

# **HORMOONHUISHOUDING BIJ DE OESTRUS VAN DE MERRIE: EEN VOORBEREIDENDE STUDIE**

DEEL 1: RATIONALE

**Emma Versnaeyen**

Studentennummer: 01701884

Promotor: Prof. dr. Peter Daels

Promotor: Machteld van Heule

Promotor: Margo Verstraete

Onderdeel van de Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de diergeneeskunde

Academiejaar: 2022 – 2023



*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.*

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.*



## Afkortingenlijst

<b>Afkorting</b>	<b>Betekenis</b>
<b>GnRH</b>	Gonadotropin – releasing hormone
<b>FSH</b>	Follicle stimulating hormone
<b>LH</b>	Luteinizing hormone
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>P<sub>5</sub></b>	Pregnenalone
<b>A<sub>4</sub></b>	Androstenedione
<b>IGF – 1</b>	Insuline – like growth factor – 1
<b>P<sub>4</sub></b>	Progesteron
<b>PGF<sub>2α</sub></b>	Prostaglandine F <sub>2α</sub>
<b>EPE</b>	Equine pituitary extract
<b>hCG</b>	Humaan choriongonadotrofine
<b>reFSH</b>	Recombinant follicle stimulating hormone
<b>reLH</b>	Recombinant Luteinizing homrone

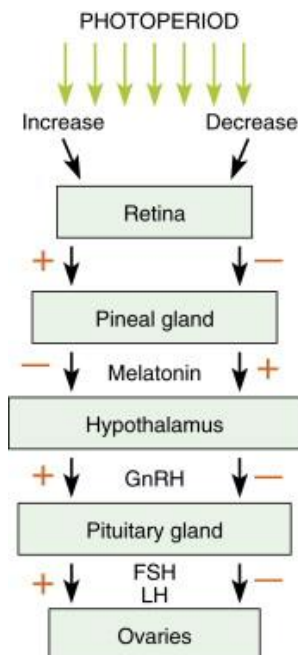
# Inhoud

1	Situering.....	1
2	Probleemstelling.....	6
3	Doelstelling .....	6
4	Literatuurlijst .....	10

# 1 Situering

Een merrie is een seizoengebonden poly - oestrisch dier en wordt dus niet het hele jaar door hengstig, maar behoort tot de 'long day breeders', wat zo veel wil zeggen als enkel cycliserend tijdens de lange dagen. Dit betekent dat de voortplantingsactiviteit door de lengte van de fotoperiode wordt beïnvloed. Vandaar dat het dekseizoen samenvalt met het lengen van de dagen en dus van april tot september loopt. Tijdens deze maanden zal de merrie op regelmatige basis cycliseren (Murphy et al, 2013). De situering van het dekseizoen zorgt ervoor dat het veulen na elf maanden draagtijd geboren zal worden in een periode van het jaar met gunstige omstandigheden in de natuur, in het graasseizoen (Satué, 2013 en Aurich, 2011). Bij het korten van de dagen, vanaf september gaat de merrie in een overgangperiode tot ze uiteindelijk niet meer zal cycliseren tijdens de winterperiode. Dit noemen we een seizoengebonden anoestrus.

Een cyclus van de merrie kan je onderverdelen in twee fasen, waarbij elke fase gepaard gaat met bepaalde karakteristieke veranderingen. Enerzijds heb je de dioestrus of de luteale fase waarbij de merrie niet ontvankelijk is voor de hengst. Deze periode neemt het grootste deel van de cyclus in beslag en duurt veertien tot vijftien dagen en bestaat uit regressie van het corpus luteum en het opstarten van de folliculaire ontwikkeling. Anderzijds heb je de oestrus of folliculaire fase. Deze duurt vijf tot zeven dagen en is sterk afhankelijk van het seizoen. In de herfst kan deze fase tot tien dagen aanhouden, terwijl we in de lente eerder zien dat deze vijf dagen duurt. In deze fase kunnen we folliculaire rijping waarnemen met uiteindelijk ook de ovulatie, die ongeveer vierentwintig tot achtenveertig uur voor het einde van de oestrus gaat plaatsvinden. De oestrusperiode kan je herkennen door de karakteristieke gedragsveranderingen bij de merrie. Zo zal ze meer interesse vertonen voor de hengst, frequenter kleine hoeveelheden van urine lozen en clitoral winking, wat de rythmische eversie van de clitoris is, vertonen. In totaliteit bedraagt de cyclus van de merrie gemiddeld eenentwintig dagen, maar dit kan variëren tussen achttien en tweeëntwintig dagen (Aurich, 2011; Hurtgen, 1975 en Brinsko et al., 2011).

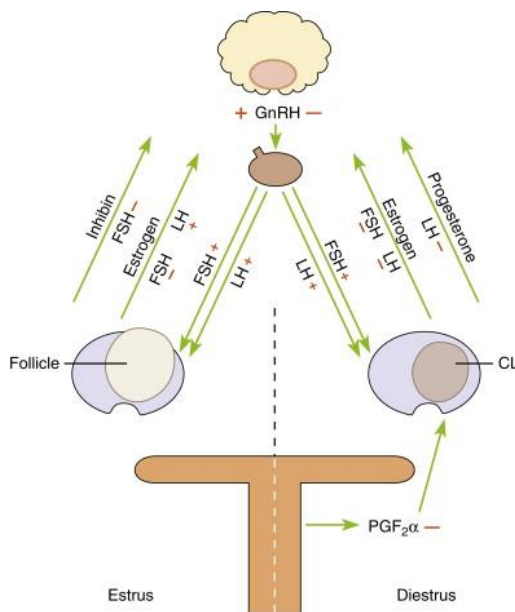


*Figuur 1: de invloed van de fotoperiode op het endocrien systeem, uit Brinsko et al., 2011*

De cyclus van de merrie gaat plaatsvinden onder invloed van een cascade aan hormonen. Deze hormooncascade wordt centraal beïnvloed door de fotoperiode of de blootstelling aan zonlicht. 's Nachts stijgt de secretie van melatonine door de pijnappelklier. Dit is een van de sterkste pijlers van het circadiaanse ritme. Vanuit de retina wordt de optische straling van het waargenomen licht vertaald in neurologische signalen die via de retino - hypothalamische tractus naar de nucleus suprachiasmaticus gezonden worden. Deze werking staat los van de pathways die nodig zijn voor het zicht. De hoeveelheid licht die nodig is om de secretie van melatonine te doen dalen, is ook de hoeveelheid die nodig is om de nucleus suprachiasmaticus te stimuleren. Melanopsine is het fotopigment dat verantwoordelijk is voor deze stimulatie. De nucleus suprachiasmaticus is het centrum dat de circadiaanse klok gaat regelen met als doel om de interne fysiologie te synchroniseren met de omgeving. De vrijstelling van melatonine speelt ook een grote rol in de regulatie van de voortplantingscyclus bij seizoenkwekers, zoals het paard. Dit omdat het gezien kan worden als een dagelijkse verandering in de seizoenen, gebaseerd op de lengte van de dagen. Zoals eerder vermeld zijn paarden 'long day breeders', de herkenning van een

verkorte fotoperiode en een daling in melatonine vrijstelling, of omgekeerd, vormt de basis van hun voortplantingssysteem (Walsh, 2013).

De vrijstelling van melatonine is omgekeerd evenredig aan de lengte van de dagen. Dit houdt in dat bij het lengen van de dagen in de lente (en de zomer) er een daling is van de hoeveelheid melatonine die vrijgesteld zal worden (Crabtree, 2021). Dit stimuleert de pulsatoire vrijstelling van het gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in het hypothalamo – hypofysaire portaalsysteem (Raz en Aharonson - Raz, 2012). Vanuit het hypothalamo – hypofysaire portaalsysteem stimuleert GnRH de adenohipofyse om de gonadotropines follicle stimulating hormone (FSH) en het luteïnizing hormone (LH) te gaan produceren. Beide worden via de bloedstroom tot bij de ovaria gebracht waar ze hun functie gaan uitoefenen.



*Figuur 2: Feedbackmechanismen, uit: Brinsko et al, 2011*

De verhouding van LH/FSH dat in de systemische circulatie terecht komt is dus afhankelijk van het GnRH, maar ook van de feedback die uitgeoefend wordt door de hormonen die geproduceerd worden door de ovaria, dat zijn inhibine, oestrogenen en progesteron. Wanneer GnRH in een lage frequentie vrijgesteld wordt (elke zes uur), zal FSH meer geproduceerd en vrijgesteld worden. Als GnRH in een hoge frequentie vrijgesteld wordt (elke vijfenvierzig minuten), zal de productie en vrijstelling van LH de overhand nemen (Raz en Aharonson – Raz, 2012). FSH gaat inwerken op de granulosa cellen van de preovulatoire follikel zodat deze gestimuleerd wordt om te matureren en uiteindelijk oestrogenen te produceren. We kunnen een bimodaal en een unimodaal secretiepatroon onderscheiden, waarbij het bimodale patroon typisch voorkomt tijdens de overgangperiode in de lente en tijdens het dekseizoen. Hierbij is er een eerste FSH piek tussen dag acht en veertien van de cyclus, gevolgd door een tweede piek vanaf dag vijftien. LH is verantwoordelijk voor de maturatie van de oöcyte, de ovulatie, de luteïnisatie van een corpus luteum en de synthese van oestrogenen. De concentratie van LH zal vanaf dag vijf tot het moment van de ovulatie geleidelijk aan stijgen. Zowel FSH als LH gaan door middel van feedbackmechanismen terug gaan inwerken op de hypothalamo – hypofysaire as en bepalen zo de oestrus cyclus in de merrie (Satué, 2013 en Walsh, 2013 en Aral et al., 2021).

De folliculaire fase of de oestrus wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van follikels in verschillende momenten van de ontwikkeling, gepaard met een stijging in vrijstelling van oestrogenen. De vorming van steroïden, waaronder oestrogenen, in de ovaria gebeurt in de theca- en de granulosa cellen. De antrale follikels (de dominante follikels) vormen receptoren voor het FSH en het LH in de membranen van de granulosa- en thecacellen. Cholesterol kan doorheen het plasmamembraan van de thecacellen, waar het gaat binden aan een lipoproteïne. Dit zit opgeslagen in een cytoplasmatische vacuole om zo getransporteerd te worden tot het buitenste membraan van de mitochondria (Aral et al., 2021).

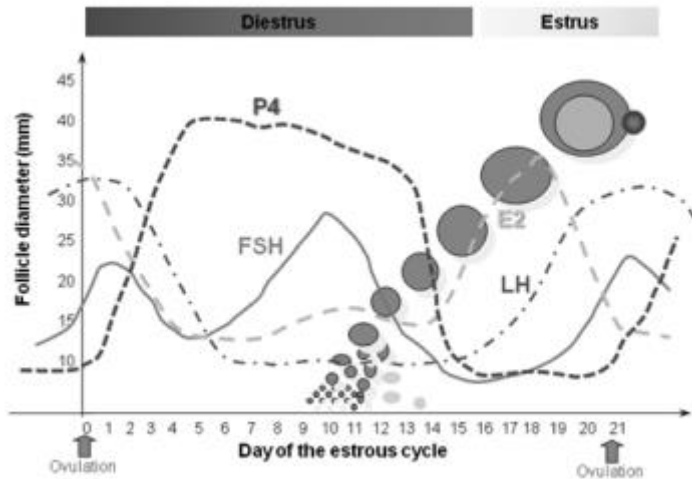
De LH concentraties gaan stijgen beginnende vanaf dag vijf en zullen dit blijven doen tot het moment van de ovulatie wanneer de maximale concentratie gaat bereikt worden. Deze stijging komt tot stand door het positieve feedbackmechanisme dat gevormd wordt via de adenohipofyse door middel van de productie van E<sub>2</sub> concentraties die gesecreteerd worden door de granulosa cellen van de

preovulatoire, dominante follikel. De hoogste concentratie aan  $E_2$  wordt twee dagen voor de LH piek bereikt. Gedurende de dioestrus zal LH pulsatoir vrijgesteld worden vanuit de adenohipofyse om te binden aan de receptor in het celmembraan van de thecacel. Dit mobiliseert cholesterol. Binnen in de thecacellen gaat het StAR proteïne helpen om cholesterol over te zetten naar het binnenste mitochondriale membraan, waar het cytochroom  $P_{450}$  systeem cholesterol zal gaan verdelen in pregnenalone ( $P_5$ ) wat omgevormd wordt tot androstenedione ( $A_4$ ). Alle  $A_4$  dat geproduceerd wordt in de thecacellen gaat via het basaalmembraan naar de granulocellen gebracht worden, waar FSH deze pathway ondersteunt en  $A_4$  zal omzetten tot  $E_2$ . Deze verhoogde concentratie van oestrogeen gaat een positieve feedback geven aan de secretie van LH, de hogere secretie van LH zal dan verder nog oestrogeen synthese stimuleren. Dit proces gaat verder de aanwezigheid van LH receptoren in de granulocellen stimuleren, hierdoor kan er van het antrale stadium naar het pre-ovulatoire stadium gegaan worden en kan de oöcyte naar de finale delen van de maturatie gaan. Zes dagen nadat de dominante golf opkomt, gaat de deviatie optreden (Aral et al., 2021).

De deviatie is gerelateerd aan de inhibine secretie en de insulín – like growth factor – 1 (IGF – 1). Vooral inhibine gaat de FSH secretie gaan inhiberen, wat het onmogelijk maakt voor de subordinate follikels om nog verder te ontwikkelen. De dominante follikel zal daarentegen blijven groeien tot deze een diameter tussen veertig en vijfenveertig mm bereikt, hoewel de grootte nog meer kan verschillen door de verschillen in de rassen. De groei van de dominante follikel is mogelijk door een grotere gevoeligheid voor FSH, want op dit moment in de ontwikkeling zullen de granulocellen ook LH receptoren ontwikkelen die nodig zijn voor de laatste maturatie en de ovulatie. Bij de ontwikkeling van de LH receptoren in de pre – ovulatoire follikel is ook FSH betrokken. Bij de start van de folliculaire groei zijn er lage concentraties aan estradiol die een negatieve feedback uitoefenen op de hypothalamo – hypofysaire as en dus ook de tonische of basale vrijstelling van gonadotropine. Dit mechanisme gaat de folliculaire groei controleren (Aral et al., 2021).

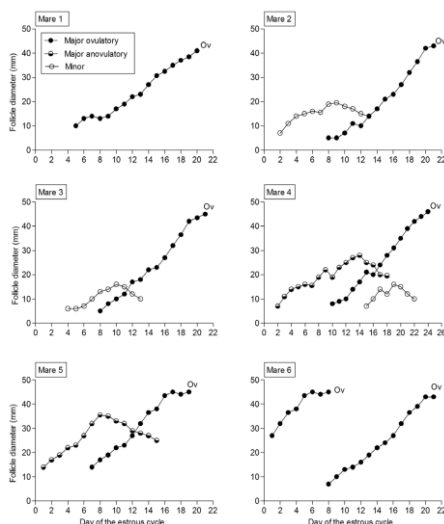
De verhoogde concentraties van oestrogeen gesecreteerd door de granulocellen van de preovulatoire follikel, afhankelijk van het effect van FSH, zorgen ook voor de inductie van de typische gedragsveranderingen horend bij de oestrus. Maar oestrogenen zijn ook verantwoordelijk voor de reproductieve veranderingen die ervoor zorgen dat de ontvangst, het transport en uiteindelijk ook de bevruchting van de oöcyte mogelijk zijn. Maar, dit zal enkel gebeuren in de afwezigheid van  $P_4$ . Dit proces zal tevens verantwoordelijk zijn voor de pre-ovulatoire vrijstelling van LH. Na deze LH piek zal de ovulatie vierentwintig tot achtenveertig uur later plaatsvinden. Tijdens de ovulatie zal de oöcyte snel geëvacueerd worden uit het folliculaire vocht. Eens dit compleet is, zullen de oestrogeen concentraties terug naar de basale niveaus gaan.





*Figuur 3: Voorbeelden van folliculaire golven in zes verschillende merries. De diameter van de grootste follikel is weergegeven in de golf. Kijk naar de verschillende types folliculaire golven. Uit: Raz, Aharson - Raz, 2012.*

plaatsvinden. De diameter bij de ovulatie is afhankelijk van het ras (bij kleinere rassen eerder <dertig mm en bij grote rassen eerder > vijfenveertig mm) en het seizoen (in het begin van het jaar groter dan in het najaar) (Brinsko et al., 2011). De folliculaire golven beginnen te ontwikkelen enkele dagen na het einde van de luteale fase, meerdere follikels gaan aan een zelfde snelheid groeien en bereiken uiteindelijk een grootte van tweeëntwintig tot vierentwintig mm (Ginther et al., 2007). Binnen iedere golf gaat er een opsplitsing gebeuren, terwijl het merendeel van de follikels in atresie zal gaan, gaat de diameter van één follikel sterk blijven toenemen. Deze deviatie vindt plaats onder invloed van de interactie tussen de circulerende gonadotropines en intrafolliculaire factoren. Er kan een onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende golven. Met de term 'major waves' worden golven aangeduid die een dominante follikel produceren. Met 'minor waves' worden de golven bedoeld die geen dominante follikel produceren, omdat de grootste follikel niet de diameter gaat bereiken van een dominante follikel (Raz, Aharson – Raz, 2012).



*Figuur 4: een schematische weergave van de endocrinologie tijdens de cyclus van de merrie. Uit: Raz, Aharson - Raz, 2012.*

De follikelgroei in de merrie volgt een golfpatroon, waarbij er vaak één tot twee golven plaatsvinden per cyclus. De ontwikkeling van de cycli wordt beïnvloed door het moment in de cyclus, het seizoen, eventuele dracht, de leeftijd, het ras en verschilt ook per individu (Raz, Aharson - Raz, 2012). Binnen iedere golf gaat zich een groot aantal follikels gaan ontwikkelen, maar er zal maar één, soms twee follikels dominant worden. Deze dominante follikel gaat verder doorgroeien tot een diameter van dertig tot vijftig mm waarbij de ovulatie al dan niet binnen achtenveertig uur na de oestrus zal

plaatsvinden. De diameter bij de ovulatie is afhankelijk van het ras (bij kleinere rassen eerder <dertig mm en bij grote rassen eerder > vijfenveertig mm) en het seizoen (in het begin van het jaar groter dan in het najaar) (Brinsko et al., 2011). De folliculaire golven beginnen te ontwikkelen enkele dagen na het einde van de luteale fase, meerdere follikels gaan aan een zelfde snelheid groeien en bereiken uiteindelijk een grootte van tweeëntwintig tot vierentwintig mm (Ginther et al., 2007). Binnen iedere golf gaat er een opsplitsing gebeuren, terwijl het merendeel van de follikels in atresie zal gaan, gaat de diameter van één follikel sterk blijven toenemen. Deze deviatie vindt plaats onder invloed van de interactie tussen de circulerende gonadotropines en intrafolliculaire factoren. Er kan een onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende golven. Met de term 'major waves' worden golven aangeduid die een dominante follikel produceren. Met 'minor waves' worden de golven bedoeld die geen dominante follikel produceren, omdat de grootste follikel niet de diameter gaat bereiken van een dominante follikel (Raz, Aharson – Raz, 2012).

Iedere cyclus zullen er één tot twee dominante folliculaire golven voorkomen. Deze kunnen een dominante follikel voortbrengen, maar enkel de ovulatoire golf die halverwege de dioestrus opkomt, gaat standvastig genoeg zijn om de dominante follikel tot ovulatie te laten gaan (Raz, Aharson – Raz, 2012). De FSH piek gaat de golven stimuleren wanneer de grootste follikel dertien mm is. Daarna gaat de FSH concentratie dalen en hierdoor kan drie dagen later de deviatie plaatsvinden. De follikels van een golf gaan zelf oestrogenen en inhibine gaan secreteren, dit draagt bij tot een daling in secretie van FSH door de hypofyse. Hierbij komt dat de grote follikels gevoeliger zijn voor deze daling in FSH dan de kleine follikels. Dit betekent dat FSH dus verantwoordelijk blijft voor de groei van follikels, ook na de initiële piek. De concentratie van de LH piek gaat beginnen toenemen vanaf het moment dat de FSH concentratie daalt. De granulosa-cellen van de dominante follikel gaat dan LH receptoren verwerven (Raz, Aharson – Raz, 2012).

Voor FSH zijn er twee types secretiepatronen tijdens de oestruscyclus, de unimodale en de bimodale. Het bimodale patroon komt vaker voor tijdens de overgangperiode in de lente en het dekseizoen. Tussen dag acht en dag veertien van de cyclus zal de grootste follikel van deze golf een diameter van dertien mm bereiken. Deze groeischeut als het ware, komt voor de deviatie en is geassocieerd met een grotere synthese van inhibine door de grootste follikel en blijft ook aanhouden tot deze pre - ovulatoire follikel een diameter van tweeëntwintig mm bereikt. Een tweede piek in FSH concentratie komt dan op dag vijftien van de cyclus, deze is nodig om de ontwikkeling van de pre - ovulatoire follikel verder te kunnen laten gaan. Bij het unimodale secretiepatroon ontbreekt de FSH piek tussen dag acht en veertien. Tijdens de oestrus zullen de concentraties laag blijven en deze stijgen pas rond het moment van de ovulatie en blijven dan verhoogd doorheen de dioestrus (Aral et al., 2021).

De reden van de daling in gonadotropine en GnRH vrijstelling zou de afwezigheid van positieve signalen kunnen zijn. Deze positieve signalen zijn de aanwezigheid van de hengst, de nutritionele status, de lengte van de dagen en de weersomstandigheden.

Tijdens de dioestrus of de luteale fase gaat het corpus luteum dat op het ovarium zit progesteron of  $P_4$  produceren. Dit zorgt voor een remming op de hoge frequentie van de GnRH vrijstelling. Na de afbraak van het corpus luteum krijgen we lage concentraties aan progesteron en gaat de frequentie van GnRH vrijstelling terug stijgen. Wanneer de remmende factor van verhoogde progesteron concentraties wegvalt, gaat er ook een stijging zijn in circulerende oestrogenen die geproduceerd worden door de maturerende follikels en de vrijstelling van GnRH positief gaat beïnvloeden (Raz en Aharonson – Raz, 2012). Tijdens de dioestrus gaat LH in pulsen worden vrijgesteld. Deze basale concentratie aan LH gaat ervoor zorgen dat de secretie van  $P_4$  behouden kan blijven. Aan het einde van de dioestrus zien we een daling in LH door een daling in de feedback van oestrogeen, maar ook door de negatieve feedback via  $P_4$  naar de hypothalamo – hypofysaire as. LH is dus niet enkel belangrijk voor de ontwikkeling van follikels, maar evenzeer voor het ontwikkelen en onderhouden van het corpus luteum (Aral et al., 2021).

Na de ovulatie blijft de folliculaire wand achter, waar fibroblasten en bloedvaten zullen binnenkomen in de folliculaire holte. De structurele en functionele veranderingen in de granulosa - en thecacellen wordt de luteïnisatie genoemd. Hierbij gaan de cellen die eerst  $E_2$  produceerden nu overgaan tot de productie van  $P_4$ . De concentratie van  $P_4$  zal hoog blijven van vijf dagen na de ovulatie tot het einde van de dioestrus of de luteale fase die begint na de ovulatie. Dit is onafhankelijk van de seizoenen, waardoor deze fase van de cyclus een vrij vaste periode kent van veertien tot vijftien dagen (Aral et al., 2021).

$P_4$  is van belang omdat het veranderingen teweegbrengt die het endometrium klaarmaken om de dracht te ontvangen en te onderhouden. Hierbij gaan onder andere de endometriale klieren ontwikkelen en zal de myometriale contractiliteit geïnhibeerd worden. Naargelang de aan- of afwezigheid van een centrale bloedklonter kan er onderscheid gemaakt worden tussen twee soorten corpora lutea. Meestal (bij ongeveer vijftig – zeventig procent) zal er in de wonde die achterblijft een centraal gelegen bloedklonter achterblijven. Dit noemen we het corpus hemorrhagicum, wat geïnvadeerd zal worden met bloed, fibrine en transudaat in de eerste vierentwintig uur na de ovulatie. De maximale grootte zal bereikt worden op drie dagen na de ovulatie. Corpora lutea zonder een centrale bloedklonter vormen het luteaal weefsel rond een centrale holte, waardoor deze doorgaans groter zijn dan hun tegenhangers. Bovendien is het weefsel dat door zo een corpus luteum gevormd wordt veel dener. De geproduceerde concentratie aan  $P_4$  zorgt ervoor dat tijdens de dioestrus zowel de frequentie als de intensiteit van de pulsatoire gonadotropine – releasing factor (GnRH) vrijstelling zal dalen. De  $P_4$  secretie wordt onderhouden door een basale concentratie aan LH en aan het einde

van de dioestrus gaat de concentratie aan LH terug gaan dalen door een vermindering van de positieve feedback vanuit de oestrogenen en een negatieve feedback afkomstig van  $P_4$  op de hypothalamo – hypofysaire as. Gonadotropine zal dus niet enkel een rol spelen in de ontwikkeling en maturatie van de primaire follikels, maar ook in de ontwikkeling en het onderhouden van het corpus luteum tijdens de luteale fase (Aral et al., 2021).

We zien echter ook een folliculaire golf ontstaan tijdens de dioestrus. Dit is mogelijk doordat de concentratie aan FSH hoger is dan deze van LH. Zonder een beginnende dracht zal deze fase eindigen met de luteolyse of de afbraak van het corpus luteum, geïnduceerd door  $PGF_{2\alpha}$ , wat afkomstig is van het endometrium, samen met een daling in de concentratie van  $P_4$  (Aral et al., 2021).

## 2 Probleemstelling

Door de verschillen in de seizoenen kan men zeggen dat een merrie vier vormen van cyclische activiteit heeft: de winter anoestrus, de lente overgangperiode, een periode van cyclische seizoensactiviteit (april – september) en een herfst overgangperiode terug naar de winter anoestrus. De winter anoestrus hoeft geen strikte anoestrus te zijn. Sommige merries blijven cycleren, anderen ervaren wel een seizoenale anoestrus en beginnen doorheen de overgangperiode in de lente terug te cycleren, maar gaan niet elk jaar op hetzelfde moment een eerste cyclus doormaken. Dit kan uitgesteld worden door voeding, body condition, vermageren, sociale stress, omgevingstemperatuur en reproductieve status (Crabtree, 2021). De lengte van de oestrus is ook vrij variabel, gaande van twee dagen tot soms langer dan twaalf dagen (Brisko et al., 2011).

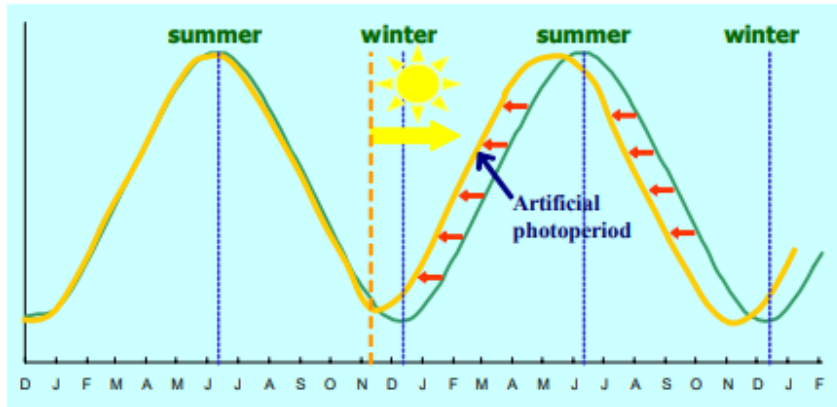
Het is dus moeilijk om de eerste ovulatie in het seizoen te gaan voorspellen, vandaar dat ik in het verdere verloop van de masterproef hier graag dieper op in zou gaan. Door het vergelijken van verschillende onderzoeken zou ik willen bekijken welke middelen gebruikt kunnen worden om de ovulatie beter te kunnen voorspellen en te beïnvloeden.

## 3 Doelstelling

De overgangperiode van anoestrus naar oestrus gaat heel geleidelijk, wat ervoor zorgt dat het lastig is om de diepte van de anoestrus en het moment van de eerste ovulatie in te schatten. Dit wordt nog extra bemoeilijkt doordat de anoestrus en de overgangperiode gekenmerkt worden door een periode van onregelmatige ovariële activiteit. Voor veel fokkers is het belangrijk om de veulens vroeg in het jaar geboren te laten worden, zodat deze tegen de keuring al verder gegroeid zijn en dus een voordeel hebben ten opzichte van veulens die later in het jaar geboren worden. Maar om dit te verkrijgen moeten de merries ook vroeger gaan ovuleren (J. F. Thorson et al., 2014).

Om een ovulatie op te sporen kan men ultrasonografie gaan gebruiken. Het ovarium van de merrie is structureel binnenstebuiten gekeerd in vergelijking met andere diersoorten. Voor de ovulatie kan de rijpe follikel gezien worden als een echogene nodule, naarmate de ovulatie nadert gaat de follikel alsmaar echogener worden. Gemiddeld is de diameter van de preovulatoire follikel negenendertig en een halve mm, maar afhankelijk van de studie kan dit oplopen tot vierenveertig mm. Eventueel kunnen echogene spots waargenomen worden in het folliculaire vocht, maar dat is niet bewezen als voortekenen van de ovulatie. De ovulatie zelf kan gezien worden als een korte sterke afname van folliculaire grootte, waarna slechts weinig folliculaire vocht achterblijft (Carnevale et al., 1988 en Fathi et al., 2017). Ook bloedstalen kunnen hiervoor gebruikt worden, waarbij men de concentratie aan progesteron en LH gaat bepalen (J.F. Thorson et al., 2014).

Tijdens de anoestrus gaat een lagere concentratie aan gonadotropine en GnRH geproduceerd worden dan wat we zien bij de oestrus. De reden hiervoor is niet goed gekend. Dit zou gerelateerd kunnen zijn aan de afwezigheid van positieve factoren of de aanwezigheid van negatieve factoren die allemaal gebaseerd zijn op enkele belangrijke punten: de lengte van de dagen of fotoperiode, de temperatuur of het weer en de voedingsstatus (Daels, 2006).



*Figuur 5: Het jaarlijkse endogene ritme van de reproductieve activiteit. Uit: Daels, 2006.*

Het endogene, circadiaans ritme van de merrie hangt samen met de seizoenen en de daglengte. Dit endogene ritme kan je in tijd verplaatsen, maar de vorm ervan kan je niet veranderen. Men kan door kunstmatig licht voldoende te supplementeren de ovulatie vroeger laten plaatsvinden, waardoor zestig tot zeventig dagen na de start van deze therapie de eerste ovulatie zal plaatsvinden. Om deze methode efficiënt te maken is het nodig dat men tijdig start met het supplementeren van licht, vanaf één november of één december waarbij de eerste ovulatie tussen eind februari en eind maart zal plaatsvinden. Gemiddeld kan men door deze methode de eerste ovulatie een maand eerder laten plaatsvinden (Daels, 2006).

Een andere optie is het onderhouden van een vijftien en een halfuur durende fotoperiode na het midden van de zomer. Dit geeft uiteenlopende resultaten, maar zou de anovulatoire periode kunnen verkorten doordat de merries tot later in de herfst ovuleren en sneller in de lente beginnen te ovuleren.

Helaas vergt het manipuleren van de fotoperiode veel arbeid en is het vrij kostelijk, zonder dat het altijd effectief is. Hierdoor is men verder gaan kijken naar andere manieren om een vruchtbare ovulatie op te wekken in een merrie die in anoestrus is, maar de farmacologische behandelingen hebben ook beperkingen. Ze zijn niet altijd even succesvol en vaak zijn meerdere injecties nodig en gaan dieren na de ovulatie terug in de anoestrus in plaats van dat de oestrusperiode vervroegd opgestart wordt.

Zeventien jaar geleden werd de behandeling met EPE of equine pituitary extract (EPE) en deels gezuiverd equine FSH beschouwd als de meest effectieve behandelingsmethode. Merries die behandeld werden met EPE gingen binnen de veertien dagen na de opstart van de behandeling ovuleren, maar er waren grote verschillen tussen de batches van EPE, waardoor de resultaten niet altijd herhaalbaar waren (McCue et al., 2007).

Bij het toedienen van gonadotropine releasing hormone (GnRH) aan een merrie in anoestrus zal de reproductieve activiteit hernemen. Dit komt doordat de seizoensgebonden inactiviteit gebonden is aan de lage concentratie aan GnRH die vrijgesteld wordt door de hypothalamus (Aral et al., 2021). De toediening van GnRH gaat ook de productie van FSH en LH opdrijven, maar we moeten ons de vraag stellen of continue toediening wel nuttig is. Deze behandeling zorgt voor de synchronisatie van de ovulatie bij verschillende merries en ook de drachtigheidsrate zal stijgen. Native GnRH is werkzaam indien twee tot driemaal per dag toegediend via een injectie, maar kan ook via uitwendig opgehangen infusie of peristaltische pompen ieder uur vrijgesteld worden. Maar, even goed kan men een, via een

subcutaan ingepland osmotische minipomp, continue infusie gaan toepassen. De behandeling geeft niet altijd de gewenste resultaten en de verschillende protocollen dragen niet bij tot meer effectiviteit, bovendien vragen deze veel arbeid (Aral et al., 2021).

GnRH agonisten worden toegediend door middel van herhaalde injecties of traag releasende langdurige implantaten of implantaten die een korte termijn aanwezig blijven. Mogelijke preparaten zijn Deslorelin® en busereline (Receptal, Intervet Int via MSD AH). Zowel de toediening van natuurlijke GnRH en de toediening van GnRH agonisten aan merries in anoestrus zorgen voor een stijging van de concentratie LH en soms een stijging van de concentratie van FSH. De stijging van de gonadotropines hangt samen met de dosis die toegediend werd, beide stijgen evenredig. De werking van deze producten is vaak gerelateerd aan de grootte van de follikel op het moment van de toediening en de diepte van de anoestrus. Hierbij ziet men dat merries die al in de overgang zitten en follikels hebben met een diameter tussen twintig en vijfentwintig mm meer kans hebben om te reageren dan merries met follikels kleiner dan vijftien mm bij de start van de behandeling. Mogelijks heeft de manier van toediening ook een invloed op het succes van de behandeling, zo zou het toedienen om het uur betere resultaten geven dan twee maal per dag toedienen (McCue et al., 1991). Het is belangrijk om zich te realiseren dat het resultaat van de behandeling afhankelijk is van de diepte van de anoestrus en de folliculaire grootte op het moment van de opstart van de behandeling (Aral et al., 2021). Bovendien loop je het risico om een vroege dracht af te breken.

Dopamine gaat als neurotransmitter de productie van prolactine door de hypofyse inhiberen, door het toedienen van dopamine agonisten krijgen we een onderdrukking van de prolactine concentratie in het bloed. De behandeling met dopamine antagonisten gaat er dan weer voor zorgen dat de concentratie aan prolactine in het bloed zal stijgen. Domperidone® en sulpiride zijn de meest gebruikte dopamine antagonisten (McCue et al., 2007).

Over de effectiviteit van progesteron en progestrine voor het naar voor schuiven van de eerste ovulatie heerst er nog discussie. De meeste onderzoeken zijn het er echter wel over eens dat behandeling met progesteron de eerste ovulatie niet naar voor gaat schuiven als de merrie bij de behandeling nog diep in de seizoensgebonden anoestrus zit of als de merrie vroeg in de overgangsperiode zit (McCue et al., 2007). Deze behandeling gaat helpen om de opstart van de oestrus te synchroniseren, bij merries die eerst twee maanden een artificiële fotoperiode ondergingen, en zal ook de eerste ovulatie voeger laten plaatsvinden als de merrie op het moment van de behandeling al in de overgang zit. Het gaat ook bijdragen tot het reguleren van de cycli bij een merrie die onregelmatige oestrus ervaart. De toediening van P<sub>4</sub> gaat de vrijstelling van LH onderdrukken. Als deze toediening stopt, gaat er een rebound effect optreden dat folliculaire maturatie en ovulatie gaat induceren (Aral et al., 2021).

De concentratie aan prolactine aanwezig in het bloed is evenredig met de veranderingen in de fotoperiode, waarbij we zien dat hoe korter de dagen (winter), hoe lager de concentratie aan prolactine en hoe langer de dagen (zomer), hoe hoger de concentratie van prolactine aanwezig in het bloed. Veertien dagen na de toediening van prolactine gaan merries beginnen ruiven en ziet men ook dat de ovulatie vroeger gaat plaatsvinden. Er wordt gedacht dat de werking van prolactine bij de ovaria zit en niet ter hoogte van de hypofyse. Uit studies uitgevoerd bij schapen blijkt dat het toedienen van dopamine antagonisten effectief is om de concentratie aan LH te laten stijgen door de vrijstelling van dopamine te remmen. Dit werkt omdat merries in de seizoensgebonden anoestrus een verhoogde concentratie van dopamine hebben (Aral et al., 2021 en McCue et al., 2007).

Recombinante LH of hCG, wordt gebruikt om de ovulatie te induceren. Dit kan wel tot immuunreactie leiden bij herhaald gebruik, maar is verder een betrouwbaar en effectief product zonder dat het de endogene hormoonprofielen of de ovulatoire intervallen zal aantasten. Het gaat de folliculaire groei in

merries die reeds cycleren gaan induceren, echter het is tevens ook heel werkzaam om de ovulatie te induceren bij merries die diep in anoestrus zijn (Aral et al., 2021).

FSH stimuleert de folliculaire ontwikkeling en schuift de eerste ovulatie naar voor. Het speelt tevens een centrale rol in de regressie van de recessieve follikels. De inhibitie van FSH leidt tot atresie van deze follikels. Na de behandeling met FSH zijn er echter een aantal merries die terug naar de overgangsfase gaan (Meyers – Brown et al.). Recombinante FSH kan ook gebruikt worden voor het induceren van de ovulatie bij normaal cyclerende merries, waarbij het meerdere dominante follikels zal produceren. Bij het toedienen van recombinante equine LH aan cyclische merries gaat de ovulatie binnen de zesendertig tot achtenveertig uur na de injectie, induceren als de merries voor de injectie een follikel van vijfendertig mm of groter hebben (Aral et al., 2021).

Behandeling met reFSH, al dan niet in combinatie met reLH, zorgt voor de ontwikkeling van meerdere follikels die een diameter van vijfendertig mm of groter zullen bereiken, wat binnen vijf tot zes dagen resulteert in meerdere ovulaties die plaatsvinden acht tot tien dagen na de start van de behandeling bij merries die een natuurlijke of niet – gemanipuleerde fotoperiode hebben. Deze behandeling maakt het mogelijk om efficiënter en sneller ovulatie te induceren bij merries in anoestrus en onder een natuurlijke fotoperiode dan bij een artificieel verlengde fotoperiode. reLH heeft daarbij nog het voordeel dat het geen verlengde oestrus cycli gaat induceren, wat een neveneffect is dat vaak gebeurt. Als beide farmacologische therapieën gecombineerd worden, krijg je betere embryorecovery in merries dan bij enkel gebruik van reFSH (Aral et al., 2021).

In sommige gevallen gaat een combinatie gemaakt worden van behandelingen, bv. kunstmatig licht opstarten in november of december en dan reFSH toedienen waardoor de folliculaire ontwikkeling kan opstarten en dan hCG toedienen om de ovulatie te induceren.

## 4 Literatuurlijst

- Aral, F., Payan-Carreira, R., & Quaresma, M. (2021). Animal Reproduction in Veterinary Medicine. In *IntechOpen eBooks*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.78921>
- Arbal, R. W., Ingawale, M. V., Deshmukh, S. G., & Hajare, S. W. (2015). Detection of preovulatory follicle size and early pregnancy by using ultrasonography in thoroughbred mares during foal heat. *Indian Journal of Animal Reproduction*, 36. <https://doi.org/10.12980/apjr.6.20170309>
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005>
- Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., & Varner, D. D. (2011). *Manual of Equine Reproduction*. Mosby.
- Carnevale, E. M., McKinnon, A. O., Squires, E. L., & Voxx, J. (1988). Ultrasonographic characteristics of the preovulatory follicle preceding and during ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 8(6), 428–431. [https://doi.org/10.1016/s0737-0806\(88\)80092-3](https://doi.org/10.1016/s0737-0806(88)80092-3)
- Crabtree, J. A. (2021). Update on the management of anoestrus and transitional phase in horses. *In practice*, 43(8), 457–466. <https://doi.org/10.1002/inpr.127>
- F Daels, P. (2006). Management of Spring Transition. *8 th AAEP Annual Resort Symposium, Rome*.
- Filho, M. F. S., Ayres, H., Ferreira, R., Marques, M. M., Reis, E. L., Silva, R. F., Rodrigues, C. V., Madureira, E. H., Bó, G. A., & Baruselli, P. S. (2010). Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology*, 73(5), 651–658. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.004>
- Ginther, O.J., Utt, M.D., Beg, M.A., Gastal, E.L., Gastal, M.O., 2007. Negative Effect of Estradiol on Luteinizing Hormone Throughout the Ovulatory Luteinizing Hormone Surge in Mares. *Biol. Reprod.* 77, 543 – 550.
- McCue, P. M., Logan, N. L., & Magee, C. (2007). Management of the transition period: hormone therapy. *Equine Veterinary Education*, 19(4), 215–221. <https://doi.org/10.2746/095777307x187793>
- McCue, P. M., Troedsson, M., Liu, I. K. M., Stabenfeldt, G. H., Hughes, J., & Lasley, B. L. (1991). Follicular and endocrine responses of anoestrous mares to administration of native GnRH or a GnRH agonist. *Journal of reproduction and fertility*, 44, 227–233.
- Meyers-Brown, G. A., Loud, M., Hyland, J., & Roser, J. F. (2017). Deep anestrous mares under natural photoperiod treated with recombinant equine FSH (reFSH) and LH (reLH) have fertile

- ovulations and become pregnant. *Theriogenology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.001>
- Mohamed, F., Am, F. H., A, A. N., Khattab, M., & Karmoty, A. E. (2017). Endoscopic monitoring the estrous phase of Arabian mares with assaying its biopsy. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 6(3), 140–143. <https://doi.org/10.12980/apjr.6.20170309>
- Murphy, B. A., Walsh, C. M., Woodward, E., Prendergast, R. L., Ryle, J. P., Fallon, L. H., & Troedsson, M. (2014). Blue light from individual light masks directed at a single eye advances the breeding season in mares. *Equine Veterinary Journal*, 46(5), 601–605.  
<https://doi.org/10.1111/evj.12153>
- P. Hurtgen, J., & O. Hanso, J. (1975). Heat detection and time of breeding in the mare. *Veterinary Science*, NO.9.
- Raz, T., & Aharonson-Raz, K. (2012). Ovarian Follicular Dynamics During the Estrous Cycle in the Mare. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67(1), 11–18.
- RECEPTAL | VetCompendium. (z.d.). <https://www.vetcompendium.be/nl/node/4068>
- Roser, J. F., & Meyers-Brown, G. A. (2019). Enhancing Fertility in Mares: Recombinant Equine Gonadotropins. *Journal of Equine Veterinary Science*, 76, 6–13.  
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.03.004>
- Satué, K., & Gardón, J. C. (2013). A Review of the Estrous Cycle and the Neuroendocrine Mechanisms in the Mare. *Journal of Steroids & Hormonal Science*. <https://doi.org/10.4172/2157-7536.1000115>
- Scraba, S., & Ginther, O. (1985). Effects of lighting programs on onset of the ovulatory season in mares. *Theriogenology*. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(85\)90165-7](https://doi.org/10.1016/0093-691x(85)90165-7)
- Thorson, J. F., Atkinson, D., Amstalden, M., & Williams, G. (2014). Pharmacologic application of native GnRH in the winter anovulatory mare, I: Frequency of reversion to the anovulatory state following ovulation induction and cessation of treatment. *Theriogenology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.11.018>
- Walsh, C. M., Prendergast, R. L., Sheridan, J. T., & Murphy, B. A. (2013). Blue light from light-emitting diodes directed at a single eye elicits a dose-dependent suppression of melatonin in horses. *Veterinary Journal*, 196(2), 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.003>
- Yoon, M., Boime, I., Colgin, M., Niswender, K. D., King, S., De Alvarenga, M. A., Jablonka-Shariff, A., Pearl, C. A., & Roser, J. F. (2007). The efficacy of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH) in mares: Induction of ovulation, hormone profiles, and inter-ovulatory intervals. *Domestic Animal Endocrinology*, 33(4), 470–479.  
<https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.06.001>



