

# **Effekt på östralcykeln hos ston tillförda GnRH-analogen deslorelin (Ovuplant)**

**Ingeborg Tormalm**

**Handledare: Hans Kindahl**  
**Institutionen för kliniska vetenskaper**  
**Biträdande handledare: Elisabeth Hemberg**

---

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Fakulteten för veterinärmedicin och**  
**husdjursvetenskap**  
**Veterinärprogrammet**

**Examensarbete 2006:7**  
**ISSN 1652-8697**  
**Uppsala 2007**

<b>Sammanfattning</b> .....	<b>3</b>
<b>Summary</b> .....	<b>3</b>
<b>Litteraturoversikt</b> .....	<b>4</b>
<b><i>Inledning</i></b> .....	<b>4</b>
<b><i>Reproduktionsfysiologi</i></b> .....	<b>4</b>
<i>Brunstcykel</i> .....	<b>4</b>
<i>Follikelvågor</i> .....	<b>5</b>
<i>Ovulation</i> .....	<b>5</b>
<i>Corpus luteum och luteolys</i> .....	<b>5</b>
<i>Progesteron</i> .....	<b>6</b>
<b><i>Förlängd lutealfas</i></b> .....	<b>6</b>
<i>Maternal recognition of pregnancy</i> .....	<b>7</b>
<b><i>Läkemedel som används inom reproduktion</i></b> .....	<b>8</b>
<i>Ovuplant-studier</i> .....	<b>9</b>
<b>Experimentell studie</b> .....	<b>11</b>
<b><i>Inledning</i></b> .....	<b>11</b>
<b><i>Material och metoder</i></b> .....	<b>11</b>
<i>Brunstkontroll</i> .....	<b>11</b>
<i>Blodprov och analysmetod</i> .....	<b>12</b>
<i>Undersökning</i> .....	<b>12</b>
<i>Genomförande</i> .....	<b>12</b>
<b><i>Resultat</i></b> .....	<b>13</b>
<i>Lupin</i> .....	<b>13</b>
<i>Julia</i> .....	<b>15</b>
<i>Mermaid</i> .....	<b>16</b>
<i>Evita</i> .....	<b>17</b>
<i>Ocho</i> .....	<b>18</b>
<i>Tanga</i> .....	<b>19</b>
<b><i>Diskussion</i></b> .....	<b>20</b>
<b>Tack</b> .....	<b>21</b>
<b>Litteraturförteckning</b> .....	<b>22</b>
<i>Bilaga 1.</i> .....	<b>24</b>

## **SAMMANFATTNING**

Uppsatsen börjar med en litteraturstudie som tar upp normal reproduktionsfysiologi, förlängd lutealfas och läkemedel som används inom hästreproduktion, med tyngdpunkt på Ovuplant<sup>®</sup>. Syftet med studien var att mäta progesteronnivåerna i blodet hos ston implanterade med deslorelinacetat (Ovuplant<sup>®</sup>) subkutant. Studien utfördes på institutionen för kliniska vetenskaper vid SLU, Uppsala. I försöket ingick sju varmblodiga travarston som genom lottning delades in i en försöksgrupp (fyra ston) och en kontrollgrupp (tre ston). Ovuplant<sup>®</sup> implanterades subkutant på de fyra ston som ingick i försöksgruppen och fysiologisk koksaltlösning injicerades på de tre stona i kontrollgruppen. Därefter uppmättes progesteronnivåerna i blodet tre dagar i veckan under en period av ca 3 månader.

Studien visade att alla ston som fått Ovuplant<sup>®</sup> implanterat subkutant visade förhöjda nivåer av progesteron i blodet i 24 (ett sto, lutealfasen avslutad med PGF<sub>2α</sub>) respektive minst 45 (tre ston) dagar. De ston som ingick i kontrollgruppen hade alla normala cykler.

Slutsatsen av studien blir att Ovuplant<sup>®</sup> kan ge upphov till förlängd lutealfas och kan vara en möjlig behandlingsmetod för ston med problembrunster.

## **SUMMARY**

This article starts with a review of the literature regarding the normal reproductive physiology of the mare, prolonged luteal phase and medical drugs used within reproduction of the horse, with emphasis on Ovuplant<sup>®</sup>. The purpose of this article was to measure the progesterone level in blood, of mares implanted with deslorelin acetate (Ovuplant<sup>®</sup>). The study was performed at the Department of Clinical Sciences, SLU, in Uppsala. There were seven mares included in the study. They were divided into two groups, one experimental group (four mares) and one control group (three mares). Ovuplant<sup>®</sup> was implanted subcutaneous in the four mares in the experimental group and physiological saline solution was injected in the three mares in the control group. Progesterone level in the blood was thereafter measured three times a week of a period of three months.

The result of the study showed that all mares of the control group had high level of progesterone in the blood for 24 (one mare, the luteal phase was interrupted with PGF<sub>2α</sub>) and at least 45 days (three mares), respectively. The mares in the control group had all normal cycles.

The conclusion of the study is that Ovuplant<sup>®</sup> can cause prolonged luteal phase and could be a future way to treat mares with strong oestrous symptoms.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Inledning

Kontrollerad ovulation har länge varit i bruk inom hästavel och en metod som bland annat används i Australien och Nordamerika är implantat med GnRH-analogen deslorelin (Ovuplant<sup>®</sup>). Syftet med denna studie är att mäta progesteronnivåerna i blodet hos ston som fått deslorelinacetat implanterat subkutant och jämföra med progesteronnivåerna hos en kontrollgrupp, som inte tillförts deslorelinacetat. Anledningen till försöket är att tidigare studier (Johnson *et al*, 2000, Johnsson *et al*, 2002 a och b), har visat på förlängda ovulationsintervall hos ston behandlade med Ovuplant<sup>®</sup>, som efter insemination eller betäckning inte blivit dräktiga. Om studien påvisar att förlängd lutealfas uppstår är syftet vidare att diskutera om denna bieffekt kan utnyttjas som behandling av ston med starka brunstsymptom. Uppsatsen inleds med en litteraturstudie av den normala reproduktionsfysiologin, ”maternal recognition of pregnancy” samt kort om förlängd lutealfas. Dessutom beskrivs en del av de läkemedel som används inom reproduktion hos häst.

### Reproduktionsfysiologi

Under den mörkare delen av året är de flesta ston anöstrala (viloperiod), höst och vår är så kallade övergångsperioder och den ljusa delen av året (mars till september) kallas för den ovulatoriska perioden, det är då stoet har sin främsta reproduktionsaktivitet. Djur med förändrad reproduktionsaktivitet styr av ljuset kallas för säsongsmässigt polyöstrala (Ginther, 1992).

Östrus är normalt några dagar längre i början på säsongen (mars-april). Det beror på den successivt endokrina förändringen (som är kopplat till mängden ljus), som sker hos stoet under våren. En ökad mängd dagsljus får, via retina i ögat, epifysen att minska mängden melatoninfrisättning. Minskad mängd melatonin påverkar hypotalamus att öka mängden GnRH (gonadotropinfrisättande hormon), GnRH i sin tur stimulerar hypofysen att öka syntesen av FSH (follikelstimulerande hormon) och LH (luteiniserande hormon). LH och FSH påverkar ovarierna och ovarierna påverkar hypofysen via östrogen, inhibin och progesteron (Noakes, 2001).

#### *Brunstcykel*

Stoets brunstcykel varar i genomsnitt i 21-22 dagar under den ovulatoriska perioden och brukar delas in i proöstrus (förbrunst), östrus (högrunst) samt diöstrus (lutealfas). Under dessa perioder sker follikelutveckling, ovulation, gulkroppsbildning och luteolys. Östrus varar i genomsnitt 5-7 dagar och diöstrus 15 dagar med en normalvariation på 14-16 dagar (Ginther, 1992).

### *Follikelvågor*

Follikeltillväxt och follikelatresi (tillbakabildning) sker under hela östralcykeln. Follikeltillväxten sker ofta i två omgångar (vågor). Det är vanligtvis en grupp folliklar som tillväxer synkront, varav en eller två blir dominanta, de övriga som kallas underordnade tillbakabildas. Uppdelning i dominant och underordnad follikel sker vid en storlek på ca 25 mm ungefär 6-7 dagar före ovulation. Den dominanta follikeln fortsätter att växa till dess den ovulerar eller går i atresi. Vilken storlek den har vid ovulation varierar kraftigt, med ett genomsnitt på 45 till 65 mm hos stora ston (Ginther, 1992). Man vet ännu inte varför så många folliklar växer till på samma gång. Eventuellt behövs många folliklar för hormonell påverkan på ovarierna.

Troligtvis spelar både LH och FSH roll vid val av vilken follikel som blir dominant. LH ökar ungefär vid samma tid som den dominanta follikeln "väljs" ut och fortsätter sedan vara högt. Vid samma tid som LH höjs, börjar FSH att sjunka. De växande folliklarna producerar östradiol-17 $\beta$  och inhibin. Stoet börjar visa brunstbeteende i samband med ökad halt av östradiol-17 $\beta$ , samtidigt som könsvägarna förändras för att underlätta transport av sperma (Hughes *et al*, 1980).

### *Ovulation*

Ovulation sker i genomsnitt 24-48 timmar före slutet på östrus. Ju större follikeln är vid första dagen på östrus desto kortare blir intervallet till ovulation. Ovulation sker enbart mot ovulationsgropen på ventrala sidan av äggstocken. När stoet har ovulerat går de ur östrus, det är ovulationstidpunkten som styr längden på brunsten (Ginther, 1992).

### *Corpus luteum och luteolys*

Efter ovulation sker gulkroppsbildning. Corpus luteum (gulkroppen) bildas från follikelns granulosaaceller. Luteinisering av granulosaacellerna är komplett ungefär 3 dagar efter ovulation och fortsätter att växa i storlek ytterligare 5-7 dagar. Då når även progesteronet sin högsta nivå (se nedan) (Niswender *et al*, 1993).

Lutealfasen avslutas då prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  frisätts till cirkulationen (Neely *et al*, 1979). Prostaglandin produceras i endometriet vid frånvaro av ett embryo och frisätts i pulsvågor. Hur prostaglandinfrisättningen påbörjas vet man inte, men långvarig progesteronpåverkan på livmodern tillsammans med en höjd östradiolnivå i blodet tror man behövs för att prostaglandin ska produceras (King & Evans, 1988).

Även oxytocin är av betydelse för luteolysen. Bland annat vet man att mängden oxytocinreceptorer ökar i endometriet runt dagarna för luteolys, livmodern svarar även bäst på oxytocin dessa dagar, men bara om höjda nivåer av östradiol och progesteron föreligger (Neely *et al*, 1979). Nedbrytning av gulkroppen påbörjas redan dag 12 efter ovulation samtidigt som progesteronnivåerna sjunker. Luteolysen börjar med att gulkroppens funktion hämmas, vilket går fort, fortsättningsvis sker en strukturell nedbrytning av gulkroppen, som tar längre tid (Noakes, 2001).

### *Progesteron*

Äggstockarna innehåller två temporära endokrina körtlar, follikeln och corpus luteum, där corpus luteum utvecklas från den ovulerade follikeln (Ginther, 1974). Corpus luteums uppgift är att producera progesteron vilket påbörjas inom 24 timmar efter ovulation. Progesteronets uppgift är att bibehålla dräktigheten. I mitten på diöstrus, när celltillväxten är avslutad, når progesteronnivåerna sitt högsta värde (Reynolds & Redmer, 1999). Hos det icke dräktiga stoet är nivåerna därefter höga till och med dag 14-15 efter ovulation. Hos det dräktiga stoet tas produktionen över av placentan dag 60. Placentan producerar framför allt 5 $\alpha$ -pregnan. Utan progesteron/pregnan kan dräktigheten inte kvarstå och förlust av produktion resulterar i abort (Kindahl, 2000).

Progesteron är ett steroidhormon med kolesterol som prekursor. Kolesterol omvandlas till pregnenolon som i sin tur omvandlas till progesteron. Follikeln i äggstocken är uppbyggd av granulosa- och thecaceller där båda celltyperna producerar steroidhormoner. Granulosacellerna står för omvandling av pregnenolon till progesteron som sen passerar till thecacellerna och omvandlas till östradiol. Östradiol ökar i koncentration strax före ovulation och minskar åter i samband med att follikeln går i atresi.

Progesteronet hämmar brunstbeteende, åstadkommer en sammandragning av cervix och framför allt förbereder endometriet för implantation och vidmakthållandet av dräktigheten. Det sker genom en ökning av körtelaktiviteten i endometriet och genom hämning av motiliteten i myometriet. Progesteron kan mätas i blod och återspeglar väl sekretionen från den endokrina körteln (gulkroppen eller foster-placentaenheten). Hög progesteronkoncentration, >10 nmol/l, indikerar normal gulkroppsfunction, (follikeln har ovulerat och en corpus luteum har bildats). Värden mellan 3 och 10 nmol/l ses ofta vid spontan förlängning av lutealfasen. Värden <3 nmol/l tyder på avsaknad av gulkropp, provet kan antingen tagits i follikelfas alternativt har stoet inaktiva äggstockar.

### **Förlängd lutealfas**

Förlängd lutealfas karakteriseras av höga progesteronnivåer i blodet, hos det icke dräktiga stoet, under en längre tid än normalt (Ginther, 1992). Förlängd lutealfas kan uppstå om endometriet misslyckas med att producera prostaglandin och gulkroppen kvarstår. Utebliven eller låg prostaglandinfrisättning kan ske på grund av infektion eller vid skadat endometrium. Livmodern blir då oförmögen att producera prostaglandin och ju större skada desto sämre produktion (Hughes *et al*, 1979). Förlängda lutealfaser kan också uppstå fysiologiskt eller spontant. Fysiologiskt förlängd lutealfas sker i början av dräktighet. Vid närvaro av ett embryo producerar inte livmodern prostaglandin och luteolysen uteblir (se MRP nedan) (Kindahl *et al*, 1982). Spontant förlängd lutealfas är vanligt och uppstår temporärt hos nästan alla ston. Förlängningen kan kvarstå mellan några dagar upp till 2-3 månader. Spontant kvarstående gulkropp tros vara orsakad av att livmodern inte kan syntetisera prostaglandin i tillräckligt stor mängd, trots att livmodern inte är skadad eller har en infektion. Det antas också vara till följd av diöstrusovulation (Neely *et al*, 1979). Häst

har som tidigare nämnts ofta 2 follikelvågor per cykel med ca 20 folliklar per våg. Det är framför allt under övergångsperioden på våren man kan se en stor follikelaktivitet men där alla folliklar inte ovulerar. Man brukar dela in vågorna i primära och sekundära, där den sekundära vågen sker under diöstrus. Den dominanta follikeln som utvecklas under sekundärvågen, kan antingen gå i atresi eller ovulera. Ovulation trots höga progesteronvärden är unikt för häst och sker spontant (Ginther, 1992). Inga tecken på brunst följer diöstrusovulationen. Cervix är blek och mukosan är viskös. Stoet är inte intresserat av hingsten. Sker ovulationen före dag 10 i diöstrus kan både den primära och den sekundära gulkroppen svara på den normala prostaglandinfrisättningen och gå i luteolys. Längden på östruscykeln är då normal. Om diöstrusovulationen sker sent i lutealfasen, när prostaglandinnivåerna redan är höga, kan inte den sekundära gulkroppen svara, den är refraktär för prostaglandin och följden blir en förlängd progesteronfas. Ovulation i diöstrus är vanligare under sommarmånaderna och ses mer ofta hos halvblod och varmblood än hos ponnys (Ginther, 1992). Förlängd lutealfas används i vissa fall som behandlingsmetod. Vissa ston har mycket starka brunstsymptom, en del blir svårhanterliga eller aggressiva. Det är speciellt problematiskt hos tävlingshästar när brunsterna kommer mitt i tävlingssäsongen. Flera olika metoder har provats för att förlänga progesteronfasen och på så sätt undvika östrus, bland annat intrauterina glaskulor, långtidsverkande progesteronpreparat samt humant koriongonadotropin. Ston kan dessutom visa brunstbeteende trots inaktiva eller vid avsaknad av äggstockar vilket gör dem extra svåra att behandla vid den här typen av problem (Hedberg Alm, 2006).

#### *Maternal recognition of pregnancy*

Hästen har med tiden utvecklat flera interaktioner mellan embryo och uterus som inte ses hos andra djurslag. Från ovulation fram till funktionell placenta sker morfologiska, immunologiska och endokrinologiska förändringar i äggstock och uterus, varav flertalet är unika för häst.

Man har kunnat påvisa att embryo, till skillnad från icke fertiliserad oocyt, utsöndrar prostaglandin E<sub>2</sub> dag 5 efter ovulation (Weber *et al*, 1992). Hormonets funktion är att relaxera glatta muskulaturen lokalt i äggledaren, vilket tillåter ägget att förflytta sig framåt. I genomsnitt tar det 5-6 dagar efter ovulation för embryot att nå uterus. Det är bara fertiliserade ägg som når uterus medan de icke fertiliserade stannar kvar i äggledaren där de bryts ned, vilket kan ta upp till flera månader. En av orsakerna till denna olikhet är skillnaden på ytstrukturerna, där det fertiliserade ägget är alldeles slät till skillnad från det icke fertiliserade ägget som har flertalet oregelbundna mikrovilli på ytan (Allen, 2000).

Fortsatt progesteronproduktion från corpus luteum är, som tidigare nämnts, av högsta vikt för embryots överlevnad (Reynolds & Redmer, 1999). Progesteronnivåerna i blodet är lika hos det dräktiga och det icke dräktiga stoet fram till dag 14-15 då en hastig sänkning av progesteronet ses hos det icke dräktiga stoet. Genom undersökningar som innebar att man tog bort embryot från uterus vid olika tidpunkter kunde man komma fram till en ”kritisk tidpunkt”, då embryot måste kunna påvisa sin närvaro i uterus, för att progesteronproduktionen skulle fortgå. Det visade sig att dag

11-14 var den kritiska tidpunkten och att ägget påvisade sin närvaro för modern genom att förflytta sig runt i hela uterus. Det kallas för ”maternal recognition of pregnancy”. Embryots rörelse i livmodern pågår fram till dag 15-17 då fixeringen sker (Ginther, 1998). Man är än så länge inte helt säker på vad som får prostaglandinfrisättningen att utebli. Man vet att embryots förflyttning i uterus spelar roll men man vet inte vilka faktorer som är direkt antiluteolytiska (Allen, 2000).

Försök gjorda av bland annat Ginther, har påvisat att embryot måste kunna förflytta sig i hela livmodern. Vid försöken ligerades delar av livmodern av, vilket förhindrade kontakt mellan embryo och uterus. Det resulterade i total eller partiell luteolys. Det är peristaltiska kontraktioner i livmoderns myometrium som hjälper embryot till rörelse (Ginther, 1998).

Hos kvinna bildas hCG i samband med implantationen. Stoet har också ett koriongonadotropin (eCG) som bildas i endometriets ”endometrial cups”. Cellernas ursprung härrör från fostrets trophoblastceller i koriongördeln. eCG har både FSH- och LH-aktivitet men FSH-aktiviteten dominerar till skillnad från hCG där LH dominerar. eCGs funktion är framför allt att stimulera primära corpus luteum vid dräktighet, samt efter dag 35, bildning av de sekundära gulkropparna (Kindahl, 2000).

### **Läkemedel som används inom reproduktion**

Receptal<sup>®</sup> vet (buserelin) är en syntetisk analog till det kroppsegna GnRH. Dess verkningsmekanism är densamma som endogent GnRH - det inducerar sekretion av LH samt FSH från hypofysen vilket i sin tur medför follikelmognad, ovulation och luteinisering. Indikationen på häst är styrning av tidpunkt för ovulation (brunstsynkronisering). Effektdurationen är kortvarig, därför är det 0 dagars slaktkarens. Tävlingskarensen är 96 timmar. Inga reaktioner är kända vid överdosering.

Dinolytic<sup>®</sup> vet (prostaglandin F<sub>2α</sub>), utlöser kontraktioner i livmodern och tarmens muskulatur. Efter tillförsel sker en snabb tillbakabildning av corpus luteum och sänkning av progesteronkoncentrationen i blodet. Corpus luteum är dock okänslig de första 4 dagarna efter ovulation. Indikationen på häst är synkronisering av brunst, behandling av utebliven brunst (vid närvaro av aktiv gulkropp), induktion av abort, avbrytande av patologisk dräktighet, behandling av kronisk metrit och pyometra. Vid förekomst av stora folliklar kan ovulation fås med prostaglandinbehandling. Biverkningar som kan ses på häst är orsakade av sammandragning av glatt muskulatur, såsom svettningar, ökad rektaltemperatur, hjärtklappning och ökad andningsfrekvens. Dinolytic<sup>®</sup> vet ska därför inte ges till djur med sjukdom i lungor, mag-tarmkanal, eller blodkärl. Bieffekterna försvinner vanligen inom en timme. Estrumat<sup>®</sup> vet och Prosolvin<sup>®</sup> vet är syntetiska prostaglandinanaloger med liknande egenskaper och indikationer hos häst. Slaktkarens är 1 dag för samtliga preparat och tävlingskarensen är 96 timmar.



Pregnyl<sup>®</sup>, är ett humant läkemedel som används för styrd ovulation på häst. Det är ett glykoprotein - humant koriongonadotropin (hCG). Administration av hCG hos ston med en preovulatorisk, växande follikel på minst 35 mm i diameter inducerar ovulation inom 48 timmar i ca 80 % av fallen (Bergfelt, 2000). Då hCG är kroppsfrämmande för häst kan man få antikroppssvar och allergichock vid upprepad användning (Kindahl, 2000).

Regumate<sup>®</sup> Equine, innehåller den syntetiska progestagenen altrenogest (licenspreparat). Det är en steroid med progesteronegenskaper som kan ges i fodret. Det kan användas både för östrusinduktion när progesteronet sätts ut efter några dagars användning, samt kontroll/dämpning av brunstsymptom. Man bör kontrollera att viss follikelaktivitet finns före användning. Det ska heller inte användas vid diagnosticerad endometrit.

Ovuplant<sup>®</sup> (deslorelinacetat, syntetiskt GnRH-analog) består av ett implantat innehållande 2,1 mg deslorelinacetat. Implantatet sätts subkutant i nacken när stoet har en follikel som är större än 30 mm i diameter. Indikationen är att inducera ovulation inom 48 timmar. Detta sker genom att deslorelinacetat ökar koncentrationen av framför allt endogent LH. Detta i sin tur ger en kortare brunstduration, vilket minskar antalet undersökningstillfällen som krävs för att fastställa rätt tidpunkt för insemination. Stoet ska betäckas eller insemineras inom 48 timmar efter ovulation ([www.peptech.com](http://www.peptech.com)). Ovuplant<sup>®</sup> finns än så länge bara på licens i Sverige.

#### *Ovuplant-studier*

Ovuplant blev 1998 godkänt i USA. Problem såsom förlängt intervall till ny östrus rapporterades under samma år. Johnson *et al* (2000) gjorde en studie för att undersöka detta och 25 ston användes. De undersöktes dagligen med ultraljud för att detektera folliklar. När en follikel blev större än 30 mm i diameter injicerades stoet med "sham injektion" eller fick Ovuplant<sup>®</sup> implanterat. Sju dagar efter ovulation injicerades stona med prostaglandin F<sub>2α</sub> och undersöktes varannan dag till dess de åter ovulerade. Resultatet visade att ston behandlade med Ovuplant<sup>®</sup> utvecklade folliklar med mindre diameter i nästkommande östrus jämfört med kontrollgruppen. Tiden till ovulation efter injektionen i den behandlade brunsten var kortare och mer synkron hos stona med deslorelinimplantat jämfört med kontrollgruppen men intervallet till nästkommande ovulation var 6,2 dagar längre förutom 2 ston som hade över 30 dagar. Samma författare har i fortsatta studier (2002 a och b), visat att höga doser deslorelinacetat som implanteras eller injiceras ger upphov till en viss eller total nedreglering av äggstockarna.

I en studie gjord av McKinnon *et al* (1993), följdes 130 cykler hos ston under en period av 5 månader. Studien jämförde bland annat tiden till första ovulation mellan 4 grupper tillförda olika mängder deslorelin samt hCG. Ca 25 ston fanns i vardera grupp och första gruppen tillfördes 1,3 mg deslorelin, andra gruppen fick 1,6 mg deslorelin, tredje gruppen fick 2,2 mg deslorelin (denna grupp ligger närmast den mängd som vi använder idag) och fjärde gruppen fick 3000 iu hCG. En femte grupp användes som kontrollgrupp och de fick ovulera spontant. Tiden till ovulation visade

sig vara signifikant kortare hos stona i behandlingsgrupperna jämfört med kontrollgruppen. Ingen skillnad i tid till ovulation kunde mätas mellan gruppen som fick hCG och gruppen som fick 2,2 mg deslorelinacetat.

Samper *et al* (2002) jämförde också tiden till ovulation vid användandet av hCG och deslorelinacetat. I försöket ingick totalt 32 ston som slumpmässigt indelades i två grupper. Den ena gruppen bestod av 12 ston som behandlades med 2 500 enheter Chorulon (hCG). Den andra gruppen bestod av 20 ston som behandlades med Ovuplant<sup>®</sup> subkutant. Stona undersöktes därefter var 12:e timme tills ovulation hade skett. Resultatet visade att av de ston behandlade med hCG hade 83,3 % ovulerat inom 48 timmar, 91,6 % inom 72 timmar och 100 % inom 96 timmar. Alla ston behandlade med deslorelin hade ovulerat inom 48 timmar.

Farquhar *et al* (2001) undersökte i en studie FSH, LH och follikelaktiviteten hos 16 ston varav åtta ston tillfördes 2,1 mg deslorelinacetat när follikeln var >35 mm i diameter och åtta tilläts att ovulera spontant. Serumkoncentration av gonadotropin och follikelaktivitet analyserades dagligen. Resultatet visade att interovulatoriska intervall var längre ( $25,6 \pm 2,6$  dagar) och att diametern på folliklarna under diöstrus var signifikant mindre hos de behandlade stona än hos kontrollgruppen ( $22,9 \pm 1,8$  dagar). FSH nivån i blodet var lägre dag 5-14 hos de 8 stona som tillfördes deslorelinacetat jämfört med stona i kontrollgruppen. LH-nivån visade ingen skillnad hos grupperna. Slutsatsen blev att behandling med deslorelinacetat ger upphov till minskad koncentration av FSH i cirkulationen vilket kan leda till försenad follikelutveckling och förlängt interovulatoriskt intervall.

McCue *et al* gjorde liknande undersökningar år 2002, där de jämförde interovulatoriska intervall mellan ston med deslorelininducerad ovulation och de som spontanovulerat. Resultatet visade att 11,1% hade förlängda interovulatoriska intervall. Studien visade att tiden mellan prostaglandinbehandling efter deslorelininducerad ovulation, till ny ovulation, förlängdes. Samma studie visade också att om implantet togs bort efter 48 timmar hade stona normala interovulationsperioder. Detta indikerade enligt författarna att deslorelinimplantatet hämmar gonadotropinsekretion och follikelutveckling.

I en studie gjord av Hemberg *et al* (2006), uppmättes tiden till ovulation efter behandling med Ovuplant<sup>®</sup>. Det var elva ston som ingick i studien och de undersöktes en gång per dag tills en follikel som var minst 42 mm detekterats med ultraljud. Deslorelinacetat implanterades därefter i vulvamukosan och ultraljudsundersökningar utfördes upprepade gånger. Resultatet visade att alla ston hade ovulerat inom 36-48 timmar och 94 % inom 38-42 timmar. Författarna menar att undersökning av stoet efter 36 samt 41 timmar efter implantation är tillräckligt, vilket underlättar avelsarbetet med till exempel fryst sperma jämfört med dagens gängse rutiner.

## EXPERIMENTELL STUDIE

### Inledning

För bästa dräktighetsresultat bör insemination eller betäckning ske så nära inpå ovulation som möjligt (Loy & Hughes, 1966). Till följd av långa brunstintervall hos ston, där ovulationstidpunkten är svår att fastställa, kan hästavel bli dyrt, arbetskrävande och ineffektivt. Det innebär därför att metoder som förkortar tiden mellan proöstrus och ovulation och att det går lättare att fastställa den exakta tidpunkten för ovulation underlättar reproduktionsarbetet. Det innebär även mindre antal inseminationer/betäckningar per brunst. Den vanligaste metoden för styrning av ovulation är användandet av hCG (humant koriongonadotropin) som förkortar östrus med ca 24 till 48 timmar. Eftersom hCG är ett preparat med humant ursprung kan upprepad användning innebära antikroppsproduktion hos stoet. I USA och Australien har ett implantat som utsöndrar GnRH-analogen deslorelin använts för samma ändamål (deslorelinacetat, Ovuplant<sup>®</sup>) (Hemberg *et al*, 2006). Då en follikel större än 30 mm i diameter och fortfarande under tillväxt har konstaterats, planteras Ovuplant<sup>®</sup> subkutant i nacken. Flera studier (McKinnon *et al*, 1993, Jöchle, 1994, Johnson *et al*, 2002 a och b) har visat att mer än 90 % av stona ovulerade inom 48 timmar efter implantation. På senare tid har dock rapporter kommit, dels från användare men också vid försök (Johnson *et al*, 2000), att vid utebliven dräktighet uppstår förlängd lutealfas. Syftet med denna studie är dels att avgöra om diöstrus förlängs efter implantation av Ovuplant<sup>®</sup> som inte efterföljs av någon insemination och dels med hjälp av progesteronmätning i blodet undersöka om det blir en förlängd lutealfas eller upphörd cyklicitet. Om en förlängd lutealfas uppstår är syftet dessutom att diskutera om denna bieffekt kan utnyttjas som behandling av ston med starka brunstsymptom.

### Material och metoder

Sju svenska varmblodstravare ingick i försöket. De var alla uppstallade på och ägda av institutionen för kliniska vetenskaper och ingick samtidigt som studien pågick i undervisningen vid SLU. Fyra ston ingick i försöksgruppen och tre i kontrollgruppen. Indelningen avgjordes genom lottning. Försöket pågick från april 2006 till och med juni 2006. Försöket kunde inte pågå längre än till 2006-06-07, eftersom hästarna då släpptes på sommarbete. I försöket ingick brunstkontroll med hjälp av teaserhingst, rektal- och ultraljudsundersökning samt blodprovstagning.

#### *Brunstkontroll*

Stona brunstkontrollerades individuellt en gång per dag med hjälp av en teaserhingst där positivt brunstbeteende (+) registrerades enligt följande:

- 1) Stoet stod för hingsten
- 2) Stoet lyfte svansen
- 3) Stoet urinerade och/eller blinkade med klitoris

Negativt beteende för ovan registrerades med (-) och vid osäkra tecken användes (?).

#### *Blodprov och analysmetod*

Blodprover togs tre gånger i veckan på samtliga ston till och med 2006-05-15 för mätning av progesteronnivån i plasma. Därefter togs prover enbart på de fyra ston som ingick i försöksgruppen (ett sto, Evita, avslutades tidigare, se nedan). Ca 10 ml blod togs ur jugularvenen i heparinrör med vacutainer. Blodet centrifugerades efter 10 minuter och frystes därefter in. Proverna analyserades vid avdelningen för klinisk kemi vid SLU en gång i veckan. Analysmetoden bygger på en ”solid-phase radioimmunoassay” (Coat-A-Count Progesterone<sup>®</sup>) där endogent progesteron tävlar om bindningsplatsen till antikroppar med ett radioaktivt märkt hormon. En gammarräknare mäter mängden märkt hormon som sedan omräknas till endogen progesteronmängd hos patienten.

#### *Undersökning*

Klinisk undersökning, rektalpalpation samt ultraljudsundersökning gjordes var tredje dag på samtliga ston till och med 2006-05-15. Därefter undersöktes enbart de fyra ston som ingick i försöksgruppen fram till försökets slut, 2006-06-07. Ett av experimentsstona (Evita) avslutades tidigare (se nedan). I den kliniska undersökningen ingick bedömning av vulvas utseende och vaginalslemhinnans färg. I den rektala palpationen ingick tonus och storlek av cervix och uterus samt äggstockarnas storlek med eventuella folliklar. Vid ultraljudsundersökningen noterades livmoderslemhinnans tjocklek samt eventuella ödem i uterus. Även äggstockarna undersöktes med avseende på folliklar (antal och storlek) samt eventuella gulkroppar.

#### *Genomförande*

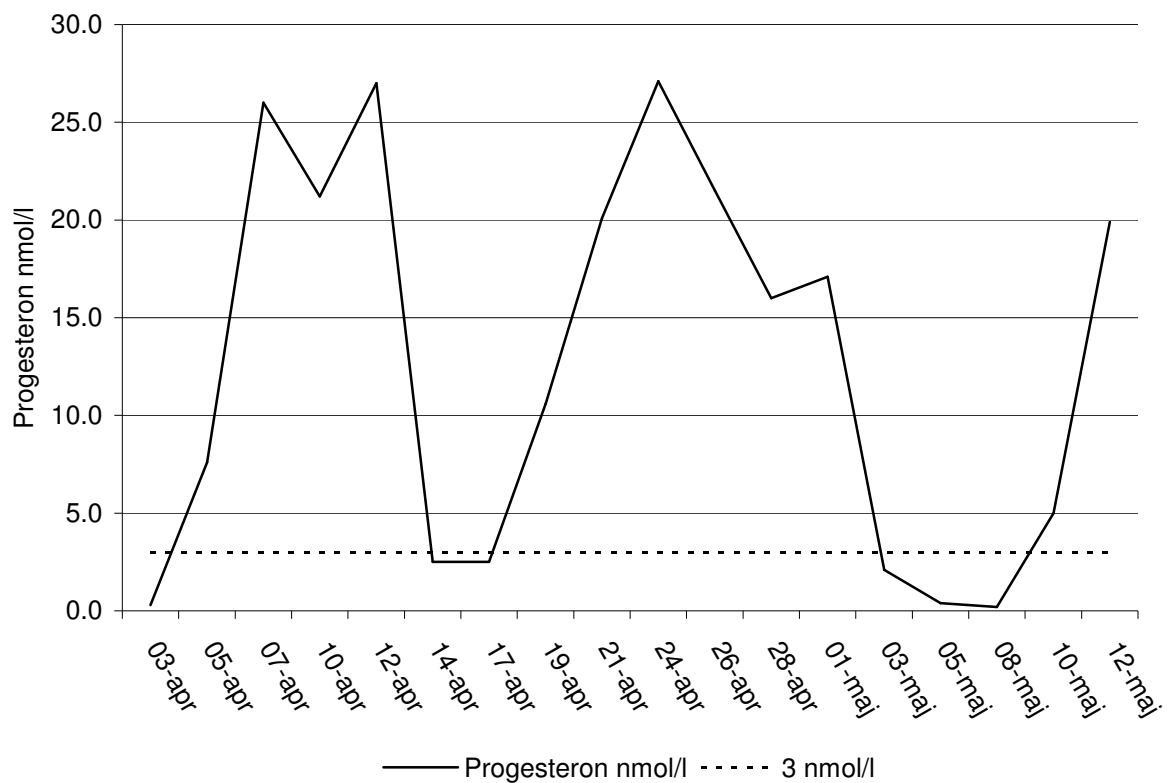
Med hjälp av brunstkontroller tillsammans med progesteronanalyserna kunde vi avgöra när stona var i lutealfas. Då samtliga ston uppmätte högt progesteronvärde 2006-04-12 injicerades de intramuskulärt med 2 ml Dinolytic<sup>®</sup> vet (prostaglandin F<sub>2α</sub>) för att få corpus luteum i luteolys. Alla ston hade vid detta tillfälle en gulkropp i en av äggstockarna. Samtliga ston hade 2006-04-14 låga progesteronvärden och fyra dagar senare (2006-04-18) inleddes försöket. Stona undersöktes med ultraljud och en follikel på 30 mm i diameter eller större kunde uppmätas hos samtliga. Varje sto fick en ca 4 x 4 cm stor yta av halsen rakad och tvättad. De fyra ston som ingick i försöksgruppen fick därefter Ovuplant<sup>®</sup> implanterat subkutant. Övriga tre ston injicerades med 4 ml fysiologisk koksaltlösning intramuskulärt.

## Resultat

### Lupin

Lupin ingick i kontrollgruppen. Den 12 april hade hon en stor follikel, ca 30 mm diameter, i höger äggstock men visade inga tecken på brunst. Hon kom i brunst tre dagar efter prostaglandininjektionen. Brunstsymptomen var svaga och pågick i tre dagar. Sista dagen på brunsten (18 april) undersöktes hon igen med ultraljud. Lupin hade då en 20 mm stor follikel i vänster äggstock och follikeln på höger sida bedömdes som på väg att ovulera. Hon injicerades med fysiologisk koksaltlösning subkutant. Dagen efter (tredje undersökningstillfället) bedömdes follikeln ha ovulerat. Vid nästa undersökningstillfälle (28 april) observerades en gulkropp i höger äggstock och små folliklar i vänster och vid sista undersökningen (10 maj) sågs en gulkropp i höger äggstock. Lupin visade brunstsymptom 1-4 april, 15-18 april (svaga) samt 5-8 maj och cykliciteten bedömdes som normal.

Lupin hade en 14 dagar lång lutealfas. Progesteronnivåerna var  $>3$  nmol/l från 19 april till och med 1 maj.

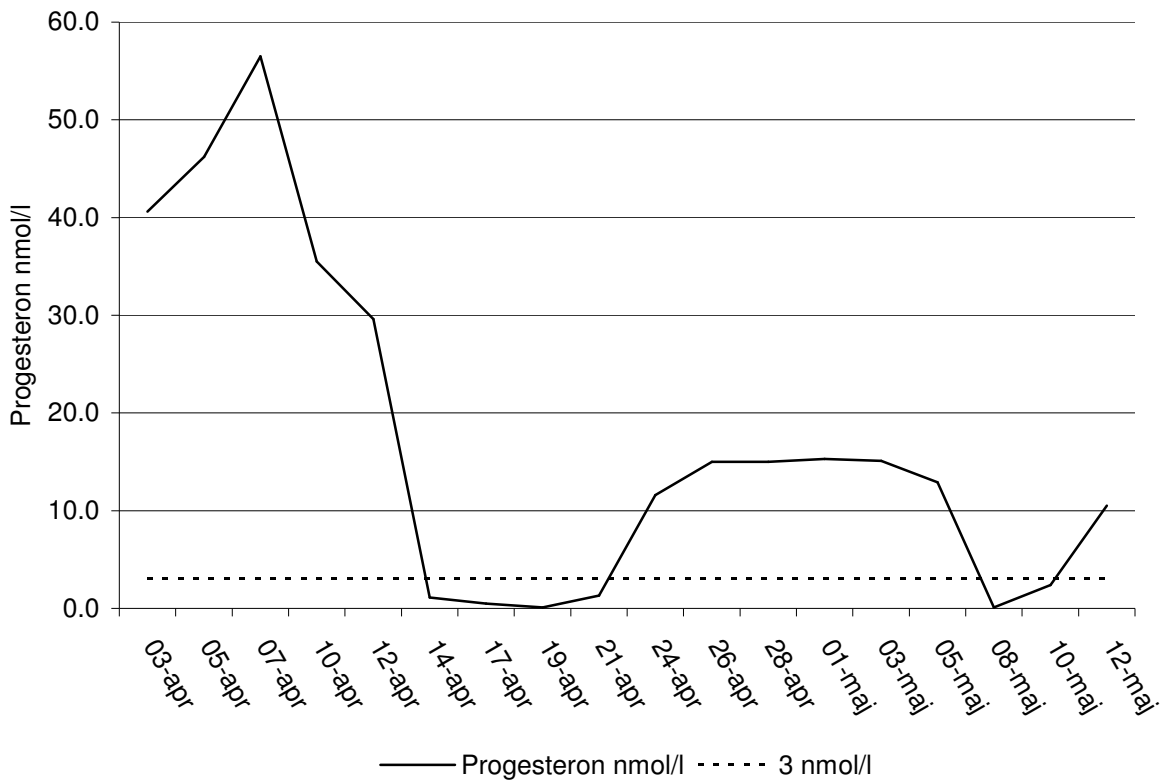


Figur 1. Lupins progesteronnivåer

### Vårregn

Vårregn ingick i kontrollgruppen. Hon visade tydliga tecken på brunst fyra dagar efter prostaglandininjektionen. Brunstsymptomen varade i 5 dagar. Den 18 april sågs en 25 mm stor follikel i vänster äggstock och småfolliklar i höger äggstock och den 19 april var follikeln i vänster äggstock 30 mm stor. Vårregn injicerades med 4 ml fysiologisk koksaltlösning subkutant 21 april och follikeln hade då redan ovulerat. Den 28 april sågs en gulkropp i höger äggstock och småfolliklar i vänster. Vid sista undersökningstillfället, 10 maj, sågs enbart småfolliklar i båda äggstockarna. Vårregn visade brunst 16-21 april samt 7-10 maj och cykliciteten bedömdes vara normal.

Vårregns lutealfas var sammanlagt 12 dagar lång. Progesteronnivåerna var >3 nmol/l från 24 april till och med 5 maj.

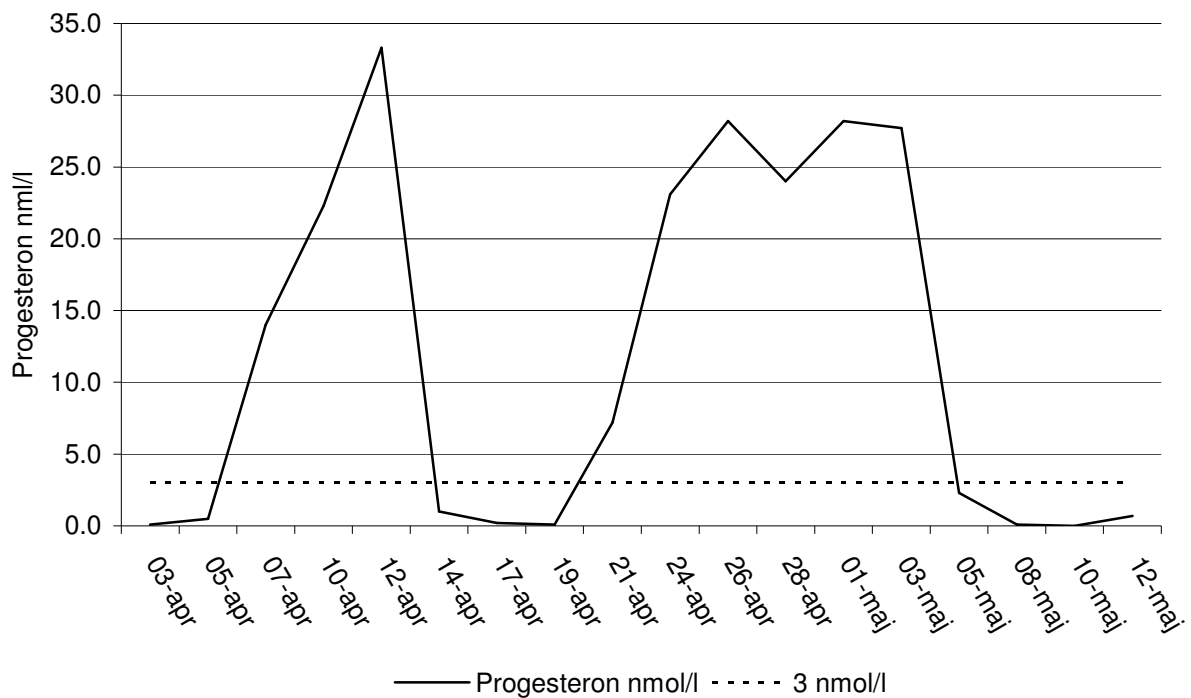


Figur 2. Vårregns progesteronnivåer

### Julia

Julia ingick i kontrollgruppen. Hon hade en gulkropp i höger äggstock 12 april. Hon injicerades då med prostaglandin och visade tydliga brunstsymptom fyra dagar senare, som pågick i fyra dagar. Den 18 april injicerades Julia med fysiologisk koksaltlösning subkutant och hade då en stor follikel (minst 30 mm diameter) i höger äggstock och två små folliklar i vänster äggstock. Den 20 april hade follikeln i höger äggstock ovulerat, och fyra dagar senare sågs en gulkropp i höger äggstock. Vid sista undersökningen 10 maj sågs en 30 mm stor follikel i höger äggstock. Julia visade brunstsymptom 15-19 april samt 7-13 maj vilket bedömdes som normal cyklicitet.

Julias progesteronnivåer var  $>3$  nmol/l från 21 april till och med 3 maj, sammanlagt var hennes lutealfas 13 dagar lång.

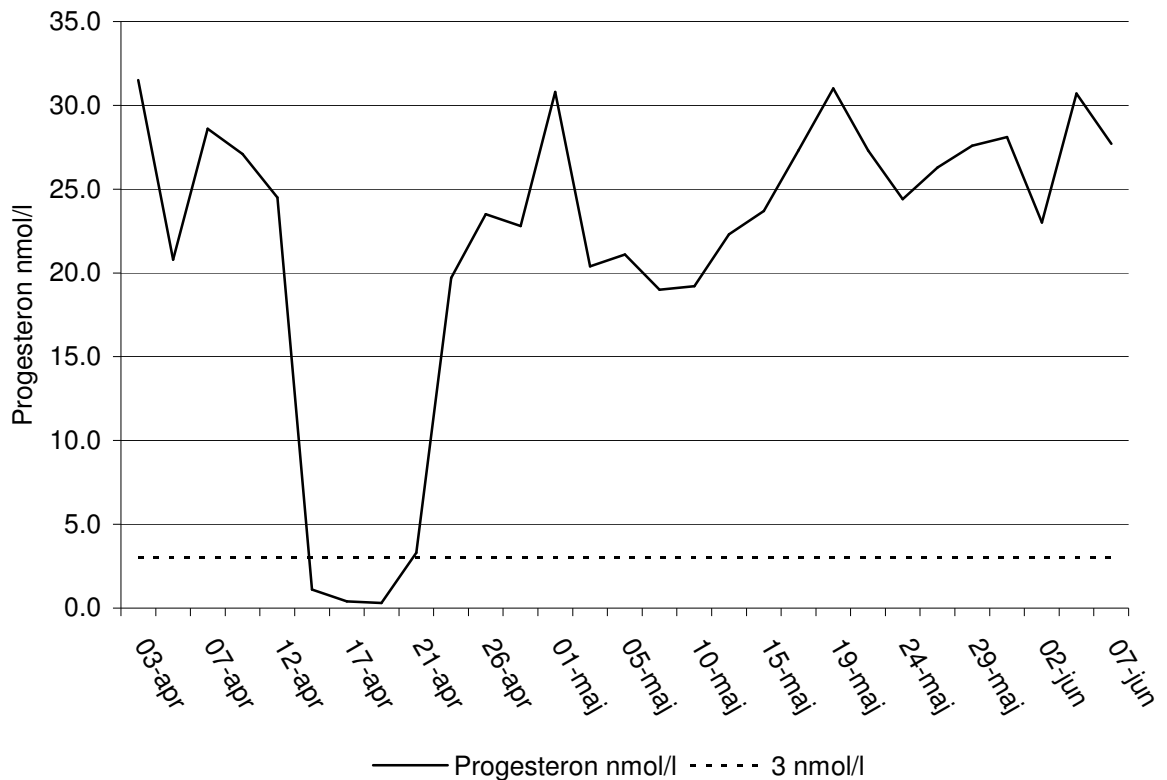


Figur 3. Julias progesteronnivåer

### Mermaid

Mermaid ingick i försöksgruppen. Den 12 april hade hon en gulkropp i höger äggstock och en liten follikel i vänster. Hon injicerades med prostaglandin och visade tydliga brunstsymptom tre dagar senare. Symptomen kvarstod i fem dagar. Den 18 april hade hon ödem i uterus samt en 45 mm i diameter stor follikel i vänster äggstock. I höger äggstock syntes småfolliklar. Mermaid fick samma dag Ovuplant implanterat subkutant. Två dagar efter implantationen bedömdes Mermaid vara nyovulerad då follikeln i vänster äggstock inte sågs mer samt att hon var öm vid palpation. Uterus var även mer solid. 28 april sågs en gulkropp i vänster äggstock samt småfolliklar i höger. 10 maj sågs en liten follikel i höger äggstock och små folliklar i vänster. Mermaid visade brunst 15-20 april.

Mermaids progesteronnivåer var  $>3$  nmol/l från 24 april till och med 7 juni, sammanlagt hade hon en minst 45 dagar lång lutealfas.



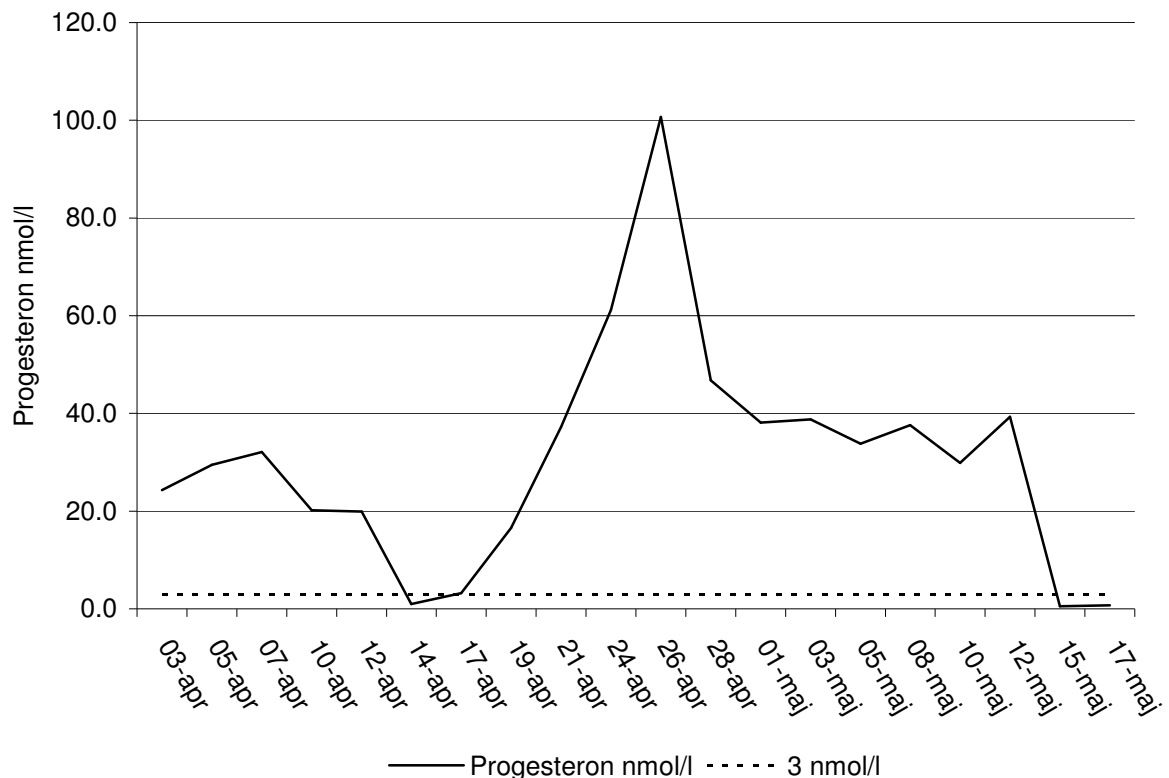
Figur 4. Mermaids progesteronnivåer



### Evita

Evita ingick i försöksgruppen. Hon hade en 30 mm stor follikel i höger äggstock och en 20-30 mm stor follikel i vänster äggstock 12 april. Hon injicerades samma dag med prostaglandin och visade tydliga brunstsymptom två dagar senare. Symptomen kvarstod i två dagar. Den 18 april hade hon en follikel som var något större än 30 mm i höger äggstock samt lindrigt med ödem i uterus. Hon fick Ovuplant<sup>®</sup> implanterat subkutant. Dagen efter hade hon inte ovulerat och 20 april (två dagar efter implantationen) bedömdes hon vara under ovulation. Uterus var då relativt slapp. Den 28 april hade hon en gulkropp i höger äggstock och enbart små folliklar i vänster. Den 5-10 maj visade Evita ytterst svaga brunstsymptom. Hon visade sig ha en 30 mm stor follikel vid sista undersökningstillfället (10 maj). Evita togs ur försöket 11 maj då hon behövdes i ett annat försök. Hon injicerades med Dinolytic<sup>®</sup> och visade brunstsymptom cirka två dagar senare.

Evitas progesteronnivåer var >3 nmol/l från 19 april till och med 12 maj, sammanlagt var hon i lutealfas i 24 dagar. Progesteronnivåerna var låga 2 dagar efter behandlingen med Dinolytic<sup>®</sup>.

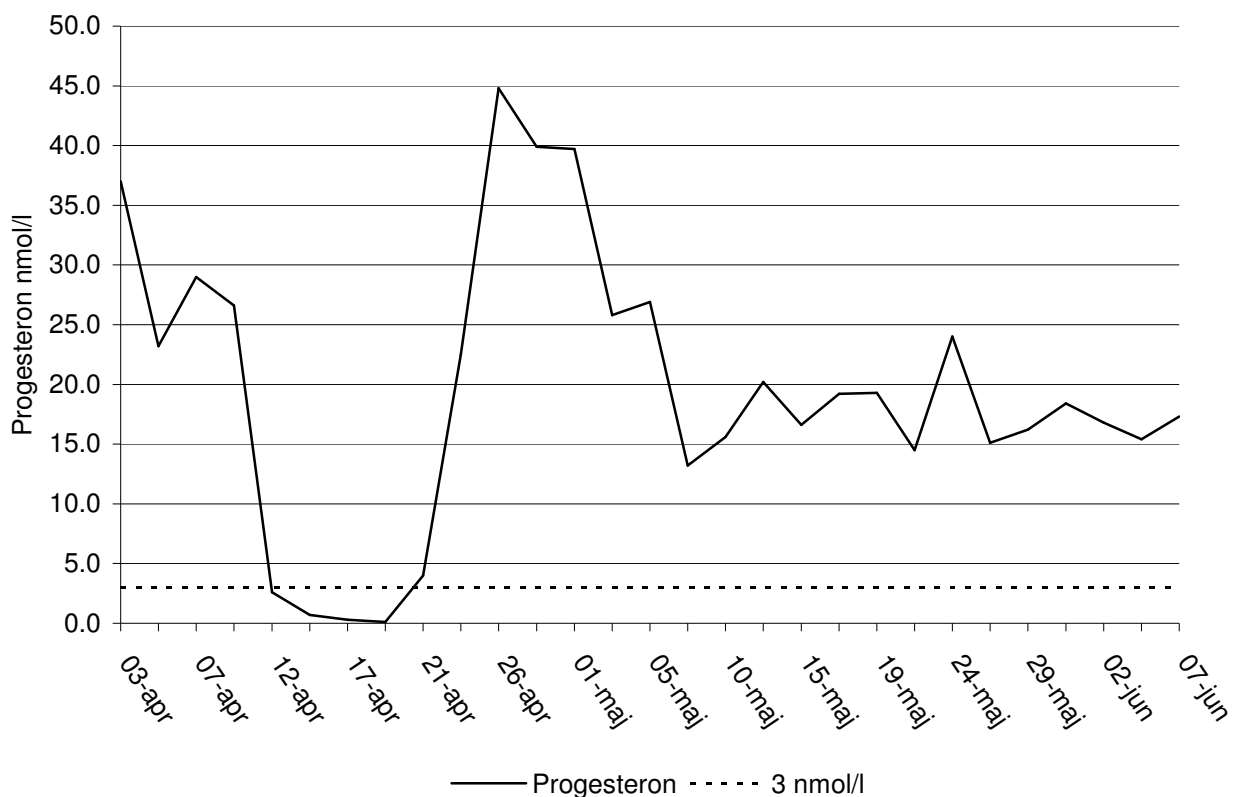


Figur 5. Evitas progesteronnivåer

### Ocho

Ocho ingick i försöksgruppen. Den 12 april visade Ocho yttre tecken på att vara på väg in i brunst (vaginal flytning samt början till ödem i uterus). Ingen stor follikel kunde ses i äggstockarna och hon injicerades med prostaglandin. Hon visade tydliga brunstsymptom tre dagar senare som kvarstod i 5 dagar. Den 18 april sågs en 40 mm stor follikel i höger äggstock och ödem i uterus. Ovuplant<sup>®</sup> implanterades subkutant. Dagen efter såg ultraljudsbilden ut som tidigare, folliklen hade inte ovulerat. Den 20 april sågs en gulkropp i höger äggstock som var kvar 28 april. Den 10 maj sågs multipla småfolliklar i både höger och vänster äggstock och den 18 maj sågs ca 20 mm stora folliklar i vardera äggstock. Ocho visade brunst 15-20 april samt svaga brunstsymptom 11-15 maj.

Ochos progesteronnivåer var >3 nmol/l från 24 april till och med 7 juni, sammanlagt var hon i lutealfas i minst 45 dagar.

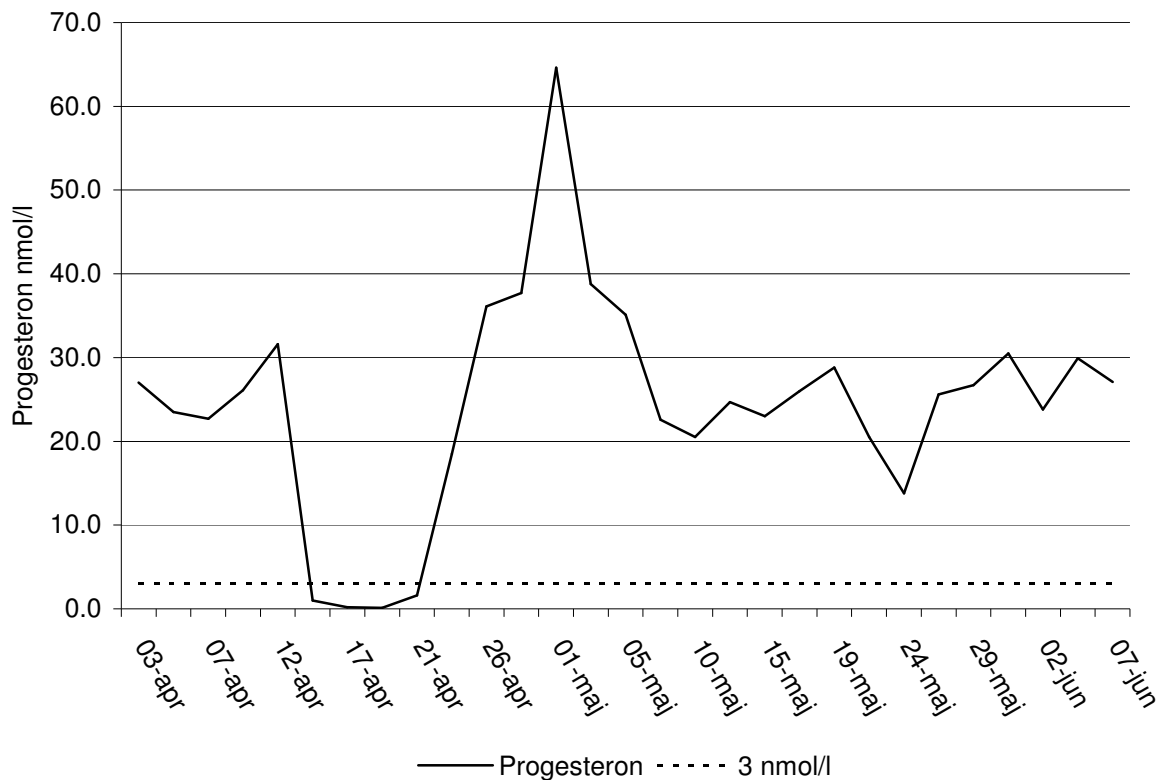


Figur 6. Ochos progesteronnivåer

### Tanga

Tanga ingick i försöksgruppen. Den 12 april injicerades hon med prostaglandin. Hon kom i brunst två dagar senare och symptomen kvarstod i sex dagar. Den 18 april sågs en ca 30 mm stor follikel i höger äggstock och små folliklar i vänster. Uterus var dock solid. Hon behandlades med Ovuplant<sup>®</sup> subkutant. Den 19 april var follikeln kvarstående och ca 30 mm stor och den 20 april kunde en mjuk follikel palperas i höger äggstock och hon bedömdes vara på väga att ovulera. Uterus var fortfarande solid. Den 28 april sågs en gulkropp i höger äggstock och småfolliklar i vänster. Den 22 maj hade Tanga en ca 25 mm stor follikel i höger äggstock. Tanga visade brunstsymptom 17-20 april samt 10 maj.

Tangas progesteronnivåer var >3 nmol/l från 24 april till och med 7 juni, hennes lutealfas var sammanlagt minst 45 dagar lång.



Figur 7. Tangas progesteronnivåer

## Diskussion

Lutealfasen förlängdes hos samtliga ston som ingick i försöksgruppen. Evita, som togs ur försöket i förtid, fick en 24 dagar lång diöstrus. Övriga ston hade fortfarande höga nivåer när försöket avslutades, det vill säga 45 dagar efter ovulation, som i genomsnitt inträffade 1-2 dagar efter insättandet av Ovuplant<sup>®</sup>. Orsaken till utebliven eller svag brunst beror i detta fall på att hästarna står under inflytande av progesteron. Det i sin tur tyder på aktiva äggstockar med en progesteronproducerande gulkropp, det vill säga en förlängd lutealfas har uppstått. Förlängd lutealfas definieras olika i olika studier. I en studie klassades lutealfasen som förlängd om den kvarstod i >30 dagar efter ovulation (King & Evans, 1988). I en annan studie gjord av Ginther och Pierson (1989) var lutealfasen förlängd om den avvek med tre standardavvikelser från försöksgruppens medellängd på intervallet. Förlängd lutealfas behandlas med prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , vilket gjordes med Evita, som kom i brunst två dagar senare. För att den behandlingen ska fungera får inte en diöstrusovulation ha skett under de senaste dagarna. Gulkroppen blir då refraktär mot prostaglandin  $F_{2\alpha}$  och behandlingsresultat uteblir.

Om diöstrusovulation har skett eller inte kan inte avgöras med enbart progesteronmätning. För att avgöra det krävs dagliga rektal- och ultraljudsundersökningar, vilket inte gjorts i den här studien. Eventuella diöstrusovulationer som orsak till försöksstonas förlängda lutealfas kan därför inte uteslutas. Samtliga ston i försöksgruppen visar en nedgång i progesteronnivåerna i slutet av april (se diagram). Nedgången har skett runt dag 10-11 i lutealfasen, det vill säga 4-5 dagar före en normal förväntad luteolys. Sker en diöstrusovulation vid den tidpunkten blir resultatet att den corpus luteum som bildas är refraktär för endogent frisatt prostaglandin. En förklaring till stonas förlängda diöstrus kan därför vara diöstrusovulation. Ett alternativ till diöstrusovulation som orsak till förlängd lutealfas är att den inducerade ovulationen med deslorelin medförde att de bildade gulkropparna och livmodern inte har förmåga att svara på normala endokrina signaler (Kindahl *et al*, 2000).

Att framkalla förlängd lutealfas är i vissa fall önskvärt, främst som behandling för ston med starka brunstsymptom. Kindahl *et al* (2000), inducerade förlängd lutealfas genom att tillföra altrenogest och framkallade ovulation med hCG. Resultatet visade att utebliven luteolys är till följd av att uterus får minskad sensitivitet för oxytocin och minskad förmåga att producera prostaglandin. Hedberg *et al* (2006), studerade effekterna av hCG-inducerad diöstrusovulation. Stona injicerades med hCG när en diöstrusfollikel >30 mm i diameter detekterats. Resultatet visade att tre av fyra ston fick en förlängd lutealfas.

För att minimera risken för förlängd lutealfas som Ovuplant<sup>®</sup> kan ge, har en annan metod använts, där implantatet tas bort efter 48 timmar. Bland annat Hemberg *et al* (2006) använder sig av den här modellen där ett snitt görs i vulvamukosan efter lokalbedövning. Implantatet placeras därefter i mucosan där det sys fast. Efter 48 timmar tas implantatet ut och om dräktighet uteblir kommer stoet åter i brunst inom normalt intervall (Hemberg *et al*, 2006).

Då tidigare studier inklusive den här visar på att förlängd lutealfas uppstår efter implantation med Ovuplant<sup>®</sup>, skulle deslorelinacetat kunna bli ett framtida behandlingsalternativ för ston med starka brunstsymptom. För mer säkra resultat bör studien utföras på ett större antal ston samt ston av flera olika raser.

Alla ston som ingick i försöksgruppen fick en reaktion i form av svullnad där implantatet placerades. Svullnaden försvann efter 3 - 4 dagar.

Sammanfattningsvis visas att Ovuplant<sup>®</sup>-implantat ger en förlängd lutealfas med minst 45 dagar, eventuellt orsakat av diöstrusovulation. Metoden bör göras på ett större antal djur men den här studien tyder på att det kan vara en möjlig behandlingsmetod för ston med problembrunster.

## **TACK**

Ett varmt tack till Hans Kindahl, min handledare, för konstruktiv kritik och all uppmuntran under arbetet med den här uppsatsen!

Elisabeth Hemberg, min biträdande handledare - tack för undervisning, både praktiskt och teoretiskt av avelsarbete i fält samt arbete med Ovuplant<sup>®</sup>. Tack även till dig och din familj som med stor gästfrihet tog emot mig i ert vackra hem!

Personalen i OG's stall, Marie Wallbring och Carola Jansson - ett stort tack för all hjälp med blodprovstagning!

Åsa Karlsson, vid avdelningen för klinisk kemi - tack för hjälp med progesteronanalyserna!

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Allen, W.R. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. *American Association of Equine Practitioners* 46, 338-354.
- Bergfeldt, D.R. 2000. Estrous synchronization. In: *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Samper, J., (ed). Philadelphia, Saunders, 165-177.
- Farquhar, V.J., McCue, P.M., Nett, T.M., Squires, E.L. 2001. Effect of deslorelin acetate on gonadotropin secretion and ovarian follicle development in cycling mares. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 218, 749-752.
- Ginther, O.J. 1974. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus and ovulation over a 12-month period in mares. *American Journal of Veterinary Research* 35, 1173-1179.
- Ginther, O.J. 1998. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. *American Association of Equine Practitioners* 44, 73-103.
- Ginther, O.J. 1992. *Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects* 2<sup>nd</sup> ed. Equiservices, Wisconsin.
- Ginther, O.J., Pierson, R.A. 1989. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *Journal of Equine Veterinary Science* 9, 4-12.
- Hedberg Alm, Y. 2006. Oestrus in the mare with emphasis on deviant behaviour and adrenal gland function. Doctoral thesis no 2006:101, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Hedberg, Y., Dalin, A.-M., Santesson, M., Kindahl, H. 2006. A preliminary study on the induction of dioestrous ovulation in the mare - a possible method for inducing prolonged luteal phase. *Acta veterinaria scandinavica* 48,12.
- Hemberg, E., Lundeheim, N., Einarsson, S. 2006. Successful timing of ovulation using deslorelin (Ovuplant<sup>®</sup>) is labour saving in mares aimed for single AI with frozen semen. *Reproduction in Domestic Animal* 41, 535-537.
- Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H., Kennedy, P.C. 1980. The estrous cycle and selected functional and pathological ovarian abnormalities in the mare. *Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practise* 2, 225-239.
- Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H., Kindahl, H., Kennedy, P.C., Edqvist, L.-E., Neely, D.P., Schalm, O.W. 1979. Pyometra in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 27, 321-329.
- Johnson, C.A., Thompson, D.L., Kulinski, K.M., Guitreau, A.M. 2000. Prolonged interovulatory interval and hormonal changes in mares following the use of Ovuplant<sup>™</sup> to hasten ovulation. *Journal of Equine Veterinary Science* 20, 331-336.
- Johnson, C.A., Thompson, D.L., Cartmill, J.A. 2002 a. Pituitary responsiveness to GnRH in mares following deslorelin acetate implantation to hasten ovulation. *Journal of Animal Science* 80, 2681-2687.
- Johnson, C.A., McMeen, S.L., Thompson, D.L. 2002 b. Effects of multiple GnRH analogue (deslorelin acetate) implants on cyclic mares. *Theriogenology* 58, 469-471.

- Jöchle, W. 1994. Control of ovulation in the mare with Ovuplant™. A short-time release implant (STI) containing the GnRH analogue deslorelin acetate: Studies from 1990-1994. (A review). *Journal of Equine Veterinary Science* 14, 632-644.
- Kindahl, H., Knudsen, O., Madej, A., Edqvist, L.-E. 1982. Progesterone, prostaglandin F<sub>2α</sub>, PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 32, 353-359.
- Kindahl, H. 2000. Reproductive physiology in the mare. In: *Compendium on Equine Reproduction*. Dalin, A-M., Malmgren, L. (eds.), Department of Obstetrics and Gynaecology, SLU, 12-27.
- Kindahl, H., Odensvik, K., Hansen, B., Daels, P.F. 2000. Changes in PGF<sub>2α</sub> secretion during prolonged luteal phase in mares. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 56, 305-315.
- King, S.S., Evans, J.W. 1988. Follicular growth and estradiol influence on luteal function in mares. *Journal of Animal Science* 66, 98-103.
- Loy, R.G., Hughes, J.P. 1966. The effects of human chorionic gonadotropin on length of estrus and fertility in the mare. *Cornell Veterinarian* 56, 41-50.
- McKinnon, A.O., Nobeliuss, A.M., Tarrid Del Marmol Figueroa, S., Skidmore, J., Vasey, J.R., Trigg, T.E. 1993. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin. *Equine Veterinary Journal* 25, 321-323.
- McCue, P.M., Farquhar, V.J., Carnevale, E.M., Squires, E.L. 2002. Removal of deslorelin (Ovuplant™) implant 48 hours after administration result in normal interovulatory intervals in mares. *Theriogenology* 58, 865-870.
- Neely, D.P., Kindahl, H., Stabenfeldt, G.H., Edqvist, L.-E., Hughes, J.P. 1979. Prostaglandin release pattern in the mare: physiological, patophysiological and therapeutic responses. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 27, 181-189.
- Niswender, G., Nett, T.M. 1993. Luteal phase. In: *Equine Reproduction*. McKinnon, A., Voss, J.L. (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, London, 172-173.
- Noakes, D.E., 2001. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics* 8th ed. W B Saunders, Philadelphia, 3-48.
- Pierson, R.A., 1993. Folliculogenesis and ovulation. In: *Equine Reproduction*. McKinnon, A., Voss, J.L., (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, London, 161-171.
- Reynolds, L.P., Redmer, D.A. 1999. Growth and development of the corpus luteum. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 54, 181-191.
- Samper, J.C., Jensen, S., Sergeant, J., Estrada, A. 2002. Timing of induction of ovulation in mares treated with Ovuplant or Chorulon. *Journal of Equine Veterinary Science* 22, 320-324.
- Weber, J.A., Woods, G.L., Freeman, D.A. 1992. Prostaglandin E<sub>2</sub>-specific binding to the equine oviduct. *Prostaglandins* 43, 61-65.

*Bilaga 1. Sammanfattande tabell över progesteronnivåer*

	Mermaid	Tanga	Ocho	Evita	Julia	Lupin	Vårregn
	3 april	31,5	27,0	37,0	24,3	0,1	40,6
	5 april	20,8	23,5	23,2	29,5	0,5	46,2
	7 april	28,6	22,7	29,0	32,1	14,0	56,5
1	10 april	27,1	26,1	26,6	20,2	22,3	35,5
	12 april	24,5	31,9	26,0	19,9	33,3	29,6
2	14 april	1,1	1,0	0,7	1,0	1,0	1,1
	17 april	0,4	0,2	0,3	3,2	0,2	0,5
	19 april	0,3	0,1	0,1	16,6	0,1	0,1
	21 april	3,3	1,6	4,0	37,2	7,2	1,3
	24 april	19,7	18,5	22,5	61,2	23,1	11,6
	26 april	23,5	36,1	44,8	100,7	28,2	15,0
	28 april	22,8	37,7	39,9	46,8	24,0	15,0
	1 maj	30,8	64,6	39,7	38,1	28,2	15,3
	3 maj	20,4	38,8	25,8	38,8	27,7	15,1
	5 maj	21,1	35,1	26,9	33,8	2,3	12,9
	8 maj	19,0	22,6	13,2	37,6	0,1	0,1
	10 maj	19,2	20,5	15,6	29,2	0,1	2,4
	12 maj	22,3	24,7	20,2	39,3	0,7	10,5
	15 maj	23,7	23,0	16,6	0,5		
	17 maj	27,3	26,0	19,2	0,7		
	19 maj	31,0	28,8	19,3			
	22 maj	27,3	20,5	14,5			
	24 maj	21,4	13,8	24,0			
	26 maj	26,3	25,6	15,1			
	29 maj	27,6	26,7	16,2			
	31 maj	28,1	30,5	18,4			
	2 juni	23,0	23,8	16,8			
	5 juni	30,7	29,9	15,4			
	7 juni	27,7	27,1	17,3			

1) ProstaglandinF<sub>2α</sub> injicerades

2) Ovuplant<sup>®</sup> implanterades (Mermaid, Tanga, Ocho och Evita) och fysiologisk koksaltlösning injicerades (Julia, Lupin och Vårregn).