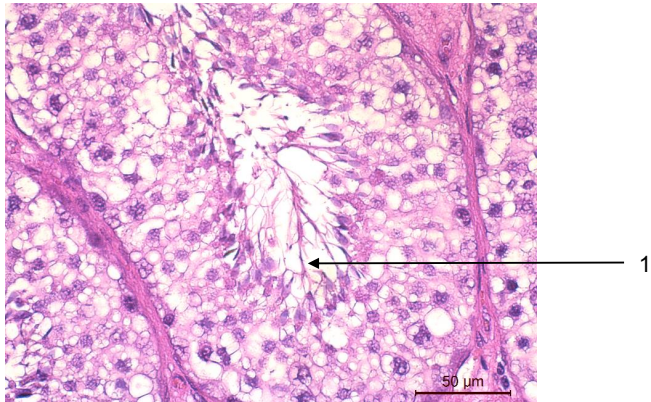


Abbildung 29: Histologischer Schnitt durch den linken Hoden von Ziegenbock Nr. 2 (Kontrollgruppe) in vierhundertfacher Vergrößerung. Es sind Spermatozoen (1) zu erkennen (HE-Färbung).

5 DISKUSSION

5.1 Diskussion der Fragestellung

Der Nutzen einer Kastration von Ziegenböcken zur Kontrolle der Fortpflanzung, zur Erleichterung der Haltung sowie zur Vermeidung von Verletzungen durch Rangkämpfe und zur Verbesserung von Fleisch- und Schlachtkörpereigenschaften ist unumstritten. Ziegen sind soziale Tiere, die im Herdenverband leben; die Abtrennung eines einzelnen Bockes zur Vermeidung der Fortpflanzung und eine damit verbundene Einzelhaltung ist zwar zeitweise tolerabel, für das Tier aber immer mit einer Einschränkung seiner Lebensqualität verbunden (Ganter et al. 2012). Die Vorteile, welche eine nicht-invasive Downregulation der Hodenfunktion gegenüber einer chirurgischen Kastration hinsichtlich des wesentlich geringeren Risikos von Narkose- und/oder Operations-Zwischenfällen und vor allem eine Reversibilität bieten würden, sind ebenfalls evident. Gerade bei Böcken, welche seltenen Rassen angehören, sollte vermieden werden, Tiere endgültig aus der Zucht zu nehmen, um die Genbasis der Rasse nicht weiter zu verengen.

Um die mögliche Bedeutung einer nicht-invasiven und reversiblen Unterdrückung der Gonadenfunktion beim Ziegenbock einschätzen zu können, lässt sich die Relevanz der Ziegenhaltung in Deutschland in Zahlen darlegen:

Zum Stichtag 01.03.2016 wurden 138810 Ziegen in 9808 Betrieben gehalten, somit im Schnitt 14,2 Tiere pro Betrieb (DESTATIS Statistisches Bundesamt 2017b). Bei 95 % der Ziegenhalter handelte es sich um Betriebe mit weniger als 50 Tieren (DESTATIS Statistisches Bundesamt 2017a); dieses spiegelt die Bedeutung von Hobbyhaltungen mit Interesse an am Einzeltier orientierten Lösungen hinsichtlich der Fortpflanzungsunterdrückung wider. Bei 88451 der in Deutschland gehaltenen Tiere handelte es sich um weibliche Ziegen für die Zucht, 50359 Tiere waren für anderen Verwendungszwecke, also hauptsächlich für die Fleischerzeugung oder die Hobbyhaltung, vorgesehen (DESTATIS Statistisches Bundesamt 2017b). 2017 wurden in Deutschland 400 Tonnen Ziegenfleisch produziert, im ersten Halbjahr 2018 200 Tonnen (DESTATIS Statistisches Bundesamt 2019). Weltweit wurden 2014 1,01 Milliarden Ziegen

gehalten (Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014).

In der Literatur finden sich eine Reihe von Untersuchungen zur reversiblen Unterdrückung der Hodenfunktion beim Schafbock (Bolt 1971; Bremner et al. 1976; Brown et al. 1994; Cui et al. 2003; Ferro et al. 2004; Fraser und Lincoln 1980; Gökdal et al. 2010; Goodwin et al. 2015; Han et al. 2015; Janett et al. 2003; Jeffcoate et al. 1982; Jiménez-Severiano et al. 2007; Karakuş et al. 2013; Kiyma et al. 2000; Lincoln et al. 1986; Lincoln und Fraser 1979; Oatley et al. 2005; Parthasarathy et al. 2002; Prestel 2017; Schanbacher 1982, 1985; Tilbrook et al. 1993; Ülker et al. 2005a, 2005b, 2009b; Yilmaz et al. 2018). Untersuchungen zur reversiblen Unterdrückung der Hodenfunktion beim Ziegenbock gab es zu Beginn der vorliegenden Untersuchung nur von drei Arbeitsgruppen (Godfrey et al. 1996; Kimsakulvech et al. 2015; Ülker et al. 2009a); zwischenzeitlich wurden die Ergebnisse zweier weiterer Studien veröffentlicht (Lents et al. 2018; Prestel 2017).

Godfrey et al. (1996) konnten mit einer Immunisierung gegen GnRH zwar die Fruchtbarkeit von adulten Ziegenböcken einschränken, jedoch nicht bei allen Versuchstieren aufheben. Zudem wurde in dieser Studie die Reversibilität der Methode nicht nachgewiesen, da auch über ein Jahr nach der Injektion keine Testosteronkonzentration im Blut einiger Tiere gemessen werden konnte. Bei juvenilen Ziegenböcken nutzten Ülker et al. (2009a) zur Immunisierung gegen GnRH das Fusionsprotein Ovalbumin-LHRH-7, welches die Produktion von Antikörpern gegen GnRH induzieren, die Testosteronproduktion unterdrücken und die Hodenentwicklung sowie die Spermatogenese hemmen konnte und damit einen vielversprechenden Ansatz lieferte. Es liegen auch hier keinerlei Untersuchungen hinsichtlich der Reversibilität der Methode vor; diese scheint besonders bei der Immunisierung juveniler Tiere höchst fraglich zu sein - Clarke et al. (1998) wiesen bei Schafböcken Jahre nach einer Immunisierung gegen GnRH eine signifikant verringerte Sekretion von GnRH nach, obgleich keine GnRH-Antikörper mehr gemessen werden konnten und in der Eminentia media der Hypophyse eine normale Konzentration an GnRH vorlag. Folge der verringerten GnRH-Sekretion waren eine merkliche Reduktion der Synthese und Sekretion von FSH und LH aus der Hypophyse. Clarke et al. (1998) vermuteten

als Ursache für diese Veränderungen eine erhöhte Permeabilität der Eminentia media in der neonatalen Periode und damit verbundene bleibende Veränderungen derselben als Reaktion auf die Immunisierung. Gestützt wird diese Theorie durch die Beobachtungen von Molenaar et al. (1993), welche bei im juvenilen Alter gegen GnRH immunisierten Ebern postmortal entzündliche Reaktionen, Gewebsuntergänge durch ödematöse Schwellungen sowie kollabierte Gefäße und Fibrosen in der Eminentia media darstellen konnten. Beruhend auf diesen Ergebnissen wäre eine Reversibilität der Auswirkungen der GnRH-Vakzination bei adulten Tieren möglich, bedarf aber weiterer Untersuchungen. Zudem konnte unter Verwendung des Fusionsprotein Ovalbumin-LHRH-7 zwar bei juvenilen Schaf- und Ziegenböcken die Spermienproduktion mindestens bis zur 37. Lebenswoche unterdrückt werden (Ülker et al. 2005a, 2009a, 2009b), jedoch konnte bei adulten Schafböcken keine vollständige Elimination der Spermatogenese erreicht werden (Yılmaz et al. 2018); von einem ähnlichen Effekt bei Ziegenböcken ist auszugehen.

Auch die nach Durchführung der vorliegenden Untersuchung veröffentlichten Ergebnisse von Lents et al. (2018) sind vielversprechend; hier konnte mittels der zweimaligen Injektion einer GnRH-Vakzine bei adulten Ziegenböcken eine Verringerung der Hodenmaße und bei den meisten Versuchstieren eine Azoospermie herbeigeführt werden; jedoch wurde von einzelnen Tieren ein zwar qualitativ schlechtes, aber vitale Spermien enthaltendes Ejakulat gewonnen. Zudem war die Zeitspanne von der ersten Injektion bis zum Vorliegen der Azoospermie mit bis zu 90 Tagen sehr lang und damit in der Praxis nur eingeschränkt geeignet, wenn ein erneuter Zuchteinsatz geplant ist. Ähnliche Berichte hatte es zuvor schon von der Tierart Pferd gegeben; auch hier konnten in einer Studie individuell sehr unterschiedliche Reaktionen adulter Hengste auf die Injektion einer GnRH-Vakzine beobachtet werden, reichend von keinerlei Reaktion auf die Behandlung bis zu ausbleibender Libido sexualis auch nach einem Jahr (Janett et al. 2009). Untersuchungen zur Reversibilität ihrer Methode beim Ziegenbock führten Lents et al. (2018) nicht durch.

Kimsakulvech et al. (2005) konnten mit dem α_1 -Adrenozeptor-Antagonisten Tamsulosin bei adulten Ziegenböcken eine Anejakulation bewirken, doch hielt

dieser Effekt jeweils nur wenige Stunden nach der Applikation an – für den dauerhaften Einsatz in der Tierhaltung ist diese Methode demnach ungeeignet. Bei Prestel (2017) bewirkte ein GnRH-Implantat, welches bei anderen Tierarten bereits erfolgreich eingesetzt wird (Fontaine 2015; Goericke-Pesch et al. 2014; Goericke-Pesch und Wehrend 2009; Kauffold et al. 2010; Schoemaker et al. 2008), nicht bei allen Versuchstieren eine Unterdrückung der Hodenfunktion und stellte sich damit ebenfalls als ungeeignete Methode heraus.

Ziel der eigenen Untersuchung war es daher, mit der Altrenogest-Applikation eine weitere Möglichkeit zur temporären Downregulation der Gonadenfunktion beim adulten Ziegenbock zu überprüfen. Hierfür wurden neben den Spermauntersuchungen auch sonographische Untersuchungen der Hoden durchgeführt sowie Hormonwerte im Blut bestimmt, um die Auswirkung der Altrenogest-Applikation auf die Fruchtbarkeit möglichst genau zu beschreiben. Ein besonderes Augenmerk wurde zudem auf die Reversibilität der Methode gelegt, indem sich an den Versuchszeitraum ein Beobachtungszeitraum mit anschließender chirurgischer Kastration sowie histologischer Untersuchung der Hoden anschloss. Außerdem wurden während der gesamten Studie körperliche Parameter der Tiere erfasst, um die Folgen der Behandlung hinsichtlich der Masteingenschaften der Tiere einschätzen zu können.

Der Einsatz von Altrenogest ist deshalb so reizvoll, da dieser Wirkstoff bereits für Schweine und Pferde zugelassen und auf dem Markt ist; für den Einsatz beim Ziegenbock ist daher nur eine Umwidmung notwendig.

5.2 Diskussion der Methode

Für die vorliegende Untersuchung wurden ausschließlich geschlechtsreife, gleichaltrige Ziegenböcke derselben Rasse ausgewählt. Voraussetzung für die Auswahl der Versuchstiere war, dass diese einer repräsentativen Rasse mit einer guten Fruchtbarkeit angehören mussten. Die Pfauenziege ist in Deutschland als Herdbuchrasse anerkannt. Es handelt sich um eine Mehrnutzungsrasse, die vorwiegend zur Fleischgewinnung, aber auch als Milchziege und zur Landschaftspflege gehalten wird. Pfauenziegen gelten als gesund, robust und verfügen über ein gutes Sozialverhalten, was für die im Versuchsaufbau

vorgesehene Gruppenhaltung der geschlechtsreifen Böcke von großer Wichtigkeit war. Die Tiere stammten aus lediglich zwei Herkunftsbetrieben, wodurch sichergestellt werden konnte, dass sie möglichst ähnlich aufgewachsen waren. Von allen Tieren konnten vor Beginn der Studie Ejakulate gewonnen werden.

Durch die Aufstallung der Ziegenböcke innerhalb der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität in Gießen konnten Haltung und Fütterung der Tiere standardisiert sowie alle Untersuchungen stets von denselben Personen unter den immer gleichen Bedingungen durchgeführt werden. Die körperlichen Parameter wurden bei jeder Untersuchung mithilfe derselben Geräte ermittelt.

Die Menge des oral applizierten Gestagens beziehungsweise des Placebos wurde regelmäßig an das aktuelle Körpergewicht der Tiere angepasst. Es wurde die doppelte für Stuten empfohlene Dosis gewählt, da in mehreren zuvor am adulten Hengst durchgeführten Studien nur so Effekte auf die Gonadenfunktion beobachtet werden konnten (Miller et al. 1997; Squires et al. 1998; Zehnder et al. 2006).

Die sonographischen Untersuchungen wurden am stehend fixierten Tier durchgeführt. Um Hautirritationen und möglicherweise daraus resultierende Empfindlichkeiten im Bereich der Hoden, verbunden mit Problemen bei der Ejakulatgewinnung, zu vermeiden, wurden die Hoden nicht für jede Untersuchung rasiert, sondern lediglich großzügig mit Alkohol benetzt.

Um eine objektivierbare Beurteilung der Ultraschallbilder zu ermöglichen, wurde eine eindimensionale Grauwertanalyse unter standardisierten Einstellungen des Ultraschallgerätes durchgeführt. Mithilfe der Grauwertanalyse wird der Informationsgewinn aus Ultraschallbildern maximiert, indem auch geringste Veränderungen der Echogenität, welche für das menschliche Auge nicht sichtbar sind, errechnet werden. Zudem werden die Ultraschallbilder durch die Grauwerte reproduzierbar beschrieben; diese objektive Aufbereitung der Daten verhindert individuelle, durch den Untersuchenden bedingte Schwankungen in der Einschätzung der Echogenität der untersuchten Strukturen. Allerdings können Grauwerte nur miteinander verglichen werden, wenn sie unter streng

standardisierten Bedingungen ermittelt wurden, was den breiten Einsatz dieser Methode in der Praxis erschwert.

Eine Schwierigkeit stellte es dar, die anfangs sehr scheuen Ziegenböcke an die Ejakulatgewinnung zu gewöhnen. Hierfür wurden die Tiere zunächst mehrere Wochen lang mit dem Handling durch den Menschen vertraut gemacht und mit der Datenerhebung erst begonnen, nachdem alle Tiere bereits mehrfach erfolgreich abgesamt worden waren. Die Absamungen wurden jedes Mal am selben Ort durchgeführt, um die Tiere möglichst wenig zu irritieren; dennoch konnten nicht zu allen Untersuchungszeitpunkten von allen Tieren Ejakulate gewonnen werden. Um eine durch äußere Einflüsse nicht erfolgte Ejakulation von einer Anejakulation, bedingt durch eine nicht vorhandene Spermatogenese, zu unterscheiden, wurde ein ganz besonderes Augenmerk auf das Verhalten der Tiere gelegt und diese Beobachtungen durch die Erhebung des Libidoscores objektiviert.

Die spermatologischen sowie histologischen Untersuchungen wurden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die labordiagnostischen Untersuchungen erfolgten ebenfalls nach standardisiertem Verfahren; bei auffällig hohen oder niedrigen Werten wurde zur Absicherung eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Für die vorliegende Untersuchung standen mit vier Versuchs- sowie vier Kontrolltieren nur relativ wenige Tiere zur Verfügung. Vor dem Hintergrund der grundlegenden Fragestellung, ob eine Applikation von Altrenogest eine Downregulation der Gonadenfunktion beim Ziegenbock bewirken kann, sind die gewonnenen Ergebnisse dennoch als aussagekräftig zu beurteilen, da nur ein hundertprozentiger Erfolg der Behandlung bei allen Tieren ein ernsthaftes Interesse an der weiteren Verfolgung der Methode als Alternative zur chirurgischen Kastration zur Folge gehabt hätte. Auch wurde mit sieben Wochen ein relativ kurzer Versuchszeitraum ausgewählt, da zum einen davon ausgegangen wurde, im Erfolgsfall während dieser Zeitspanne zumindest anfängliche Veränderungen der untersuchten Parameter beobachten zu können, und zum anderen eine längere Zeitspanne bis zum Eintreten des gewünschten Effektes als in für die Praxis nicht akzeptabel eingeschätzt wurde.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Körperliche Parameter

Bei den körperlichen Parametern Körpergewicht, Körperlänge und Widerristhöhe erfolgte ein Anstieg während der Untersuchung. Dieses ist damit zu erklären, dass die Ziegenböcke zu Versuchsbeginn noch nicht vollständig ausgewachsen waren.

Insgesamt hatte die Behandlung keinen signifikanten Effekt auf die Gewichtsentwicklung der Tiere. Die Böcke waren zu Beginn der Studie acht Monate alt, am Ende des Beobachtungszeitraumes elf Monate. In dieser Zeit nahmen die Tiere der Versuchsgruppe durchschnittlich 81,76 g pro Tag zu, die Tiere der Kontrollgruppe 98,82 g. Studien zu physiologischen Tageszunahmen der Rasse Pfauenziege in diesem Altersabschnitt liegen nicht vor, jedoch befinden sich die ermittelten Zunahmen sowohl sehr nah an den Ergebnissen einer Untersuchung von Bilaspuri und Singh (1992), die bei indischen Ziegenböcken im Alter zwischen vier und elf Monaten eine durchschnittliche tägliche Zunahme von 98,7 g ermittelten, als auch an den Ergebnissen von Madani und Rahal (1988), die bei Ziegenböcken einer syrischen Kreuzungsrasse im Alter zwischen fünf und zehn Monaten eine durchschnittliche tägliche Zunahme von 93 ± 8 g für im August geborene Tiere und $88,9 \pm 8,6$ g für im Januar geborene Tiere feststellten.

Ähnliche Ergebnisse wurden für die Körperlänge und die Widerristhöhe ermittelt; zu Beginn der Untersuchung wiesen beide Gruppen dieselbe Körperlänge auf, und auch am Ende des Versuchszeitraumes bestand lediglich ein Unterschied von 0,5 cm zwischen beiden Gruppen. Die Widerristhöhen waren ebenfalls sowohl zu Beginn als auch am Ende des Versuchszeitraumes fast identisch.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass Altrenogest, welches an männliche Ziegen während der Wachstumsphase verabreicht wird, keine deutlich negativen Auswirkungen auf die körperliche Entwicklung zu haben scheint, aber auch keinen anabolen Effekt besitzt. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen, die Kluber et al. (1985) bei Ebern gemacht haben.

5.3.2 Hodenparameter

Auch bei Hodenlänge, -tiefe und -breite sowie dem Hodenvolumen liegen die Werte der Kontrolltiere von Anfang an leicht über denjenigen der Versuchstiere. Insgesamt ist die Tendenz bei diesen Werten bei beiden Gruppen abfallend, dieses lässt sich mit der jahreszeitlich bedingten Zunahme der Tageslichtlänge erklären: Delgadillo et al. (2004) wiesen nach, dass sich das Hodengewicht bei Ziegenböcken mit steigender Tageslichtlänge verringert. In gemäßigten Klimazonen gehaltene Ziegen weisen immer eine Saisonalität und eine damit verbundene Schwankung von Verhaltens-, Hoden- und Ejakulatparametern auf (siehe Übersicht bei Bostedt 2001). Davon abweichend ist nachgewiesen, dass bei unter subtropischen Bedingungen gehaltenen Ziegenböcken die Zuchtsaison früher einsetzt (Delgadillo et al. 2004). Für die im subtropischen Klima auf den zu Japan gehörenden Tokara-Inseln gezüchteten Tokara-Ziegen und für unter tropischen Bedingungen gehaltene Creole-Ziegen konnte sogar eine Asaisonalität nachgewiesen werden (Chemineau et al. 1986; Nishimura et al. 2000). Saisonal bedingte, signifikante Unterschiede liegen sowohl bei Qualität als auch in der Quantität des Ejakulates verschiedener, in gemäßigten Klimazonen gehaltener Ziegenrassen vor (Karagiannidis et al. 2000). Nichtsdestotrotz ist die Gewinnung von befruchtungsfähigem Ejakulat zu jeder Jahreszeit, sowohl innerhalb als auch außerhalb der Zuchtsaison, möglich (Karagiannidis et al. 2000).

Bei der Versuchsgruppe fallen die Werte für Hodenlänge, -tiefe und -breite sowie für das Hodenvolumen während des Versuchszeitraumes etwas stärker ab, sodass hier ein Effekt der Altrenogest-Applikation vorzuliegen scheint. Obgleich die in der vorliegenden Untersuchung festgestellten Veränderungen der Hodengrößen wesentlich geringer ausfallen, deckt sich diese Beobachtung doch mit den Ergebnissen von Kluber et al. (1985) und Squires et al. (1997), die nach oraler Applikation von Altrenogest an Eber beziehungsweise Hengste eine progressive Abnahme der Hodengröße ermittelten. Die Veränderungen dieser Hodenparameter sind insofern von besonderer Bedeutung, als dass Kastelic et al. (2001) bei Bullen eine positive lineare Regression des Skrotumumfangs mit der Spermienbeweglichkeit sowie eine negative lineare Regression des

Skrotumumfangs mit primären Spermiendefekten festgestellt haben und diesen somit als guten Indikator für reproduktives Potential ausmachen konnten.

Die teilweise ermittelten Unterschiede zwischen dem rechten und dem linken Hoden lassen sich sowohl mit der biologischen Variabilität als auch mit der verwendeten Messtechnik am zwar fixierten, aber nicht sedierten und damit sich bewegendes Tier erklären. Besonders bei der Messung der Breite der Hoden kommt zudem vermutlich eine Messungenauigkeit hinzu, da die Hoden bei Ziegenböcken anatomisch sehr nah aneinander liegen. Die deutliche Schwankung der Entwicklung der Hodenlänge bei der Kontrollgruppe wird vor allem durch die Messung bei Ziegenbock Nr. 5 am Zeitpunkt 4 verursacht. Hier wurden beidseits Hodenlängen gemessen, die 2,5 cm länger waren als am Zeitpunkt zuvor. Das Vorliegen eines Messfehlers ist hier wahrscheinlich.

Aufgrund des geringen Stichprobenumfanges statistisch nicht signifikant, klinisch aber deutlich fallen die Ergebnisse bezüglich der Hodenkonsistenz aus: Während die Hoden der Kontrolltiere stets prall-elastisch waren, veränderte sich die Konsistenz der Hoden von drei Versuchstieren unter der Behandlung von prall-elastisch zu weich-elastisch bis weich, um während des Beobachtungszeitraumes wieder praller und elastischer zu werden. Es kann hier also bei einem Teil der Versuchstiere ein Effekt der Altrenogestgabe vermutet werden. Da dieser jedoch statistisch nicht signifikant war, bleibt die Frage der Ursächlichkeit unbeantwortet.

5.3.3 Hodensonographie und Grauwertanalyse

Da der Hoden ein für die Sonographie gut zugängliches Organ ist, stellt die Hodensonographie eine nichtinvasive und sensitive Methode da, mit deren Hilfe Veränderungen am Hoden beobachtet werden können (Abdel-Razek und Ali 2005; Ahmad und Noakes 1995; Gärtner et al. 1998; Kastelic und Brito 2012; Scott und Sargison 2010; Ülker et al. 2009a, 2009b). Die im Rahmen dieser Untersuchung bei den Versuchs- und Kontrolltieren festgestellten Ultraschallbefunde entsprechen dem physiologischen Bild bei adulten Wiederkäuern, wie es in der Literatur bei Ziegenböcken (Ahmad et al. 1991; Jeyakumar et al. 2013; Ülker et al. 2009a), Schafböcken (Ahmad et al. 1991;

Ülker et al. 2009b) und Bullen (Abdel-Razek und Ali 2005; Gábor et al. 1998; Pechmann und Eilts 1987) beschrieben ist. Nicht bestätigt werden konnte die Beobachtung von Gouletsou et al. (2003), wonach nur bei 87 % der untersuchten Schafböcke innerhalb der Zuchtsaison sowie bei 78 % außerhalb der Zuchtsaison das Mediastinum dargestellt werden konnte, da das Mediastinum in der vorliegenden Untersuchung stets darstellbar war. Zudem konnte zu keinem Zeitpunkt eine zunehmende Hypoechogenität festgestellt werden, wie sie zum Beispiel von Ülker et al. (2005a) bei Schafböcken nach einer Immunisierung gegen GnRH beobachtet wurde. Bei der später folgenden histologischen Untersuchung konnte bei allen Tieren histologisch funktionelles Hodengewebe festgestellt werden; dieses bestätigt die in der Literatur zu findende Korrelation zwischen der Echotextur von Hoden im Ultraschall und dem histologischen Erscheinungsbild (Gábor et al. 1998).

Bei der Grauwertanalyse wurden Mittelwerte für den mittleren Grauwert zwischen $20,4 \pm 3,99$ und $23,79 \pm 2,09$ für die Kontrollgruppe und $18,03 \pm 5,03$ und $24,58 \pm 1$ für die Versuchsgruppe gemessen. Bei beiden Gruppen liegen keine starken Schwankungen der Grauwerte vor und die Kurvenverläufe der Gruppen ähneln sich. Dieses bestätigt, dass die Ziegenböcke zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns ihre pubertäre Entwicklung bereits abgeschlossen hatten; wären die Hoden noch nicht voll ausgereift gewesen, hätte ein deutlicher Anstieg der Graustufen beobachtet werden können (Chandolia et al. 1997; Evans et al. 1996; Gábor et al. 1998; Graue 2002). Die Grauwerte bestätigen und objektivieren die subjektiv festgestellte homogene Echogenität der Ultraschallbilder beider Gruppen zu allen Zeitpunkten.

Die ermittelten Grauwerte können bei dem verwendeten Ultraschallgerät und unter Verwendung der weiter oben genannten Einstellungen als Normwerte für adulte Ziegenböcke im Winter betrachtet werden. Sie liegen etwas oberhalb der Werte, die Prestel (2017) unter Verwendung desselben Ultraschallgerätes und derselben Einstellungen bei juvenilen Ziegenböcken im Sommer (Zeitraum März bis August, Werte zwischen $16 \pm 2,9$ und $22,9 \pm 1,4$) ermittelten. Die höheren Werte lassen sich vermutlich dadurch erklären, dass es sich bei der vorliegenden Studie um adulte Tiere handelt (Chandolia et al. 1997; Evans et al. 1996; Gábor

et al. 1998; Graue 2002).

Auffällig ist, dass die in dieser Untersuchung ermittelten Grauwerte deutlich unter denen liegen, welche Graue (2002) bei adulten Bullen festgestellt hat; hier wurden bei Tieren im vergleichbaren Alter Werte von $57,9 \pm 1,4$ ermittelt. Diese Tatsache zeigt erneut auf, dass Grauwerte nur dann miteinander verglichen werden dürfen, wenn sie unter streng standardisierten Bedingungen ermittelt wurden. Es können nach aktuellem Wissenstand weder Grauwerte von verschiedenen Tierarten miteinander verglichen werden, noch solche, die mit unterschiedlichen Geräten oder mit unterschiedlichen Einstellungen desselben Gerätes gemessen wurden.

Die Kenntnis der physiologischen Grauwerte ist von besonderer Bedeutung, da Kastelic et al. (2001) eine positive lineare Regression zwischen dem Grauwert der Hoden und der täglichen Spermienproduktion bei adulten Bullen festgestellt haben; Kauffold et al. (2011) belegten bei adulten Ebern eine positive Korrelation zwischen dem vor der Ejakulation gemessenen Grauwert des Nebenhodenkopfes mit der Gesamtspermienzahl und dem Ejakulatvolumen sowie eine negative Korrelation des nach der Ejakulation gemessenen Grauwertes des Nebenhodenkopfes mit der Spermienkonzentration. Die Grauwertanalyse könnte somit in Zukunft eine wertvolle Ergänzung für die Zuchttauglichkeitsuntersuchung darstellen. Weitere Untersuchungen, unter anderem hinsichtlich der Übertragbarkeit der ermittelten Werte bei Verwendung anderer Ultraschallgeräte unter standardisierten Einstellungen, zu anderen Jahreszeiten sowie bei verschiedenen Ziegenrassen und bei Tieren unterschiedlichen Alters, sind hier notwendig.

5.3.4 Testosteronkonzentration

Aufgrund der physiologisch pulsatil erfolgenden Freisetzung von Testosteron aus den Leydigzellen des Hodens ist die Aussagekraft der hier durchgeführten einmaligen Testosteronbestimmung pro Untersuchungszeitpunkt ohne vorherige Stimulation als vorsichtig zu betrachten. Die Testosteronkonzentration im Plasma der Ziegenböcke verlief schwankend und ohne klar erkennbare Tendenz. Die Mittelwerte zu den verschiedenen Zeitpunkten bewegten sich zwischen $1,73 \pm$

0,57 und $7,4 \pm 12,43$ nmol/l für die Kontrollgruppe und $1,25 \pm 0,7$ und $16,08 \pm 10,68$ nmol/l für die Versuchsgruppe und liegen damit ungefähr in dem Bereich, welchen Giriboni et al. (2017) zur selben Jahreszeit bei geschlechtsreifen Ziegenböcken feststellten: Hier wurden für Böcke mit dauerhaftem Kontakt zu weiblichen Tieren Werte von $6,4 \pm 2,2$ nmol/l gemessen. Liu et al. (2015) stellten ebenfalls bei adulten Ziegenböcken Werte zwischen 9,15 und 10,29 nmol/l fest; zu welcher Jahreszeit diese Werte gemessen wurde, ist nicht angegeben. Ausgedrückt in ng/ml liegen die Mittelwerte für die Kontrollgruppe zwischen $0,5 \pm 0,14$ und $2,15 \pm 3,58$ ng/ml und für die Versuchsgruppe zwischen $0,38 \pm 0,17$ und $4,63 \pm 3,09$ ng/ml und damit in demselben Bereich, den Barreto de Souza et al. (2011) für Ziegenböcke im selben Alter ermittelt haben ($2,2 \pm 2,2$ ng/ml). Weiterhin sind die in der vorliegenden Studie gemessenen Ergebnisse jeweils etwas unterhalb der Werte zwischen 0,4 und 9,9 ng/ml, die Prestel (2017) bei juvenilen Ziegenböcken gemessen hat; dieses deckt sich mit den Beobachtungen von Chakraborty et al. (1989), die bei Ziegenböcken einen Anstieg der Testosteronwerte während der Pubertät bis zu einem maximalen Wert mit 32 Wochen feststellten; bei adulten Böcken fallen die Werte dann physiologisch wieder etwas ab. Zum Zeitpunkt 7, im Alter von elf Monaten, hatten die Böcke der Versuchsgruppe eine durchschnittliche Testosteronkonzentration von $1,68 \pm 1,63$ ng/ml und die Kontrolltiere eine durchschnittliche Konzentration von $4,63 \pm 3,09$ ng/ml; in exakt demselben Alter stellten Chakraborty et al. (1989) bei Ziegenböcken einen Wert von $1,42 \pm 0,4$ ng/ml fest. Diese Messungen wurden allerdings später im Jahr durchgeführt, hierdurch lassen sich die insgesamt etwas niedrigeren Werte erklären: Delgadillo et al. (2004) wiesen bei adulten Ziegenböcken, denen mittels eines Lichtprogrammes konstant 14 Stunden Licht am Tag zur Verfügung gestellt wurde, eine niedrigere Testosteronkonzentration ($2,8 \pm 0,6$ ng/ml) nach als bei Tieren, die täglich nur 10 Stunden Licht bekamen ($13 \pm 3,6$ ng/ml).

Ein deutliches und bleibendes Abfallen der Testosteronkonzentration auf Werte unterhalb des Ausgangswertes, wie sie Kluber et al. (1985, 1988) nach der Applikation von Altrenogest an Eber sowie Squires et al. (1997) nach der Applikation von Altrenogest an Hengste beobachteten, liegt bei den behandelten

Ziegenböcken nicht vor. Dieses steht im Gegensatz zu den erniedrigten Testosteronwerten, welche in der Literatur mit immunologischen Methoden zur Unterdrückung der Hodenfunktion erreicht werden konnten, beispielsweise mit der passiven Immunisierung gegen GnRH beim Schafbock (Lincoln und Fraser 1979) oder der aktiven Immunisierung gegen GnRH beim Ziegenbock (Godfrey et al. 1996) und beim Schafbock (Brown et al. 1994; Cui et al. 2003; Janett et al. 2003; Jeffcoate et al. 1982; Schanbacher 1982; Ülker et al. 2009b).

Die bei dem kryptorchiden Ziegenbock Nr. 1 ermittelten Testosteronwerte lagen im gleichen Bereich wie diejenigen der anderen Ziegenböcke. Dieser Befund deckt sich mit in der Literatur beschriebenen Beobachtungen bei kryptorchiden Schafböcken (Schanbacher und Ford 1977; Schanbacher 1980).

5.3.5 Spermatologische Parameter

Die statistische Auswertung der spermatologischen Parameter wird erschwert durch den mit vier Tieren pro Gruppe geringen Stichprobenumfang, die teilweise vorkommenden Anejakulationen sowie die von Anfang an vorhandenen individuellen, starken Unterschiede zwischen den Tieren. Betrachtet man die Ergebnisse für das Ejakulatvolumen, so scheinen kaum Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zu bestehen. Berücksichtigt werden muss jedoch das stark unterschiedliche Ansprechen der Versuchstiere auf die Behandlung: Während zwei der Versuchstiere (Tiere Nr. 6 und 7) trotz Altrenogest-Applikation tierartspezifische Ejakulatmengen in zufriedenstellender Qualität absetzen, konnte von den anderen beiden Tieren der Versuchsgruppe (Tiere Nr. 1 und 4) während des gesamten Versuchszeitraumes und darüber hinaus auch während großer Abschnitte des Beobachtungszeitraumes kein Ejakulat gewonnen werden; erst am Zeitpunkt 7 setzten beide Tiere wieder eine kleine Menge Ejakulat ab. In Verbindung mit der Auswertung des Libidoscores zeigen sich hier deutlich die Auswirkungen der Behandlung. Die bei diesen beiden Tieren gemachten Beobachtungen übertreffen diejenigen von Johnson et al. (1998) sowie Squires et al. (1997), welche Altrenogest in derselben Dosierung an Hengste verabreichten, wie es in der vorliegenden Untersuchung bei Ziegenböcken gemacht wurde, und eine Abnahme der täglichen Ejakulatmenge

und der Spermien Gesamtzahl beobachten konnten.

Die individuellen Unterschiede im Ansprechen der Ziegenböcke auf die Behandlung mit Altrenogest müssen bei der Betrachtung aller spermatologischen Parameter berücksichtigt werden, da die guten Ejakulate zweier Versuchstiere die Gesamtergebnisse beider Gruppen näher beieinander liegend erscheinen lassen, als es die individuelle Betrachtung der Daten der einzelnen Tiere tut. Die bei den Versuchstieren zumeist höhere Gesamtspermienzahl erklärt sich aus den stets sehr guten Werten der Tiere Nr. 6 und 7 und den nicht vorhandenen Ejakulaten der Tiere 1 und 4, für die folgerichtig keine Gesamtspermienzahl bestimmt werden konnte.

Besonders auffällig sind die vermehrt auftretenden pathologischen Veränderungen in den Ejakulaten der Versuchstiere. Es konnten vor allem Kopf- und Schwanzanomalien festgestellt werden; dieses deckt sich ebenfalls mit den Beobachtungen von Johnson et al. (1998) und Squires et al. (1997), die bei Hengsten nach Behandlung mit Altrenogest einen signifikanten Anstieg von Kopf- sowie Schwanz- und Mittelteilanomalitäten feststellten. In den erwähnten Studien konnte eine Reversibilität dieser Veränderungen beobachtet werden, und auch in der vorliegenden Untersuchung gingen die pathologischen Veränderungen im Ejakulat der Versuchstiere wieder zurück, wenn auch erst am Ende des Beobachtungszeitraumes. Damit scheinen die Veränderungen an den Ejakulaten ebenso reversibel zu sein wie diejenigen, die nach einer aktiven Immunisierung gegen GnRH bei Schafböcken beobachtet wurden (Janett et al. 2003).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass eine zuverlässige Unterdrückung der Fortpflanzung beim Ziegenbock durch die Gabe von Altrenogest nicht gelungen ist, da nicht bei allen behandelten Tieren die Ejakulation unterdrückt werden konnte. Eine sichere Methode der Fortpflanzungsunterdrückung erfordert eine nahezu einhundertprozentige Sicherheit. Der Mechanismus, mit dem Altrenogest zur Induktion einer Pathospermie führt, sollte in weitergehenden Untersuchungen beleuchtet werden.

5.3.6 Libidoscore

Insgesamt zeigt die Kontrollgruppe eine stärker ausgeprägte Libido sexualis als

die Versuchsgruppe. Während zum Zeitpunkt 1 bei beiden Gruppen eine gut ausgeprägte Libido vorlag, nahm diese bei den Versuchstieren unter der Behandlung ab. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen von Zehnder et al. (2006), die bei einem Zebrahengst eine deutliche Verminderung der Libido nach oraler Applikation von 0,088 mg/kg Altrenogest beobachteten. Eine Dosis von 0,044 mg/kg, wie sie für Stuten empfohlen wird, hatte in der genannten Studie hingegen keinerlei Auswirkungen auf das Verhalten des Hengstes.

Der Libidoscore der Versuchsgruppe liegt nicht nur während des Versuchszeitraumes unter dem der Kontrollgruppe, sondern auch darüber hinaus. Auch dieses Phänomen wurde zuvor schon von Johnson et al. (1998) und von Squires et al. (1997) bei Hengsten beschrieben. Die Autoren vermuteten hier aufgrund der deutlichen, auch über die Behandlung hinaus anhaltenden Reduktion der Libido sexualis ein erlerntes Verhalten. In der eigenen Untersuchung stieg die Libido sexualis der Versuchsgruppe zum Ende des Beobachtungszeitraumes hin wieder an, sodass beim Ziegenbock eine Reversibilität der mit der Gestagen-Applikation hervorgerufenen Verhaltensänderung vorzuliegen scheint.

5.3.7 Histologische Untersuchung

Mithilfe der histologischen Untersuchung konnten am Ende des Beobachtungszeitraumes in beiden Hoden aller Tiere Spermien nachgewiesen werden. Die einzige Ausnahme stellt der rechte, intraabdominal gelegene Hoden von Ziegenbock Nr. 1 dar; das histologische Bild dieses Hodens entspricht dem in der Literatur beschriebenen histologischem Erscheinungsbild kryptorchider Hoden (Huff et al. 1993; Mechlin und Kogan 2014).

Der durchschnittliche innere Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti der Kontrollgruppe lag mit $205,64 \pm 22,3 \mu\text{m}$ leicht über dem der Versuchsgruppe ($201,86 \pm 46,78 \mu\text{m}$); die Differenz lässt sich durch das histologische Ergebnis des intraabdominalen Hodens von Ziegenbock Nr. 1 erklären, in welchem deutlich geringere Tubulusdurchmesser als in den übrigen Schnitten gemessen wurden (durchschnittlicher Durchmesser $96,68 \mu\text{m}$). Diese Ergebnisse haben bei der relativ kleinen Probenzahl entsprechende Auswirkungen auf das

Gesamtergebnis der Gruppe, sind aber auf den Kryptorchismus und nicht auf die Gestagen-Applikation zurückzuführen. Die errechneten Werte liegen leicht unterhalb der Messungen, die Delgadillo et al. (1995) bei adulten Ziegenböcken jeweils während der Zuchtsaison ($221\text{ }\mu\text{m}$) und außerhalb der Zuchtsaison ermittelt haben ($211\text{ }\mu\text{m}$) sowie oberhalb der Messungen von Bongso et al. (1982), die bei neun Monate alten Tieren einen durchschnittlichen Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti von $174,5 \pm 11,0\text{ }\mu\text{m}$ feststellten. Nishimura et al. (2000) maßen bei sechs Monate alten Ziegenböcke einen durchschnittlichen Durchmesser von $198 \pm 1\text{ }\mu\text{m}$.

Nicht bestätigt werden konnten die von Okpe und Ezeasor (2016) gemachten Beobachtungen, nach denen der skrotale Hoden eines einseitig kryptorchiden Ziegenbockes signifikant höhere Tubulusdurchmesser als die beidseits abgestiegenen Hoden gesunder Tieren vorwies. Mit $228,08\text{ }\mu\text{m}$ lag der durchschnittliche Durchmesser der Hodentubuli des skrotalen Hodens von Ziegenbock Nr. 1 zwar im oberen gemessenen Bereich, der Maximalwert von $229,56\text{ }\mu\text{m}$ wurde aber im rechten Hoden von Ziegenbock Nr. 7 gemessen.

In Studien zur Unterdrückung der Hodenfunktion durch immunologische Verfahren, bei denen die histologische Untersuchung direkt im Anschluss an den Versuchszeitraum durchgeführt wurde, zeigten die Hoden ein anderes histologisches Erscheinungsbild: So konnte unter anderem Prestel (2017) bei juvenilen Ziegenböcken, die ein GnRH-Implantat bekommen hatte, histologisch bei einem von drei Versuchstieren keine Spermatogenese darstellen. Robertson et al. (1982) stellten bei Bullen, welche zuvor gegen GnRH immunisiert worden waren, eine partielle Atrophie sowie verzerrte Formen und verringerte Durchmesser der Tubuli seminiferi contorti und eine verringerte Anzahl an Spermatogonien fest. Kiyama et al. (2000) wiesen nach einer GnRH-Immunisierung bei Schafböcken ebenfalls verringerte Tubulus-Durchmesser sowie bei einigen Tieren sogar eine vollständige Abwesenheit von Spermatozoen nach; ähnliche histologische Ergebnisse erzielten Ferro et al. (2004) bei Schafböcken nach einer GnRH-Vakzination sowie Ülker et al. (2009a, 2009b) bei Schaf- und Ziegenböcken, die zuvor mit einem rekombinanten GnRH-Fusionsprotein behandelt worden waren.

5.4 Schlussfolgerungen für die Praxis

Die einfache Anwendung des bereits für Schweine und Pferde zugelassenen Präparates hat sich in der vorliegenden Studie bestätigt. Durch die orale Applikation ist das Verfahren nicht invasiv und es konnten keine unerwünschten Arzneimittelwirkungen an den Tieren festgestellt werden. Auch zeigte die Behandlung keine deutlichen Auswirkungen auf die körperliche Entwicklung der Ziegenböcke. Das sonographische Erscheinungsbild der Hoden veränderte sich nicht, die im Ultraschallbild gemessenen Grauwerte sowie die im Blut gemessenen Testosteronwerte blieben im Gruppendurchschnitt ebenfalls unbeeinflusst. Hinsichtlich der Hodenkonsistenz und der Ejakulatmengen zeigten die Versuchstiere ein individuell sehr unterschiedliches Ansprechen auf die Behandlung; die Libido sexualis ging insgesamt bei allen Versuchstieren zurück, die Anzahl pathologisch veränderten Spermien im Ejakulat war im Gruppenvergleich insgesamt erhöht. Auffällig war der Zusammenhang zwischen Hodenkonsistenz und Anejakulation: Bei den Versuchstieren Nr. 1 und 4 wurde neben einer deutlich weicheren Konsistenz der Hoden auch eine Anejakulation während des Behandlungszeitraumes beobachtet. Versuchstier Nr. 7 zeigte nur zeitweise eine weichere Hodenkonsistenz und konnte während des gesamten Versuchszeitraumes erfolgreich abgesamt werden, jedoch lagen im Vergleich zu den Kontrolltieren eine schlechtere Massenbewegung der Spermien, ein geringerer Anteil lebender Spermien sowie ein höherer Anteil pathologisch veränderter Spermien vor. Das Versuchstier Nr. 6 zeigte weder in der Hodenkonsistenz noch in den Spermaparametern eine Reaktion auf die Behandlung.

Ausschlaggebend für das individuell unterschiedliche Ansprechen der Ziegenböcke auf die Behandlung könnten unter anderem Fehler bei der Verabreichung des Altrenogests sein. Dieses kann jedoch weitestgehend ausgeschlossen werden, da die orale Gabe stets von mir selbst sowie stets zur gleichen Tageszeit durchgeführt wurde. Die Medikamentenapplikation wurde von den Ziegenböcken zudem problemlos akzeptiert, sodass dieses als Ursache unwahrscheinlich erscheint.

Die Bioverfügbarkeit eines Arzneimittels wird durch dessen physikalische und

chemische Eigenschaften, durch die Freisetzung aus der jeweils vorliegenden Darreichungsform, durch die Resorption des Arzneimittels und den First-Pass-Effekt bestimmt. Der First-Pass-Effekt bezeichnet die Metabolisierung eines Arzneimittels in der Leber vor Erreichen des systemischen Kreislaufes (siehe Übersicht bei Fink und Frey 2016). Bei der oralen Applikation eines Wirkstoffes kommt der enteralen Resorption eine besondere Bedeutung zu. So kann die Resorption einer Substanz durch eine verminderte intestinale Durchblutung, durch den Füllungszustand des Magens, durch die Geschwindigkeit der Magenentleerung und die Darmmotilität und die damit verbundenen Verweildauer im Gastrointestinaltrakt beeinflusst werden. Bei Wiederkäuern wird die Resorption aus dem großvolumigen Pansen besonders durch die dort stattfindende starke Verdünnung verlangsamt. Zudem können Wirkstoffe durch das im Pansen herrschende mikrobielle Milieu inaktiviert werden (siehe Übersicht bei Fink und Frey 2016).

Hegger (2005) wies bei Pferden deutliche individuelle Unterschiede hinsichtlich der Metabolisierung und Elimination von Altrenogest nach: Bei drei von zehn Pferden war bereits 20 Stunden nach mehrtägiger oraler Applikation von 0,044 mg/kg Altrenogest kein Plasmaspiegel mehr nachweisbar, bei zwei Pferden konnte noch nach 48 Stunden ein Wirkstoffspiegel gemessen werden. Auch die gemessenen Höchstkonzentrationen variierten deutlich. Nach der oralen Applikation von 0,088 mg/kg Altrenogest konnten hingegen bei allen Pferden Plasmakonzentrationen von Altrenogest über 24 bis 72 Stunden gemessen werden (Ellis et al. 2019), nach der intramuskulären Injektion von Altrenogest bei Pferden sogar über 148 Stunden (McConaghy et al. 2016). Möglicherweise kann das divergierende Ansprechen der Ziegenböcke auf die Behandlung ebenfalls mit individuellen Unterschieden hinsichtlich der erreichten Höchstkonzentration von Altrenogest im Plasma sowie mit der Dauer der Aufrechterhaltung eines Wirkstoffspiegels erklärt werden. Ein Ansatz zur Verbesserung des Ansprechens könnte hier eine Erhöhung der Applikationsfrequenz, eine Erhöhung der Dosierung oder eine veränderte Applikationsart sein.

Auch beim Einsatz von Altrenogest zur Rosseunterdrückung bei der Stute wird als ein Hauptgrund für die Unwirksamkeit der Behandlung eine nicht

kontinuierliche oder unterdosierte Verabreichung genannt (Aurich und Kuhl 2017). Die gewählte Dosierung von 0,088 mg/kg entspricht der Dosis, mit der Effekte auf die Gonadenfunktion adulter Hengste erzielt werden konnte (Squires et al. 1997). Die für Stuten empfohlene Dosis von 0,044 mg/kg hatte hingegen keine signifikanten Auswirkungen auf sexuell orientiertes Verhalten und Spermaparameter bei Hengsten (Heninger 1999; Miller et al. 1997). Bei Ebern wurde eine Dosis von 20 mg Altrenogest pro Tier verabreicht (Kluber et al. 1985, 1988). Diese Dosis basierte auf einer Untersuchung zur Östrusunterdrückung bei Sauen, in welcher Dosen von 20 und 40 mg pro Tier als am effektivsten ausgemacht wurden; die minimale effektive Dosis betrug 10 bis 20 mg pro Tier (Kraeling et al. 1981). Die Ziegenböcke wiesen zu Beginn der Untersuchungen ein durchschnittliches Körpergewicht von 34,2 kg auf und bekamen dementsprechend eine durchschnittliche Dosis von 3 mg Altrenogest verabreicht. Möglicherweise war diese Dosierung aufgrund der tierartlichen, intraindividuellen und umweltbedingten Unterschiede hinsichtlich der Resorption und der Metabolisierung des Wirkstoffes nicht ausreichend, um eine zuverlässige Unterdrückung der Gonadenfunktion bei allen Versuchstieren zu erreichen.

Im vorliegenden Versuchsaufbau wurde ein Versuchszeitraum von sieben Wochen gewählt. Kluber et al. (1985) konnten bei der Anwendung von Altrenogest bei Ebern bereits nach einer Woche erniedrigte Testosteronwerte im Plasma feststellen. In den anderen vorliegenden Untersuchungen zur Anwendung von Altrenogest beim männlichen Tier wurden die Folgeuntersuchungen teilweise in relativ großen zeitlichen Abständen durchgeführt, sodass nicht immer genau gesagt werden kann, ab wann Veränderungen vorlagen: Johnson et al. (1998) beobachteten bei einer ersten Folgeuntersuchung nach achtwöchigen Behandlung Auswirkungen auf Hodengröße, Spermaparameter und Verhalten bei mit Altrenogest behandelten Hengsten. Bei Squires et al. (1997) wurde bei Hengsten nach acht Behandlungstagen noch kein Rückgang der Testosteronkonzentration gemessen, bei der nächsten erfolgten Blutuntersuchung nach 51 Tagen war die Testosteronkonzentration hingegen signifikant erniedrigt. Absamungen und spermatologische Untersuchungen wurden einmal wöchentlich vorgenommen;

hier konnten Veränderungen des sexuell orientierten Verhaltens ab Tag 42 beobachtet werden, nach 46 Tagen stieg die Anzahl pathologisch veränderter Spermien im Ejakulat signifikant an, nach 86 Tagen kam es zu einem signifikanten Rückgang der täglichen Spermienmenge. Der Skrotalumfang wurde erstmals nach 50 Tagen gemessen und war zu diesem Zeitpunkt signifikant niedriger als zu Versuchsbeginn. Einige Resultate der Behandlung mit Altrenogest konnten hier also erst zu einem Zeitpunkt nachgewiesen werden, zu dem der bei den Ziegenböcken gewählte Versuchszeitraum schon beendet war. Dieses ist vermutlich teilweise auf die niedrige Frequenz in der Durchführung der Untersuchungen zurückzuführen; dennoch ist es möglich, dass bei den Ziegenböcken eine Behandlung über einen längeren Zeitraum einen nachweisbaren Behandlungseffekt bei allen Versuchstieren zur Folge gehabt hätte.

Zusammenfassend kann Altrenogest in einer Dosis von 0,088 mg/kg nicht zur kurzfristigen, reversiblen Fortpflanzungsunterdrückung beim Ziegenbock empfohlen werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine nicht-invasive und reversible Methode zur Ausschaltung der Geschlechtsfunktion beim Ziegenbock zu evaluieren. In der Literatur werden zwar verschiedene Ansätze beschrieben, jedoch konnten bisher keine vollständig zufriedenstellenden Ergebnisse hinsichtlich der zuverlässigen Fruchtbarkeitsunterdrückung, der Reversibilität sowie der zeitlichen Steuerung der untersuchten Methoden beim adulten Ziegenbock gefunden werden.

Beim Hengst sowie beim Eber wurde die Dauergabe von Altrenogest zur reversiblen Unterdrückung der Gonadenfunktion beschrieben. Um die Wirkung derselben beim Ziegenbock zu überprüfen, wurde einer Gruppe von vier adulten Ziegenböcken 0,088 mg/kg Altrenogest täglich per os verabreicht. Zeitgleich wurde einer Kontrollgruppe von vier Tieren dieselbe Menge einer fünfprozentigen Glukoselösung per os verabreicht. Die Applikation des Gestagens fand über sieben Wochen statt, anschließend wurde sieben Wochen lang die Reversibilität der durch die Medikation verursachten Veränderungen beobachtet.

Um die Auswirkungen der Behandlung auf die Tiere erheben zu können, wurden an allen Tieren klinische Untersuchungen, sonographische Untersuchungen der Hoden inklusive eindimensionaler Grauwertanalyse, Testosteronbestimmungen im Blut sowie Untersuchungen von Spermaparametern durchgeführt. Weiterhin wurde das sexuell orientierte Verhalten anhand eines Libidoscores beurteilt. Nach Ablauf des Beobachtungszeitraumes wurden die Tiere kastriert und die Hoden histologisch untersucht.

Es konnten folgende Ergebnisse erzielt werden:

- Die Behandlung mit Altrenogest hatte keine Auswirkungen auf die körperliche Entwicklung der Tiere.
- Das Hodenvolumen sowie die Tiefe beider Hoden waren bei den Versuchstieren signifikant geringer als bei den Kontrolltieren.
- Deutlich und anhaltend veränderte sich die Konsistenz der Hoden von zwei Versuchstieren. Diese Veränderungen waren reversibel, die

ermittelten Werte aufgrund des geringen Stichprobenumfanges statistisch nicht signifikant.

- Die Gestagenapplikation hatte keine Auswirkungen auf das sonographische Erscheinungsbild der Hoden sowie die Ergebnisse der computergestützten eindimensionalen Grauwertanalyse.
- Es konnten keine Auswirkungen der Behandlung auf die Testosteronkonzentration im Plasma festgestellt werden.
- Im Gruppenvergleich wiesen die Ejakulate der Versuchstiere eine signifikant höhere Gesamtzahl an pathologisch veränderten Spermien auf.
- Der ermittelte Libidoscore ergab eine geringer ausgeprägte Libido sexualis bei den Versuchstieren als bei den Kontrolltieren. Diese Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.
- Die Gestagenapplikation hatte keine über den Beobachtungszeitraum hinaus bleibenden Auswirkungen auf das histologische Erscheinungsbild der Hoden.

Altrenogest in einer Dosis von 0,088 mg/kg ist nicht zur reversiblen Unterdrückung der Fortpflanzungsfunktion beim Ziegenbock geeignet.

7 SUMMARY

The aim of the present study was to evaluate a non-invasive and reversible method for the downregulation of the gonadal function in the billy goat. Several approaches are described in literature, but none of them could reach completely satisfying results concerning secure suppression of fertility, reversibility and terminability in the adult billy goat.

The permanent application of Altrenogest causes a reversible downregulation of the gonadal function in the stallion as well as in the boar. To test this method in the goat, a daily dose of 0,088 mg/kg Altrenogest was given orally to a group of four adult male goats. At the same time, a control group of four male goats was given the same amount of a 5 % glucose solution orally. The application of the gestagen was performed for seven weeks; after this, the reversibility of the effects of the medication was observed for another seven weeks.

To evaluate the impacts of the treatment, all animals were checked clinically; furthermore, sonographic examinations of the testes including computer assisted grey scale analysis were performed, the concentration of testosterone in the blood was measured and sperm analyses were made. A libidoscore was established to evaluate the sexual orientated behavior. Subsequent to the period of observation, all goats were castrated and the testes were examined histologically.

The following results have been reached:

- The treatment with Altrenogest had no consequences for the physical development of the animals.
- The volume of the testes as well as the depth of both testes were significantly lower in the treated animals than in the control animals.
- The consistency of the testes changed clearly and prolonged in two of the treated animals. These changes were reversible but statistically not significant.
- The application of the gestagen had no impact on the sonographic appearance of the testes nor on the results of the computer assisted one-dimensional grey

SUMMARY

scale analysis.

- The treatment had no effects on the concentration of plasma testosterone.
- The treated animals had a significant higher amount of sperm defects within their ejaculate.
- The libidoscore showed less libido sexualis in the treated animals than in the control animals. These results were statistically not significant.
- The application of the gestagen had no consequences on the histological appearance of the testes that outreached the period of observation.

Altogether, the application of Altrenogest in a dose of 0,088 mg/kg is an inappropriate method to downregulate the gonadal function in billy goats.

8 LITERATURVERZEICHNIS

ABDEL-RAZEK, A.K.; A. ALI (2005)

Developmental changes of bull (*bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography

Reproduction in Domestic Animals 40, 23-27

ADAMS, T.E. (2005)

Using gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH analogs to modulate testis function and enhance the productivity of domestic animals

Animal Reproduction Science 88, 127–139

AHMAD, N.; D.E. NOAKES; A.L. SUBANDRIO (1991)

B-Mode real time ultrasonographic imaging of the testis and epididymis of sheep and goats

Veterinary Record 128, 491-496

AHMAD, N.; D.E. NOAKES (1995)

Ultrasound imaging in determining the presence of testicular degeneration in two male goats

British Veterinary Journal 151, 101-110

AHMAD, N.; D.E. NOAKES (1996)

Sexual maturity in british breeds of goat kids

British Veterinary Journal 152, 93-103

AÏSSAT, D.; J.M. SOSA; D.M. DE AVILA; K.P. BERTRAND; J.J. REEVES (2002)

Endocrine, growth, and carcass characteristics of bulls immunized against luteinizing hormone-releasing hormone fusion proteins

Journal of Animal Science 80, 2209-2213

AMANN, R.P.; B.D. SCHANBACHER (1983)

Physiology of male reproduction

Journal of Animal Science 57 (2), 380-403

AURICH, C. (2008)

Manipulation des Sexualzyklus bei der Stute

In: AURICH, C. (Hrsg.)

Reproduktionsmedizin beim Pferd: Gynäkologie – Andrologie – Geburtshilfe

Parey in MVS Medizinverlage, Stuttgart, 62

AURICH, C.; E. TÖPFER-PETERSEN (2015)

Reproduktion bei männlichen Haussäugetieren

In: ENGELHARDT, W. VON (Hrsg.)

Physiologie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart, 560-579

BAILEY, T.L.; R.S. HUDSON; T.A. POWE; M.G. RIDDELL; D.F. WOLFE; R.L. CARSON (1998)

Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo

Theriogenology 49, 581-594

BARRETO DE SOUZA, L.E.; J. FERREIRA DA CRUZ; M. REZENDE TEIXEIRA NETO; R. DE CÁSSIA SANTOS NUNES; M.H. COELHO CRUZ (2011)

Puberty and sexual maturity in Anglo-Nubian male goats raised in semi-intensive system

Revista Brasileira de Zootecnia 40 (7)

BATRA, S.K.; W.L. MILLER (1985)

Progesterone decreases the responsiveness of ovine pituitary cultures to luteinizing hormone-releasing hormone

Endocrinology 117 (4), 1436-1440

BERG, J.M.; J.L. TYMOCZKO; L. STRYER (2012)

Zu den wichtigen Derivaten des Cholesterins gehören die Gallensalze und die Steroidhormone

In: BERG, J.M.; J.L. TYMOCZKO; L. STRYER

Stryer Biochemie

Springer Verlag, Berlin und Heidelberg, 790-799

BERNHARDT, A.W. (2012)

Konzentrationen von Sexualsteroiden im Blutplasma männlicher und weiblicher Esel

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Dissertation

BILASPURI, G.S.; K. SINGH (1992)

Developmental changes in body weight and testicular characteristics in malabari goat kids

Theriogenology 37 (2), 507-520

BLECK, J.S.; M. GEBEL; M.P. MANNS (2000)

Quantitative Sonographie

Internist 41, 10-16

BODE, C.; G. ZHAO; F. STEINHAGEN; T. KINJO; D.M. KLINMAN (2011)

CpG DNA as a vaccine adjuvant

Expert Review of Vaccines 10, 499-511

BÖHM, J.A. (2013)

Einfluss einer perinatalen Zearalenonbelastung auf die körperliche Entwicklung sowie labordiagnostische und spermatologische Parameter von Ebern

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Dissertation

BOLT, D.J. (1971)

Changes in the concentration of luteinizing hormone in plasma of rams following administration of oestradiol, progesterone or testosterone

Journal of Reproduction and Fertility 24, 435-438

BONGSO, T.A.; M.R. JAINUDEEN; A. SITI ZAHRAH (1982)

Relationship of scrotal circumference to age, body weight and onset of spermatogenesis in goats

Theriogenology 18 (5), 513-524

BOSTEDT, H. (2001)

Physiologie und Pathologie der Kopulation

In: BUSCH, W.; A. HOLZMANN

Veterinärmedizinische Andrologie: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung bei männlichen Tieren

Schattauer Verlag, Stuttgart, 245-250

BREMNER, W.J.; J.K. FINDLAY; I.A. CUMMING; B. HUDSON; D.M. DE KRETZER (1976)

Pituitary-testicular responses in rams to prolonged infusions of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)

Biology of Reproduction 15, 141-146

BROWN, B.W.; P.E. MATTNER; P.A. CARROLL; E.J. HOLLAND; D.R. PAULL; R.M. HOSKINSON; R.D.G. RIGBY (1994)

Immunization of sheep against GnRH early in life. Effects on reproductive function and hormones in rams

Journal of Reproduction and Fertility 101, 15-21

BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ
(HRSG.) (2018)

Tierschutzgesetz [zitiert am 02.02.2019]

URL: <http://www.gesetze-im-internet.de/tierschg/BJNR012770972.html>

BUSCH, W.; P. FISCHER (2007)

Künstliche Besamung bei kleinen Wiederkäuern

In: BUSCH, W.; D. WABERSKI (Hrsg.)

Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren

Schattauer Verlag, Stuttgart und New York, 282-298

CHAKRABORTY, P.K.; L.D. STUART; J.L. BROWN (1989)

Puberty in the male nubian goat: Serum concentrations of LH, FSH and Testosterone from birth through puberty and semen characteristics at sexual maturity

Animal Reproduction Science 20, 91-101

CHANDOLIA, R.K.; P.M. BARTLEWSKI; B.C. OMEKE; A.P. BEARD; N.C. RAWLINGS; R.A. PIERSON (1997)

Ultrasonography of the developing reproductive tract in ram lambs: Effects of a GnRH agonist

Theriogenology 48, 99-117

CHEMINEAU, P. (1986)

Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. II. Male mating behaviour, testis diameter, ejaculate characteristics and fertility

Reproduction Nutrition Développement 26 (2A), 453-460

CLARKE, I.J.; J.T. CUMMINS (1984)

Direct pituitary effects of estrogen and progesterone on gonadotropin secretion in the ovariectomized ewe

Neuroendocrinology 39 (3), 267-274

CLARKE, I.J.; B.W. BROWN; V.V. TRAN; C.J. SCOTT; R. FREY; R.P. MILLAR; A. RAO (1998)

Neonatal immunization against Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) results in diminished GnRH secretion in adulthood

Endocrinology 139 (4), 2007-2014

COLENBRANDER, B.; F.H. DE JONG; C.J.G. WENSING (1978)

Changes in serum testosterone concentrations in the male pig during development

Journal of Reproduction and Fertility 53, 377-380

CONFORTI, B.W.; D.M. DE AVILA; N.S. CUMMINGS; K.J. WELLS; H. ÜLKER; J.J. REEVES (2007)

The effectiveness of a CpG motif-based adjuvant (CpG ODN 2006) for LHRH immunization

Vaccine 25 (35), 6537-6543

CONFORTI, B.W.; D.M. DE AVILA; N.S. CUMMINGS; R. ZANELLA; K.J. WELLS; H. ÜLKER; J.J. REEVES (2008)

CpG motif-based adjuvant as a replacement for Freund's complete adjuvant in a recombinant LHRH vaccine

Vaccine 26 (7), 907-913

CUI, S.; Y.F. CHEN; H.N. YUE; Y.Q. HE; A.S. MCNEILLY (2003)

Sexual development and the effects of active immunization against GnRH in Chinese Tanyang ram lambs

Animal Reproduction Science 77, 129-139

DELGADILLO, J.; M. HOCHEREAU DE REVIERS; A. DAVEAU; P. CHEMINEAU (1995)

Effect of short photoperiodic cycles on male genital tract and testicular parameters in male goats (*capra hircus*)

Reproduction Nutrition Développement 35, 549-558

DELGADILLO, J.M.; M. CORTEZ; G. DUARTE; P. CHEMINEAU; B. MALPAUX (2004)

Evidence that the photoperiod controls the annual changes in testosterone secretion, testicular and body weight in subtropical male goats

Reproduction Nutrition Développement 44, 183-193

DELGADILLO, J.M.; M.A. DE SANTIAGO-MIRAMONTES; E. CARRILLO (2007)

Season of birth modifies puberty in female and male goats raised under subtropical conditions

Animal 1, 858-864

DESTATIS STATISTISCHES BUNDESAMT (2017a)

Rund 140 000 Ziegen und 440 000 Einhufer in Deutschland [zitiert am 30.11.2017]

URL: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/Wirtschaftsbereiche/LandForstwirtschaftFischerei/TiereundtierischeErzeugung/AktuellSonstigeNutztiere.html>

DESTATIS STATISTISCHES BUNDESAMT (2017b)

Tiere und tierische Erzeugung

Landwirtschaftliche Betriebe mit Haltungen von Ziegen und Ziegenbestand [zitiert am 30.11.2017]

URL: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/Wirtschaftsbereiche/LandForstwirtschaftFischerei/TiereundtierischeErzeugung/Tabellen/BetriebeZiegenBestand.html>

DESTATIS STATISTISCHES BUNDESAMT (2019)

Tiere und tierische Erzeugnisse

Gewerbliche Schlachtungen [zitiert am 02.02.2019]

URL: <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/Wirtschaftsbereiche/LandForstwirtschaftFischerei/TiereundtierischeErzeugung/Tabellen/GewerbSchlachtungJahrHalbJ.html>

DEVESON, S.; I.A. FORSYTH; J. AHRENDT (1992)

Retardation of pubertal development by prenatal long days in goat kids born in autumn

Journals of Reproduction and Fertility 95, 629-637

DIENER, M. (2015)

Vegetatives Nervensystem

In: ENGELHARDT, W. VON (Hrsg.)

Physiologie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart, 108-116

D'OCCHIO, M.J.; D.R. GIFFORD; R.M. HOSKINSON; T. WEATHERLY; P.F. FLAVEL; P.E. MATTNER; B.P. SETCHELL (1987)

Reproductive hormone secretion and testicular growth in bull calves actively immunized against testosterone and oestradiol-17 beta

Journal of Reproduction and Fertility 79, 315-324

D'OCCHIO, M.J. (1993)

Immunological suppression of reproductive functions in male and female mammals

Animal Reproduction Science 33, 345-372

EBERT, U.; A.W. HERLING; H. POTSCHKA (2016)

Endokrinopharmakologie der Fortpflanzung

In: LÖSCHER, W.; A. RICHTER (Hrsg.)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

Enke Verlag, Stuttgart, 328-346

ECHTENKAMP, S.E.; D.D. LUNSTRA (1984)

Relationship between LH and testicular development in progesterone-implanted prepubertal lambs

Journal of Animal Science 59, 441-453

ELLIS, K.E.; COUNCIL-TROCHE, R.M.; VON DOLLEN, K.A.; BEACHLER, T.M.; BAILEY, C.S.; DAVIS, J.L.; LYLE, S.K. (2019)

Pharmacokinetics of intrarectal Altrenogest in Horses

Journal of Equine Veterinary Science 72, 41-46

EUROPEAN MEDICINES AGENCY, COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE (2004)

Altrenogest Summary Report [zitiert am 19.10.2015]

URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500009996.pdf

EVANS, A.C.O.; R.A. PIERSON; A. GARCIA; L.M. MCDOUGALL; F. HRUDKA; N.C. RAWLINGS (1996)

Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls

Theriogenology 46, 345-357

FALVO, R.E.; V. CHANDRASHEKAR; R.D. ARTHUR; A.R. KUENSTLER; T. HASSON; C. AWENIYI; B.D. SCHANBACHER (1986)

Effect of active immunization against LHRH or LH in boars: Reproductive consequences and performance traits

Journal of Animal Science 63, 986-994

FAYRER-HOSKEN, R. (2008)

Controlling animal populations using anti-fertility vaccines

Reproduction in Domestic Animals 43 (2), 179-185

FAZILI, M.R.; H.K. BHATTACHARYYA; B.A. BUCHOO; M.A. KIRMANI; M.M. DARZI; I. KHAN (2009)

Evaluation of pinhole castration technique in rams

Small Ruminant Research 84, 61-64

FEI CLEANSPTS (2018)

Prohibited Substances Database [zitiert am 11.10.2018]

URL: <http://prohibitedsubstancesdatabase.feicleansport.org>

FERRO, V.A.; M.A.H. KHAN; D. MCADAM; A. COLSTON; E. AUGHEY; A.B. MULLEN; M.M. WATERSTON; M.J.A. HARVEY (2004)

Efficacy of an anti-fertility vaccine based on mammalian gonadotrophin releasing hormone (GnRH-I) – a histological comparison in male animals

Veterinary Immunology and Immunopathology 101, 73–86

FINK, H.; H.H. FREY (2016)

Allgemeine Pharmakologie

In: LÖSCHER, W.; A. RICHTER (Hrsg.)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

Enke Verlag, Stuttgart, 19-56

FN (2018)

Liste der verbotenen Substanzen [zitiert am 11.10.2018]

URL: <https://www.pferd-aktuell.de/fairersport/listen-der-verbotenen-substanzen-und-methoden/listen-der-verbotenen-substanzen-und-methoden>

FONTAINE, C. (2015)

Long-term contraception in a small implant: A review of Suprelorin (deslorelin) studies in cats

Journal of feline Medicine and Surgery 17 (9), 766–771

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS
(2014)

Live Animals

URL: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> [zitiert am 07.12.2017]

FRASER, H.M.; G.A. LINCOLN (1980)

Effects of chronic treatment with an LHRH agonist on the secretion of LH, FSH and testosterone in the ram

Biology of Reproduction 22, 269–276

FRYDRYCHOVÁ, S.; L. OPLETAL; K. MACÁKOVÁ; A. LUSTYKOVÁ; M. ROZKOT; J. LIPENSKÝ (2011)

Effects of herbal preparation on libido and semen quality in boars

Reproduction in Domestic Animals 46 (4), 573–578

GÁBOR, G.; R.G. SASSER; J.P. KASTELIC; M. MÉZES; G. FALKAY; S. BOZÓ; J. VÖLGYI CSÍK; I. BÁRÁNY; A. HIDAS; F. SZÁSZ JR; G. BOROS (1998)

Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes

Theriogenology 50, 223–228

GANTER, M.; C. BENESCH; D. BÜRSTEL; S. ENNEN; K.H. KAULFUSS; K. MAYER; U. MOOG; E. MOORS; B. SEELIG; D. SPENGLER; H. STROBEL; P. TEGTMEYER; K. VOIGT; H.W. WAGNER (2012)

Empfehlung für die Haltung von Schafen und Ziegen der Deutschen Gesellschaft für die Krankheiten der kleinen Wiederkäuer, Fachgruppe der DVG

Tierärztliche Praxis Ausgabe Großtiere/Nutztiere 5, 314-325

GÄRTNER, T.; M. ZACHARIAS; K.V. JENDERKA; H. HEYNEMANN; U. COBET (1998)

Geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung von Hoden und Prostata

Der Radiologe 38, 424-433

GEARY, T.W.; E.E. GRINGS; M.D. MACNEIL; D.M. DE AVILA; J.J. REEVES (2006)

Use of recombinant gonadotropin-releasing hormone antigens for immunosterilization of beef heifers

Journal of Animal Science 84, 343-350

GEBEL, M.J. (2000)

Neue Modifikationen und Verfahren der Sonographie und ihre praktische Bedeutung

Internist 41, 3-9

GIRIBONI, J.; L. LACUESTA; R. UNGERFELD (2017)

Continuous contact with females in estrus throughout the year enhances testicular activity and improves seminal traits of goats

Theriogenology 87, 284-289

GIULIANO, F.A.; P. CLEMENT; P. DENYS; L. ALEXANDRE; J. BERNABE (2006)
Comparison between Tamsulosin and Alfuzosin on the expulsion phase of
ejaculation in rats

BJU International 98, 876-879

GODFREY, S.I.; S.W. WALKDEN-BROWN; G.B. MARTIN; E.J. SPEIJERS
(1996)

Immunisation of goat bucks against GnRH to prevent seasonal reproductive and
agonistic behaviour

Animal Reproduction Science 44, 41-54

GOERICKE-PESCH, S.; A. WEHREND (2009)

GnRH-Agonisten in der Reproduktionsmedizin beim Kleintier – eine Übersicht
Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere 37, 410-418

GOERICKE-PESCH, S.; P. GEORGIEV; A. ANTONOV; A. VODENICHAROV; C.
NAVARRO; A. WEHREND (2014)

Reversibility of germinative and endocrine testicular function after long-term
contraception with a GnRH-agonist implant in the tom - a follow-up study

Theriogenology 81 (7), 941–946

GÖKDAL, Ö.; O. ATAY; H. ÜLKER; S. KAYAARDI; M. KANTER; M.D. DE AVILA;
J.J. REEVES (2010)

The effects of immunological castration against GnRH with recombinant OL
protein (Ovalbumin-LHRH-7) on carcass and meat quality characteristics,
histological appearance of testes and pituitary gland in Kivircik male lambs

Meat Science 86, 692-698

GOODWIN, D.; P. SIMERSKA; C.H. CHANG; F.M. MANSFELD; P. VARAMINI; M.J. D'OCCHIO (2014)

Active immunisation of mice with GnRH lipopeptide vaccine candidates: Importance of T helper or multi-dimer GnRH epitope
Bioorganic & Medicinal Chemistry 22, 4848-4854

GOODWIN, D.; P. VARAMINI; P. SIMERSKA; M.J. D'OCCHIO; I. TOTH (2015)

Design, synthesis and evaluation of a gonadotropin releasing hormone-based subunit vaccine in rams
Vaccine 33, 1453-1458

GOOLSBY, H.A.; H.A. BRADY; S.D. PRIEN (2004)

The off-label use of Altrenogest in stallions: A survey
Journal of Equine Veterinary Science 24, 72-75

GOULETSOU, P.G.; G.S. AMIRIDIS; P.J. CRIPPS; T. LAINAS; K. DELIGIANNIS; P. SARATSIS; G.C. FTHENAKIS (2003)

Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams
Theriogenology 59, 1959-1972

GRAUE, I. (2002)

Computergestützte Graustufenanalyse sonographischer Befunde des Hodengewebes beim Bullen
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

GUDERMANN, T. (2009)

Sexualhormone

In: AKTORIES K.; U. FÖRSTERMANN; F. HOFMANN; K. STARKE (Hrsg.)

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie

Elsevier Urban & Fischer Verlag, München, 683-715

GUPTA, S.K.; P. BANSAL (2010)

Vaccines for immunological control of fertility
Reproductive Medicine and Biology 9, 61-71

HAGE-VAN NOORT, M.; W.C. PUIJK; W.M.M. SCHAAPER; D. KUPERUS;
N.J.C.M. BEEKMAN; H.H. PLASMAN; H. LANKHOF; C.J.G. WENSING; R.H.
MELOEN

Immunomodulation of reproductive systems
Animal Reproductive Science 28, 187-193

HAN, X.; L. GUN; C. XIA; J. FENG; X. CAO; X. DU; X. ZENG; T. SONG (2015)
Effect of immunization against GnRH on hypothalamic and testicular function in
rams
Theriogenology 83, 642-649

HAUGER, R.L.; F.J. KARSCH; D.L. FOSTER (1977)

A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal
relationships between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in
peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion
Endocrinology 101 (3), 807-817

HAYNES, B.D.; J.A. SOUTHEE (1984)

Effects of immunization against steroid hormones on male endocrinology
In: CRIGHTON, D.B. (Hrsg.)
Immunological aspects of reproduction in mammals
Butterworths, London/Boston/Durban/Singapore/Sydney/Toronto/Wellington,
427-444

HEGGER, I. (2005)

Untersuchung zur Pharmakokinetik des Arzneistoffes Altrenogest hinsichtlich der
Dopingrelevanz beim Pferd
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

HELLSTROM, W.J.G.; S.C. SIKKA (2006)

Effects of acute treatment with Tamsulosin versus Alfuzosin on ejaculatory function in normal volunteers

The Journal of Urology 176, 1529-1533

HENINGER, N.L. (1999)

The effects of oral Altrenogest on two-year-old stallions in Training

Texas Tech University, Animal Science, Thesis

HERMES, R. (1998)

Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*) und Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause mittels computergestützter Grauwertanalyse

Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Dissertation

HOFFMANN, B.; A. LANDECK (1999)

Testicular endocrine function, seasonality and semen quality of the stallion

Animal Reproduction Science 57, 89-98

HÖHNE, K. (2002)

Ultrasonographische Untersuchung von Hoden und Prostata des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Graustufenanalyse

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

HOOLEY, R.D.; R.W. BAXTER; W.A. CHAMLEY; I.A. CUMMING; H.A. JONAS; J.K. FINDLAY (1974)

FSH and LH response to gonadotropin-releasing hormone during the ovine estrous cycle and following progesterone administration

Endocrinology 95 (4), 937-942

HOPKINSON, C.R.N.; H.C. PANT; R.J. FITZPATRICK (1974)

Release of LH and FSH in the normal intact ram by synthetic LH-RF and the effect of pretreatment with testosterone propionate

Journal of Reproduction and Fertility 39, 135–139

HUFF, D.S.; F. HADZISELIMOVIC; H. MCSYNDER; B. BLYTHE; J.W. DUCKET (1993)

Histologic maldevelopment of unilaterally cryptorchid testes and their descended partners

European Journal of Pediatrics 152 (2), 10-14

JANETT, F.; U. LANKER; H. JÖRG; M. HÄSSIG; R. THUN (2003)

Die Kastration männlicher Lämmer mittels Immunisierung gegen GnRH

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 145 (6), 291 – 299

JANETT, F.; R. STUMP; D. BURGER; R. THUN (2009)

Suppression of testicular function and sexual behavior by vaccination against GnRH (Equity™) in the adult stallion

Animal Reproduction Science 115 (1-4), 88-102

JEFFCOATE, I.; J.M.S. LUCAS; D.B. CRIGHTON (1982)

Effects of active immunization of ram lambs and bull calves against synthetic luteinizing hormone releasing hormone

Theriogenology 18 (1), 65-77

JEYAKUMAR, S.; A. DE KUMAR; A. KUNDU; K. ROY; J. SUNDER; M.S. KUNDU; M. BALAKRISHNAN; S. CHAND; S.K. ZAMIR AHMED (2013)

Sonographic characteristics of goat testis on water bath based ultrasonography

Livestock Science 152, 79-87

JIMÉNEZ-SEVERIANO, H.; F. JIMÉNEZ-KRASSEL; M. MENENDEZ-TREJO (1996)

Endocrine and testicular responses of prepubertal Zebu crossbred bulls to active immunization against testosterone

Animal Reproduction Science 41, 169–181

JIMÉNEZ-SEVERIANO, H.; M.J. D'OCCHIO; D.D. LUNSTRA; M.L. MUSSARD; T.L. DAVIS; W.J. ENRIGHT; J.E. KINDER (2007)

Comparative response of rams and bulls to long-term treatment with gonadotropin-releasing hormone analogs

Animal Reproduction Science 98, 204–224

JOHNSON, N.N.; H.A. BRADY; C.S. WHISNANT; P.A. LACASHA (1998)

Effects of oral Altrenogest on sexual and aggressive behaviors and seminal parameters in young stallions

Journal of Equine Veterinary Science 18 (4), 249-253

KARAGIANNIDIS, A.; S. VARSAKELI; G. KARATZAS (1999)

Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece

Theriogenology 53, 1285-1293

KARAKUŞ, F.; A. YILMAZ; B. HAKAN; K. STORMO; H. ÜLKER (2013)

The effectiveness of recombinant OL fusion protein (ovalbumin-LHRH-7) in suppressing reproductive functions when injected in single-dose vaccination protocols with different adjuvants

Animal Reproductive Science 138, 228-232

KASTELIC, J.P.; R.B. COOK; R.A. PIERSON; G.H. COULTER (2001)

Relationship among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls

The Canadian Journal of Veterinary Research 65, 111-115

KASTELIC, J.P.; L.F.C. BRITO (2012)

Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull
Reproduction in Domestic Animals 47 (3), 45-51

KAUFFOLD, J.; H. ROHRMANN; J. BÖHM; A. WEHREND (2010)

Effects of long-term treatment with the GnRH agonist deslorelin (Suprelorin®) on
sexual function in boars
Theriogenology 74, 733-740

KAUFFOLD, J.; M. KESSLER; A. RICHTER; N. BEYNON; A. WEHREND (2011)

B-mode ultrasound and grey-scale analysis of the epididymis in boars, and the
relationship to semen parameters
Reproduction in Domestic Animals 46, 108-113

KENT, J.E.; V. MOLONY; I.S. ROBERTSON (1993)

Changes in plasma cortisol concentration in lambs of three ages after three
methods of castration and tail docking
Research in Veterinary Science 55, 246-251

KENT, J.E.; V. MOLONY; M.J. GRAHAM (1998)

Comparison of methods for the reduction of acute pain produced by rubber ring
castration or tail docking of week-old lambs
The Veterinary Journal 155, 39-51

KENT, J.E.; R.E. JACKSON; V. MOLONY; B.D. HOSIE (2000)

Effects of acute pain reduction methods on the chronic inflammatory lesions and
behaviour of lambs castrated and tail docked with rubber rings at less than two
days of age
The Veterinary Journal 160, 33-41

KHAN, M.A.H.; V.A. FERRO; W.H. STIMSON (2003)

Use of a highly specific monoclonal antibody against the central variable amino acid sequence of mammalian gonadotropin releasing hormone to evaluate GnRH-I tissue distribution compared with GnRH-I binding sites in adult male rats
American Journal of Reproductive Immunology 49, 239–248

KIMSAKULVECH, S.; P. SUTTIYOTIN; A. PINYOPUMMIN (2015)

Effects of alpha1-adrenoceptor antagonist (tamsulosin) on incident of ejaculation and semen quality in the goat
Andrologia 47 (3), 354-359

KIYMA, Z.; T.E. ADAMS; B.W. HESS; M.L. RILEY; W.J. MURDOCH; G.E. MOSS (2000)

Gonadal function, sexual behavior, feedlot performance, and carcass traits of ram lambs actively immunized against GnRH
Journal of Animal Science 78, 2237-2243

KLUBER, E.F.; D.S. POLLMANN; D.L. DAVIS; J.S. STEVENSON (1985)

Body growth and testicular characteristics of boars fed a synthetic progestogen, altrenogest
Journal of Animal Science 61, 1441-1447

KLUBER, E.F.; J.E. MINTON; J.S. STEVENSON; M.C. HUNT; D.L. DAVIS; T.A. HOAGLAND; J.L. NELSEN (1988)

Growth, carcass traits, boar odor and testicular and endocrine functions of male pigs fed a progestogen, altrenogest
Journal of Animal Science 66, 470-478

KORBMACHER, C. (2014)

Funktion und Interaktion von Zellen

In: PAPE, H.C.; A. KURTZ; S. SILBERNAGEL (Hrsg.)

Physiologie

Georg Thieme Verlag, Stuttgart und New York, 39-85

KRAELING, R.R.; P.J. DZIUK; V.G. PURSEL; G.B. RAMPACEK; S.K. WEBEL
(1981)

Synchronization of estrus in swine with allyl trenbolone (RU-2267)

Journal of Animal Science 52 (4), 831-835

LABRIE, F.; C. AUCLAIR; L. CUSAN; P.A. KELLY; G. PELLETIER; L. FERLAND
(1978)

Inhibitory effect of LHRH and its agonists on testicular gonadotrophin receptors
and spermatogenesis in the rat

International Journal of Andrology 1, 303–318

LENTS, M.P.; L.P. BARBOSA; A.L.A. SANTANA; E.E.G. PINHEIRO; L.C.
MUGABE; C.E.A. BISCARDE; C.K. KIYA; W.M. MACHADO; R.S. SOUZA (2018)
Immunocastration of goats using anti-gonadotrophin releasing hormone vaccine
Theriogenology 114, 7-13

LINCOLN, G.A.; H.M. FRASER (1979)

Blockade of episodic secretion of luteinizing hormone in the ram by the
administration of antibodies to luteinizing hormone releasing hormone

Biology of Reproduction 21, 1239-1245

LINCOLN, G.A.; H.M. FRASER; M.P. ABBOTT (1986)

Blockade of pulsatile LH, FSH and testosterone secretion in rams by constant
infusion of an LHRH agonist

Journal of Reproduction and Fertility 77, 587–597

LIU, H.Y.; M.H. SUN; G.Q. YANG; C.L. JIA; M. ZHANG; Y.J. ZHU; Y. ZHANG (2015)

Influence of different dietary zinc levels on cashmere growth, plasma testosterone level and zinc status in male Liaoning Cashmere goats

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 99, 880-886

LOMAX, S.; H. DICKSON; M. SHEIL; P.A. WINDSOR (2010)

Topical anaesthesia alleviates short-term pain of castration and tail docking in lambs

Australian Veterinary Journal 88 (3), 67-74

LOUW, D.F.J.; D.M. JOUBERT (1964)

Puberty in the male Dorper sheep and Boer goat

South African Journal of Agricultural Science 7, 509-520

LUDWIG, C.; P.O. DESMOULINS; M.A. DRIANCOURT; S. GOERICKE-PESCH; B. HOFFMANN (2009)

Reversible downregulation of endocrine and germinative testicular function (hormonal castration) in the dog with the GnRH-Agonist Azagly-Nafarelin as a removable implant "Gonazon"; a preclinical trial

Theriogenology 71, 1037-1045

MACHNIK, M.; I. HEGGER; M. KIETZMANN; M. THEVIS; S. GUDDAT; W. SCHÄNZER (2007)

Pharmacokinetics of Altrenogest in horses

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 30 (1), 86-90

MADANI, M.O.K.; M.S. RAHAL (1988)

Puberty in libyan male goats

Animal Reproduction Science 17, 207-216

MAEDA, K.; M. UTSU; P.E. KIHAIL (1998)

Quantification of sonographic echogenicity with grey-level histogram width: A clinical tissue characterization

Ultrasound in Medicine & Biology 24 (2), 225-234

MCCONAGHY, F.F.; L.A. GREEN; S. COLGAN; L.H. MORRIS (2016)

Studies of the pharmacokinetic profile, in vivo efficacy and safety of injectable altrenogest for the suppression of oestrus in mares

Australian Veterinary Journal 94 (7), 248-255

MECHLIN, C.W.; B.A. KOGAN (2014)

What lessons can be learned from testicular histology in undescended testes?

Translational Andrology and Urology 3 (4), 365-369

MEEUSEN, E.N.T.; J. WALKER; A. PETERS, P.P. PASTORET; G. JUNGENSEN (2007)

Current status of veterinary vaccines

Clinical Microbiology Reviews 20 (3), 489-510

MEINECKE, B. (2015)

Reproduktion bei weiblichen Haussäugetieren

In: ENGELHARDT, W. VON (Hrsg.)

Physiologie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart, 535-559

MELCHES, S.; S.C. MELLEMA; M.G. DOHERR; B. WECHSLER; A. STEINER (2007)

Castration of lambs: A welfare comparison of different castration techniques in lambs over 10 weeks of age

The Veterinary Journal 173 (3), 554-563

MELLEMA, S.C.; M.G. DOHERR; B. WECHSLER; S. THUEER; A. STEINER (2006)

Influence of local anaesthesia on pain and distress induced by two bloodless castration methods in young lambs

The Veterinary Journal 172, 274-283

MEYER, H.; M. COENEN (1995)

Einfluss der Ernährung auf die Fruchtbarkeit

In: BUSCH, W.; K. ZEROBIN

Fruchtbarkeitskontrolle bei Groß- und Kleintieren

Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 40-70

MILLER, C.D.; D.D. VARNER; T.L. BLANCHARD; J.A. THOMPSON; L. JOHNSON (1997)

Effects of Altrenogest on behavior and reproductive function in stallions

AAEP Proceedings 43, 197-198

MOLENAAR, G.J.; C. LUGARD-KOK; R.H. MELOEN; R.B. OONK; J. DE KONING; C.J.G. WENSING (1993)

Lesions in the hypothalamus after active immunisation against GnRH in the pig

Journal of Neuroimmunology 48, 1-12

NIESCHLAG, E.; E.J. WICKINGS (1979)

Biological effects of antibodies to gonadal steroids

Vitamins and Hormones 36, 165-202

NISHIMURA, S.; K. OKANO; K. YASUKOUCHI; T. GOTOH; S. TABATA; H. IWAMOTO (2000)

Testis development and puberty in the male Tokara (Japanese native) goat

Animal Reproduction Science 64 (1-2), 127-131

OATLEY, J.M.; A. TIBARY; D.M. DE AVILA; J.E. WHEATON; D.J. MCLEAN; J.J. REEVES (2005)

Changes in spermatogenesis and endocrine function in the ram testis due to irradiation and active immunization against luteinizing hormone-releasing hormone

Journal of Animal Science 83, 604-612

OKPE, G.C.; D.N. EZEASOR (2016)

Influence of naturally unilateral cryptorchidism on the histomorphometry of the testes and daily sperm production in West African dwarf goats

Iranian Journal of Veterinary Research 17(1), 13-19

OKWEE-ACAI, J.; J. ACON; D. OKELLO-OWINY; B. AGWAI; J. OLOYA (2009)

Evaluation of pinhole castration as an alternative technique for goat sterilization
Bulletin of Animal Health and Production in Africa 56 (4)

OONK, H.B.; J.A. TURKSTRA; W.M.M. SCHAAPER; J.H.F. ERKENS; M.H. SCHUITMACKER-DE WEERDT; A. VAN NEST; J.H.M. VERHEIJDEN; R.H. MELOEN (1998)

New GnRH-like peptide construct to optimize efficient immunocastration of male pigs by immunoneutralization of GnRH

Vaccine 16, 1074-1082

PADULA, A.M. (2005)

GnRH analogues – agonists and antagonists

Animal Reproduction Science 88, 115-126

PARTHASARATHY, V.; E.O. PRICE; A. ORIHUELA; M.R. DALLY; T.E. ADAMS (2002)

Passive immunization of rams (*Ovis aries*) against GnRH: Effects on antibody titer, serum concentrations of testosterone, and sexual behavior

Animal Reproduction Science 71, 203-215

PASCHKE, R. (2014)

Endokrines System

In: PAPE, H.C.; A. KURTZ; S. SILBERNAGEL (Hrsg.)

Physiologie

Georg Thieme Verlag, Stuttgart und New York, 586-635

PAULL, D.R.; C. LEE; I.G. COLDITZ; A.D. FISHER (2009)

Effects of a topical anaesthetic formulation and systemic carprofen, given singly or in combination, on the cortisol and behavioural responses of Merino lambs to castration

Australian Veterinary Journal 87 (6), 230-237

PECHMANN, R.D.; B.E. EILTS (1987)

B-Mode ultrasonography of the bull testicle

Theriogenology 27 (2), 431-441

PONVIJAY, K.S. (2007)

Pinhole castration: A novel minimally invasive technique for in situ spermatic cord ligation

Veterinary Surgery 36, 74-79

PRESTEL, L. (2017)

Versuche zur Unterdrückung der Fortpflanzungsfähigkeit beim juvenilen kleinen Wiederkäuer mit Hilfe des slow-release-GnRH-Analogons Deslorin

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Dissertation

QUESNELL, M.M.; Y. ZHANG; D.M. DE AVILA; K.P. BERTRAND; J.J. REEVES (2000)

Immunization of male mice with luteinizing hormone-releasing hormone fusion proteins reduces testicular and accessory sex gland function

Biology of Reproduction 63, 347-353

REEVES, J.J.; C.F. CHANG; D.M. DE AVILA; D.M. GRIEGER; H.E. JOHNSON;
A.J. ROBERTS (1989)

Vaccines against endogenous hormones: A possible future tool in animal
production

Journal of Dairy Science 72, 3363–3371

ROBERTS, A.J.; J.J. REEVES (1989)

Reproductive and endocrine changes in ewes actively immunized against
luteinizing hormone

Journal of Reproductive Immunology 16, 187-197

ROBERTSON, I.S.; H.M. FRASER; G.M. INNES; A.S. JONES (1982)

Effect of immunological castration on sexual and production characteristics in
male cattle

The Veterinary Record 111 (23), 529-531

RÖCKEN, F.E.; H.B. NOTHELFER; B. HOFFMANN (1995)

Testosteronkonzentrationen im peripheren Plasma sowie morphologische
Hodenbefunde von Rüden mit einer Perinealhernie

Kleintierpraxis 40, 261-267

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY (2015)

The Merck Index Online. An encyclopedia for chemicals, drugs, and biologicals
[zitiert am 20.10.2015]

URL: <https://www.rsc.org/Merck-Index/>

SANDFORT, L.M.; J.S.D. WINTER; W.M. PALMER (1974)

The profile of LH and Testosterone secretion in the ram

Endocrine 95 (2), 627-631

SANDOW, J.; M. HAHN (1978)

Chronic treatment with LH-RH in golden hamsters

European Journal of Endocrinology 88 (3), 601–610

SCHANBACHER, B.D.; J.J. FORD (1977)

Gonadotropin secretion in cryptorchid and castrate rams and the acute effects of exogenous steroid treatment

Endocrinology 100, 387-393

SCHANBACHER, B.D. (1980)

Androgen response of cryptorchid and intact rams to ovine LH

Journal of Reproduction and Fertility 59, 151-154

SCHANBACHER, B.D. (1982)

Responses of ram lambs to active immunization against testosterone and luteinizing hormone-releasing hormone

American Journal of Physiology 242, 201-205

SCHANBACHER, B.D. (1985)

Effects of active immunization of the ram and bull against luteinizing hormone

Theriogenology 24 (1), 59-71

SCHOEMAKER, N.J.; R. VAN DEIJK; B. MUIJLAERT; M.J.L. KIK; A.M. KUIJTEN; F.H. DE JONG; T.E. TRIGG; C.L.J.J. KRUITWAGEN; J.A. MOL (2008)

Use of gonadotropin releasing hormone agonist implant as an alternative for surgical castration in male ferrets (*Mustela putorius furo*)

Theriogenology 70, 161-167

SCHWEIZER, C. (2006)

Diagnostik hyperthermiebedingter Veränderungen der Spermaparameter und des Hodengewebes beim Hengst mit Hilfe durchflusszytometrischer Sperma-Assays und computergestützter Echostrukturanalyse
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

SCOTT, P.R.; N.D. SARGISON (2010)

Ultrasonography as an adjunct to clinical examination in sheep
Small Ruminant Research 92, 108-119

SINOWATZ, F. (2000)

Männliche Geschlechtsorgane

In: HEES, H.; F. SINOWATZ

Histologie – Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie
Deutscher Ärzte Verlag, Köln, 325-343

SINOWATZ, F. (2001)

Morphologie der Hoden und Nebenhoden

In: BUSCH, W.; A. HOLZMANN

Veterinärmedizinische Andrologie: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung bei männlichen Tieren
Schattauer Verlag, Stuttgart, 218

SMIDT, D.; F. ELLENDORFF (1969a)

Schaf

In: SMIDT, D.; F. ELLENDORFF

Fortpflanzungsbiologie landwirtschaftlicher Nutztiere
BLV Verlagsgesellschaft, München, 141-154

SMIDT, D.; F. ELLENDORFF (1969b)

Ziege

In: SMIDT, D.; F. ELLENDORFF

Fortpflanzungsbiologie landwirtschaftlicher Nutztiere

BLV Verlagsgesellschaft, München, 155-160

SOSA, J.M.; Y. ZHANG; D.M. DE AVILA; K.P. BERTRAND; J.J. REEVES (2000)

Technical note: Recombinant LHRH fusion protein suppresses estrus in heifers

Journal of Animal Science 78, 1310-1312

SQUIRES, E.L.; S.L. BADZINSKI; R.P. AMANN; P.M. MCCUE; T.M. NETT (1997)

Effects of Altrenogest on total scrotal width, seminal characteristics, concentrations of LH and testosterone and sexual behavior of stallions

Theriogenology 48, 313-328

STARKE, K. (2009)

Pharmakologie noradrenerger und adrenerger Systeme – Pharmakotherapie des Asthma bronchiale – Doping

In: AKTORIES K.; U. FÖRSTERMANN; F. HOFMANN; K. STARKE (Hrsg.)

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie

Elsevier Urban & Fischer Verlag, München, 161-200

STEINER, A.; F. JANETT (2013)

Die Kastration beim männlichen Kalb und Lamm

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 155 (11), 603-611

STOFFEL, M.H.; A. VON ROTZ; M. KOCHER; M. MERKLI; D. BOESCH; A.

STEINER (2009)

Histological assessment of testicular residues in lambs and calves after Burdizzo castration

Veterinary Record 164, 523-528

STEVENS, J.D.; J.M. SOSA; D.M. DE AVILA; J.M. OATLEY; K.P. BERTRAND;
C.T. GASKINS; J.J. REEVES (2005)

Luteinizing hormone-releasing hormone fusion protein vaccines block estrous
cycle activity in beef heifers

Journal of Animal Science 83, 152-159

THEUBET, G.; R. THUN; M. HILBE; F. JANETT (2010)

Wirkung einer Impfung gegen GnRH (Bopriva®) beim männlichen pubertären
Kalb

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 152 (10), 459-469

THOMPSON, D.L.; L.L. SOUTHERN; R.L. ST GEORGE; L.S. JONES; F. GARZA
(1985)

Active immunization of prepubertal boars against testosterone: Testicular and
endocrine responses at 14 months of age

Journal of Animal Science 61 (6), 1498–1504

THOMPSON, D.L. (2000)

Immunization against GnRH in male species (comparative aspects)

Animal Reproduction Science 60-61, 459-469

THORNTON, P.D.; A.E. WATERMAN-PEARSON (1999)

Quantification of the pain and distress responses to castration in young lambs

Research in Veterinary Science 66, 107-118

THUN, R. 1995

Physiologie und Pathophysiologie der Fortpflanzungsregulation

In: BUSCH, W.; K. ZEROBIN

Fruchtbarkeitskontrolle bei Groß- und Kleintieren

Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 19-39

TILBROOK, A.J.; D.B. GALLOWAY; A.H. WILLIAMS; I.J. CLARKE (1993)
Treatment of young rams with an agonist of GnRH delays reproductive development

Hormones and Behavior 27, 5–28

ÜLKER, H.; Ö. GÖKDAL; C. TEMUR; C. BUDAĞ; M. OTO; D.M. DE AVILA; J.J. REEVES (2002)

The effect of immunization against LHRH on body growth and carcass characteristics in Karakas ram lambs

Small Ruminant Research 45, 273-278

ÜLKER, H.; Ö. GÖKDAL; T. AYGÜN; F. KARAKUŞ; D.M. DE AVILA; J.J. REEVES (2003)

Feedlot performance and carcass characteristics of ram lambs immunized against recombinant LHRH fusion proteins at 10 weeks of age

Small Ruminant Research 50, 213-218

ÜLKER, H.; M. KANTER; Ö. GÖKDAL; T. AYGÜN; F. KARAKUŞ; M.E. SAKARYA; D.M. DE AVILA; J.J. REEVES (2005a)

Testicular development, ultrasonographic and histological appearance of the testis in ram lambs immunized against recombinant LHRH fusion proteins

Animal Reproduction Science 86, 205-219

ÜLKER, H.; YILMAZ, A.; KARAKUŞ, F.; YÖRÜK, M.; BUDAĞ, C.; DE AVILA D.M.; REEVES, J.J. (2005b)

The effects of immunization against LHRH using recombinant LHRH fusion protein, Ovalbumin-LHRH-7, on development, histologic and ultrasonographic appearance of ram lamb testis

Biotechnology in Animal Husbandry 21 (5-6), 79-83

ÜLKER, H.; M. KÜÇÜK; A. YILMAZ; M. YÖRÜK; L. ARSLAN; D.M. DE AVILA; J.J. REEVES (2009a)

Changes in testicular development, ultrasonographic and histological appearance of the testis in buck immunized against LHRH using recombinant LHRH fusion protein

Reproduction in Domestic Animals 44, 37-43

ÜLKER, H.; A. YILMAZ; F. KARAKUŞ; M. YÖRÜK; C. BUDAĞ; D.M. DEAVILA; J.J. REEVES (2009b)

LHRH fusion protein immunization alters testicular development, ultrasonographic and histological appearance of ram testis

Reproduction in Domestic Animals 44, 593-599

VARTORELLA, H.A.; H.A. BRADY; A.D. HERRING; S.D. PRIEN (2001)

Case study: The effects of an intermittent regiment of Altrenogest on behavioral, hormonal, and testicular parameters of three-year-old stallions

The Professional Animal Scientist 17, 317-321

WALKER, M.P.; D.L. THOMPSON; R.A. GODKE; P.G. HONEY (1984)

Active immunization of prepubertal bulls against testosterone: Seminal and testicular characteristics after puberty

Theriogenology 22 (3), 269–278

WICKINGS, E.J.; E. NIESCHLAG (1978)

The effects of active immunization with testosterone on pituitary-gonadal feedback in the male rhesus monkey (Macaca Mulatta)

Biology of Reproduction 18, 602-607

WICKS, N.; S. CROUCH; C.A. PEARL (2013)

Effects of Improvac and Bopriva on the testicular function of boars ten week after immunization

Animal Reproduction Science 142, 149-159

WEITZE, K.F. (2001)

Andrologischer Untersuchungsgang

In: BUSCH, W.; A. HOLZMANN

Veterinärmedizinische Andrologie: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung
bei männlichen Tieren

Schattauer Verlag, Stuttgart, 244-245

WOOD, G.N.; V. MOLONY; S.M. FLEETWOOD-WALKER (1991)

Effects of local anaesthesia and intravenous naloxone on the changes in
behaviour and plasma concentrations of cortisol produced by castration and tail
docking with tight rubber rings in young lambs

Research in Veterinary Science 51, 193-199

XIAO, H.; SUN, P.; SUN, F.; QIU, J.; WANG, J.; WANG, J.; LIN, Y.; GONG, X.;
ZHANG, L.; ZHANG, S. (2019)

Pharmacokinetics of Altrenogest in gilts

Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1-5

YAMAJI, T.; D.J. DIERSCHKE; A.N. BHATTACHARYA; E. KNOBIL (1972)

The negative feedback control by estradiol and progesterone of LH secretion in
the ovariectomized rhesus monkey

Endocrinology 90 (3), 771-777

YILMAZ, A.; F. KARAKUŞ; B. HAKAN; K. STORMO; F. CENGİZ; H. ÜLKER
(2018)

Evaluation of one-shot vaccination protocol for suppressing reproductive
functions in rams using encapsulated ovalbumin-LHRH-7 protein

Indian Journal of Animal Research 52 (3), 337-342

YOUNG, L.G.; G.J. KING (1986)

Low concentrations of Zearalenone in diets of boars for a prolonged period of time

Journal of Animal Science 63, 1197-1200

ZEHNDER, A.M.; J.C. RAMER; J.S. PROUDFOOT (2006)

The use of Altrenogest to control aggression in a male Grant's Zebra (*Equus burchelli boehmi*)

Journal of Zoo and Wildlife Medicine 31 (1), 61-63

ZHANG, Y.; T.G. ROZELL; D.M. DE AVILA; K.P. BERTRAND; J.J. REEVES (1999)

Development of recombinant ovalbumin-luteinizing hormone releasing hormone as a potential sterilization vaccine

Vaccine 17, 2185-2191

ZULAUF, M.; A. GUTZWILLER; A. STEINER; G. HIRSBRUNNER (2003)

Einfluss eines Schmerzmittels bei der unblutigen Kastration des männlichen Kalbes auf Kraftfutterverzehr, Gewichtszunahme und Serum-Cortisolspiegel

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 145 (6), 283-290

9 ANHANG

9.1 Körperliche Parameter

Körpergewicht (kg)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	35,40	2,51	33,45	3,83
2	38,00	4,02	36,80	3,97
3	39,15	4,26	37,80	5,56
4	40,75	4,65	39,45	6,47
5	41,80	4,82	40,85	6,65
6	41,25	5,35	39,20	6,80
7	43,80	4,62	40,40	6,43

Körperlänge (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	107,75	3,40	107,75	3,20
2	110,00	3,92	109,25	4,03
3	110,25	4,27	110,25	3,68
4	112,25	2,87	111,75	3,30
5	114,00	3,37	113,25	2,22
6	116,25	2,99	114,25	0,50
7	117,75	2,63	114,75	0,82

ANHANG

Widerristhöhe (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	67,25	3,59	66,75	4,57
2	67,75	3,40	67,25	4,99
3	68,25	2,75	68,50	2,65
4	69,00	3,37	69,00	2,58
5	70,38	2,63	70,50	3,11
6	71,75	2,22	70,75	4,19
7	72,00	2,16	72,50	4,27

Hodenlänge links (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	10,50	1,15	8,92	1,16
2	9,50	1,28	8,00	1,48
3	8,55	1,63	7,25	1,46
4	9,93	0,35	7,33	0,53
5	7,98	0,87	7,63	1,22
6	9,03	0,94	7,88	1,06
7	8,70	0,70	7,78	1,64

ANHANG

Hodenlänge rechts (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	10,60	1,16	9,57	0,55
2	9,55	1,20	8,43	0,99
3	8,73	1,45	7,90	0,62
4	9,84	0,19	7,52	0,32
5	8,05	0,72	8,22	0,50
6	9,03	0,92	8,40	0,46
7	8,75	0,61	8,72	0,49

Hodenbreite links (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	4,75	0,46	4,69	0,63
2	4,31	0,42	3,80	0,41
3	3,99	0,19	3,91	0,58
4	4,28	0,22	3,68	0,44
5	4,03	0,28	3,95	0,37
6	4,23	0,12	4,26	0,61
7	4,46	0,38	4,53	0,52

ANHANG

Hodenbreite rechts (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	4,75	0,45	4,53	0,38
2	4,28	0,33	3,63	0,47
3	4,09	0,30	3,60	0,45
4	4,28	0,22	3,50	0,35
5	4,13	0,22	3,95	0,38
6	4,23	0,21	3,87	0,41
7	4,51	0,52	4,20	0,17

Hodenbreite rechts (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	4,75	0,45	4,53	0,38
2	4,28	0,33	3,63	0,47
3	4,09	0,30	3,60	0,45
4	4,28	0,22	3,50	0,35
5	4,13	0,22	3,95	0,38
6	4,23	0,21	3,87	0,41
7	4,51	0,52	4,20	0,17

ANHANG

Hodentiefe links (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	5,75	0,50	4,58	0,15
2	4,38	0,54	3,48	0,24
3	4,25	0,54	3,30	0,29
4	4,78	0,66	3,30	0,37
5	3,98	0,51	3,33	0,21
6	3,78	0,54	0,90	0,41
7	4,18	0,29	3,65	0,58

Hodentiefe rechts (cm)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	5,79	0,46	4,60	0,20
2	4,38	0,56	3,50	0,20
3	4,29	0,54	3,43	0,25
4	4,68	0,71	3,10	0,31
5	3,74	0,51	3,25	0,30
6	3,83	0,56	3,73	0,06
7	4,05	0,17	3,70	0,10

ANHANG

Hodenvolumen (cm³)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	152,65	31,94	101,51	10,64
2	95,73	28,46	54,86	10,98
3	79,94	28,53	48,81	11,06
4	105,30	21,30	45,78	6,07
5	66,41	15,09	52,59	11,03
6	76,21	16,05	67,31	9,07
7	84,83	16,03	66,43	9,30

Hodenvolumina (cm³)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	Ziege Nr.		Ziege Nr.	
1	2	178,54	1	100,91
2	2	112,81	1	48,86
3	2	78,49	1	40,95
4	2	105,88	1	53,702
5	2	82,51	1	43,54
6	2	83,88	1	76,91
7	2	86,96	1	53,95
1	3	160,44	4	105,94
2	3	83,7	4	64,47
3	3	66,93	4	58,58
4	3	114,15	4	44,62
5	3	52,41	4	42,6
6	3	57,9	4	68,14
7	3	66,08	4	70,99
1	5	106,12	6	112,08
2	5	61,14	6	63,71
3	5	54,26	6	58,03

ANHANG

4	5	75,7	6	38,97
5	5	54,75	6	63,16
6	5	68,86	6	69,16
7	5	81,38	6	75,47
1	8	165,48	7	87,1
2	8	120,26	7	42,4
3	8	120,08	7	37,66
4	8	125,47	7	45,82
5	8	75,98	7	61,06
6	8	94,22	7	55,04
7	8	104,91	7	65,3

Hodenkonsistenz				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	1,00	0,00	1,00	0,00
2	1,00	0,00	2,00	1,15
3	1,00	0,00	2,00	1,15
4	1,00	0,00	2,50	1,00
5	1,00	0,00	2,25	0,96
6	1,00	0,00	1,75	0,96
7	1,00	0,00	1,25	0,50

Hodenkonsistenz (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test, Wechselwirkung Gruppe x Zeit)	
Zeitpunkt	p =
1	0,21
2	0,21
3	0,07
4	0,07
5	0,21
6	0,50
7	0,67

9.2 Grauwertanalyse

Grauwert Parenchym				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	21,44	2,26	18,03	5,03
2	21,98	3,04	19,55	3,86
3	20,40	3,99	20,67	0,78
4	22,91	1,85	23,00	2,53
5	20,63	3,56	20,13	1,69
6	21,40	3,22	23,07	1,85
7	23,79	2,09	24,58	1,00

9.3 Testosteronkonzentration

Testosteronkonzentration (ng/ml)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}_g$	SF	$\bar{x}_g$	SF
1	0,50	0,14	0,38	0,17
2	2,15	3,58	0,60	0,47
3	0,73	0,54	1,18	1,43
4	1,30	1,15	3,25	3,82
5	2,03	1,75	1,45	1,78
6	2,03	1,65	2,55	1,49
7	1,68	1,63	4,63	3,09

Testosteronkonzentration (nmol/l)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}_g$	SF	$\bar{x}_g$	SF
1	1,73	0,57	1,25	0,70
2	7,40	12,43	2,13	1,65
3	2,48	1,91	4,20	4,92
4	4,43	3,99	11,38	13,28
5	7,13	6,05	5,03	6,24
6	7,00	5,66	8,83	5,16
7	5,73	5,64	16,08	10,68

Testosteronkonzentration			
Ziege Nr.	Zeitpunkt	ng/ml	nmol/ml
1	1	0,4	1,3
1	2	0,4	1,4
1	3	0,2	0,9
1	4	0,3	1,2
1	5	0,4	1,2
1	6	3,5	12,1

ANHANG

1	7	2,3	8,0
2	1	0,6	2,0
2	2	0,7	2,4
2	3	1,5	5,2
2	4	2,8	9,6
2	5	1,7	6,1
2	6	4,2	14,4
2	7	2,3	7,9
3	1	0,6	2,2
3	2	7,5	26,0
3	3	0,7	2,4
3	4	0,3	0,9
3	5	0,4	1,5
3	6	2,4	8,4
3	7	0,3	1,0
4	1	0,2	0,6
4	2	0,4	1,3
4	3	0,5	1,8
4	4	0,4	1,4
4	5	0,9	3,1
4	6	2,4	8,4
4	7	8,9	30,8
5	1	0,3	0,9
5	2	0,3	1,0
5	3	0,4	1,2
5	4	1,6	5,5
5	5	1,5	5,2
5	6	0,6	2,1
5	7	0,4	1,3
6	1	0,6	2,2
6	2	1,3	4,6

ANHANG

6	3	0,7	2,6
6	4	3,9	13,6
6	5	0,4	1,5
6	6	0,5	1,7
6	7	2,4	8,4
7	1	0,3	0,9
7	2	0,3	1,2
7	3	3,3	11,5
7	4	8,4	29,3
7	5	4,1	14,3
7	6	3,8	13,1
7	7	4,9	17,1
8	1	0,5	1,8
8	2	0,1	0,2
8	3	0,3	1,1
8	4	0,5	1,7
8	5	4,5	15,7
8	6	0,9	3,1
8	7	3,7	12,7

9.4 Spermatologische Parameter

Ejakulatvolumen (ml)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}_g$	SF	$\bar{x}_g$	SF
1	0,60	0,29	0,60	0,24
2	0,43	0,26	0,50	0,42
3	0,30	0,17	0,80	0,28
4	0,43	0,17	0,48	0,04
5	0,33	0,15	0,40	0,42
6	0,35	0,21	0,35	0,21
7	0,37	0,25	0,20	0,21

ANHANG

pH-Wert				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	6,63	0,22	6,98	0,41
2	6,70	0,22	6,60	0,14
3	6,80	0,35	6,60	0,28
4	6,73	0,32	7,05	0,21
5	6,90	0,14	7,50	0,71
6	7,00	0,00	7,20	0,00
7	6,97	0,64	6,85	0,21

Massenbewegung				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	2,00	0,82	2,25	0,50
2	2,25	0,96	3,00	0,00
3	3,00	0,00	1,00	1,41
4	1,75	0,96	1,50	2,12
5	2,00	1,41	1,50	2,12
6	2,33	0,58	1,00	1,41
7	1,33	1,53	1,00	1,41

Massenbewegung	
(Wilcoxon-Mann-Whitney-Test, Wechselwirkung Gruppe x Zeit)	
Zeitpunkt	p =
1	0,47
2	0,10
3	0,33
4	0,27
5	0,20
6	0,50
7	0,33

Vorwärtsbewegung (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	73,75	11,48	87,50	5,00
2	71,25	16,52	62,50	3,54
3	70,00	20,00	50,00	28,28
4	67,50	9,57	77,50	10,61
5	81,25	13,15	62,50	31,82
6	70,00	17,32	45,00	49,50
7	55,00	37,75	57,50	38,90

ANHANG

Ortsbewegung (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00
3	1,67	2,89	10,00	14,14
4	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00

Anteil lebender Spermien (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	62,25	20,53	86,63	8,72
2	65,50	2,04	77,75	11,67
3	62,50	27,03	52,00	4,24
4	54,00	20,96	63,50	13,44
5	72,36	17,12	62,50	48,79
6	67,50	8,26	40,00	17,68
7	45,50	41,90	53,50	43,13

ANHANG

Dichte (Mio/μl)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	2,58	1,49	3,65	1,87
2	1,29	0,55	3,61	0,35
3	1,11	0,34	2,17	0,76
4	1,33	1,07	2,81	0,78
5	1,38	0,93	1,36	0,10
6	1,71	0,97	1,52	0,84
7	2,44	1,35	2,88	1,75

Gesamtpermienzahl (Mio)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	1,66	1,27	2,11	1,14
2	0,54	0,32	1,73	1,36
3	0,37	0,32	1,84	1,22
4	0,68	0,68	1,32	0,27
5	0,50	0,50	0,75	0,97
6	0,68	0,48	0,62	0,62
7	1,07	0,85	0,82	0,00

ANHANG

Pathologisch veränderte Spermien (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	2,75	2,25	4,13	4,11
2	2,00	2,04	7,25	5,30
3	2,67	1,26	6,25	0,35
4	2,25	1,94	7,75	9,55
5	1,88	1,44	8,75	8,13
6	1,00	1,00	9,50	9,90
7	2,67	2,02	3,00	2,82

Abgelöste Köpfe (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,63	0,48	1,00	2,00
2	0,63	0,63	0,00	0,00
3	0,17	0,29	0,00	0,00
4	1,50	2,04	1,50	1,41
5	0,25	0,50	2,00	0,71
6	0,00	0,00	2,25	0,35
7	0,83	1,04	2,75	3,18

ANHANG

Abgeknickte Schwänze (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	1,13	1,60	1,63	1,32
2	0,38	0,48	2,25	1,77
3	0,67	0,76	4,25	2,47
4	0,25	0,29	1,00	1,41
5	0,00	0,00	0,75	1,06
6	0,50	0,50	0,50	0,00
7	0,33	0,58	0,25	0,35

Schleifenförmige Schwänze (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,38	0,48	0,50	0,58
2	0,13	0,25	0,00	0,00
3	1,50	1,80	2,00	2,83
4	0,38	0,48	0,25	0,35
5	0,63	0,75	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,50	0,71
7	0,83	1,44	0,00	0,00

ANHANG

Aufgerollte Schwänze (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,25	0,29	2,13	2,46
2	0,50	0,71	3,75	5,30
3	0,33	0,58	0,00	0,00
4	0,13	0,25	4,75	6,72
5	0,50	0,71	5,50	7,78
6	0,33	0,58	6,00	8,48
7	0,67	1,15	0,00	0,00

Abaxiale Schwanzansätze (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,00	0,00	0,00	0,00

Plasmatropfen (%)				
Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	0,38	0,48	1,88	1,44
2	0,38	0,48	1,25	1,77
3	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,25	0,35
5	0,50	1,00	0,50	0,71
6	0,17	0,29	0,25	0,35
7	0,00	0,00	0,00	0,00

9.5 Libidoscore

Zeitpunkt	Kontrollgruppe		Versuchsgruppe	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	3,50	0,58	3,75	0,50
2	3,00	1,15	2,00	2,31
3	2,75	1,89	2,50	1,73
4	3,00	0,82	2,50	1,73
5	3,25	0,96	2,25	2,06
6	2,50	1,91	1,75	2,06
7	2,75	1,89	3,00	1,15

Libidoscore	
(Wilcoxon-Mann-Whitney-Test, Wechselwirkung Gruppe x Zeit)	
Zeitpunkt	p =
1	0,32
2	0,50
3	0,32
4	0,21
5	0,29
6	0,50

7	0,40
---	------

9.6 Durchmesser Tubuli seminiferi contorti (μm)

9.6.1 Kontrollgruppe

Tier Nr.	Linker Hoden		Rechter Hoden	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
2	207,71	28,24	199,66	17,72
3	196,48	16,75	225,67	14,25
5	204,51	18,60	195,18	22,95
8	215,61	20,53	200,82	18,05
Gruppe gesamt: $\bar{x} = 205,64$, $s = 22,30$				

9.6.2 Versuchsgruppe

Tier Nr.	Linker Hoden		Rechter Hoden	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	228,08	42,40	96,68	8,09
4	214,87	16,64	232,24	12,96
6	205,02	20,78	208,92	20,43
7	199,50	19,85	229,56	16,72
Gruppe gesamt: $\bar{x} = 201,86$, $s = 46,78$				

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Professor Dr. Axel Wehrend für die Überlassung des lehrreichen Themas, für seine stete Förderung und für die verlässlich und schnell durchgeführten Korrekturen.

Vielen Dank auch an Privatdozentin Dr. Daniela Fietz für ihre freundlichen, umfangreichen und konstruktiven Anmerkungen zu meiner Dissertation.

Dr. Klaus Failing und Andreas Schaubmar von der Arbeitsgruppe Biomathematik danke ich für die geduldige und angenehme Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse.

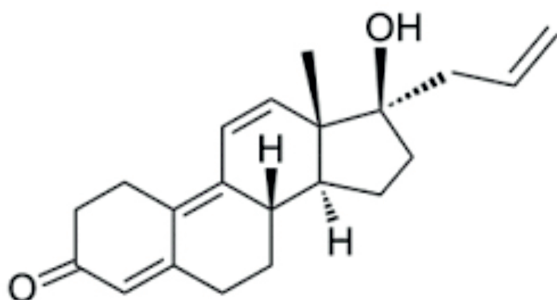
Ein Dankeschön an Julia Blad-Stahl für ihre Anleitung im Labor und an alle involvierten Tierpfleger für die Betreuung und das Handling der nicht immer unkomplizierten Ziegenböcke.

Kirsten Hahn danke ich für die tolle Zusammenarbeit, für ihre Motivation, ihre Zielstrebigkeit und für eine unbezahlbare Freundschaft. Ein herzlicher Dank geht an Christian Schürmann, der viel Freizeit geopfert hat, um uns zu assistieren und uns eine riesige, immer gut gelaunte Hilfe war.

Auch bei den weiteren (aktuellen und ehemaligen) Mitarbeitern der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie möchte ich mich für eine schöne und lehrreiche Zeit bedanken, die ich während der Anfertigung meiner Dissertation mit euch verbringen durfte. Ich habe viele Freundschaften geschlossen, die hoffentlich noch sehr lange anhalten werden.

Der größte Dank gilt meinen Eltern für ihre kompromisslose und unerschütterliche Unterstützung in allen Lebenslagen. Ohne euch hätte ich diesen Weg nicht gehen können; ich hoffe, ihr seid stolz auf euer jüngstes Kind! Meinen Geschwistern Hannah und Steffen sowie meinen Freunden ein herzlicher Dank für den moralischen Beistand.

Nicht zuletzt möchte ich Markus Kirsch danken, für seine Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen und für seine unermüdlichen Aufmunterungen während des schwierigen Balanceaktes zwischen der Anfertigung dieser Dissertation und dem Berufseinstieg. Du warst immer an meiner Seite und bist zu einem unentbehrlichen Rückhalt in meinem Leben geworden.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

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

ISBN: 978-3-8359-6838-7



9 783835 196838 7