

**Ovulationsinduktion  
med  
humant chorion gonadotropin (hCG)  
under danske forhold**



**Af  
Maria Mannfalk, DVM  
Hestedoktoren I/S**

**Hovedopgave  
Fagdyrlægeuddannelsen  
vedr. sygdomme hos heste  
2005-2007**

## Summary

This study was designed to investigate the timing of ovulation with Chorulon®vet in normal cycling mares under Danish conditions. The purpose was to determine the number of insemination doses needed compared to untreated horses. The study was completed by examining the reproductive records of mares during the seasons of 2006 and 2007. In the treatment group, consisting of 50 mares (group A), 3000 IE Chorulon®vet was administered intramuscularly during estrus, when a 35-40 mm follicle was detected. The control group, also consisting of 50 mares (group B), was followed from the time where the mare was in estrus, and a 35-40 mm follicle was present. The mares were inseminated with cooled semen, every second day, until ovulation took place.

It was noted how many of the treated mares that ovulated within 48 hours and how many doses that were needed before the ovulation took place, in comparison with the control group. In addition, the pregnancy rates were determined for both the treated and untreated mares.

In the treatment group, 88 % of the mares ovulated within 48 hours compared to 16 % in the control group. The number of semen portions that were required in the treatment group was in average 1.16, while 2.02 portions were needed in the control group. There was significant correlation between the number of days from inclusion in the trial to ovulation and the number of doses of semen ( $p < 0,05$ ). In addition, the number of mares that were inseminated with only one portion of semen were higher in group A than in group B ( $p < 0,0001$ ).

The pregnancy rates did not differ between the groups. In the treatment group 76 % got pregnant while the pregnancy rate in the untreated group was 74 % ( $p = 1,0000$ ).

The results of the present study reveal that induction of ovulation with Chorulon®vet is an important tool in a breeding operation. It reduces the number of inseminations needed per cycle, resulting in a more sufficient breeding program.

## Sammendrag

Dette forsøg, under danske forhold, blev iværksat med det formål, at bestemme ovulations-tidspunktet hos hopper. Efterfølgende undersøges om antallet af inseminationsdoser per brunst kan mindskes hos hopper, hvor ovulationen er induceret med Chorulon® vet sammenlignet med hopper, hvor ovulationsinduktion ikke anvendes. Forsøgsmaterialet bestod af tilfældigt udvalgte hopper i reproduktionssæsonerne 2006 og 2007. Behandlingsgruppen, der bestod af 50 hopper (gruppe A), blev induceret med 3000 IE Chorulon®vet. i. m., når hoppen viste moderat ødem i livmoderslimhinden og når ovarierne indeholdt en follikel på 35-40 mm i diameter. Kontrolgruppen, der ligeledes bestod af 50 hopper (gruppe B), blev inkluderet i forsøget ved moderat ødem i livmoderslimhinden, og når folliklen var mellem 35 og 40 mm i diameter. Hopperne insemineredes efterfølgende med kølesæd hver anden dag indtil ovulation fandt sted.

Det blev noteret, hvor mange dage der gik fra hoppernes inklusion i forsøget til ovulation, og hvor mange inseminationsdoser/brunst, der skulle bruges. Desuden blev drægtighedsresultatet sammenlignet mellem de to grupper af behandlede respektive ubehandlede hopper.

I behandlingsgruppen ovulerede 88 % af hopperne indenfor 48 timer efter inklusionen mod 16 % i kontrolgruppen. Antallet af doser der blev anvendt i behandlingsgruppen var i gennemsnit 1,16 doser, mens 2,02 doser blev anvendt i kontrolgruppen. Der var signifikant korrelation mellem antal dage til ovulation og antal sæddoser ( $p < 0,05$ ). Desuden var der et signifikant større antal hopper som blev insemineret med kun en enkelt sæddosis i gruppe A sammenlignet med gruppe B ( $p < 0,0001$ ).

Der blev ikke registreret nogen forskel i drægtighedsresultatet mellem gruppen af behandlede (76 %) og gruppen af ubehandlede hopper (74 %) ( $p = 1,0000$ ).

Forsøget viser at ovulationsinduktion med Chorulon®vet er et vigtigt værktøj i reproduktionsarbejdet, da anvendelse af Chorulon®vet nedsætter antallet af insemineringsdoser per brunstcyklus, hvilket resulterer i et mere effektivt insemineringsprogram.

## Indledning

Hopper har en forholdsvis lang brunst og en stor individuel variation i både brunstlængde og folliklens størrelse ved ovulationen. Det er vist at induktion af ovulation er et vigtigt værktøj i reproduktionsarbejdet, med henblik på at afkorte brunstperioden og lettere bestemme inseminerings- eller bedækningstidspunkt (Sullivan *et al.* 1973; Roser *et al.* 1979; Wilson *et al.* 1990; Samper *et al.* 2002).

Generelt er der mange gode grunde til at styre ovulationen i reproduktionsarbejdet. Følgende grunde kan fremhæves som de vigtigste (Samper *et al.* 2002):

1. Hopper, der skal insemineres med populære hingste, hvor der kun er muligt at få en dosis per brunst.
2. Hopper, der skal insemineres med subfertile hingste, som har lav spermiekoncentration og/eller dårlig vitalitet.
3. Hopper med forlænget uterin clearance eller hopper, der har let ved at få endometrit.
4. Inseminering med frossen sæd eller embryotransfer.
5. Reduktion af antallet af insemineringer per brunst, hvorved reproduktionsarbejdet bliver mere arbejds effektivt og økonomisk.

Undersøgelser har vist, at hopper, der er blevet insemineret med fertile hingste, kan blive drægtige på trods af at ovulation opstår op til flere dage efter AI. Dog øges drægtighedsprocenten markant, når inseminering sker nærmere ovulationen (Woods *et al.* 1990).

## Baggrund

Chorulon®vet er det eneste præparat, der p.t. er godkendt til ovulationsinduktion hos hopper i Danmark. Produktet består af et humant choriongonadotropin (hCG) (Woods *et al.* 1990; Wilson *et al.* 1990; Niswender *et al.* 2006). HCG er et oligosaccharid glykoprotein (244 aminosyrer) med LH-lignende effekt, der inducerer modning og ovulation af follikler, samt danner og udvikler corpus luteum (Vandervall *et al.* 2001). HCG udvindes af urin fra gravide kvinder (Woods *et al.* 1990). I Danmark er præparatet godkendt til intramuskulær injektion og anbefalet dosering er 1500 IE til 3000 IE (Lægemiddelstyrelsen 2007).

Anbefalet dosering varierer i litteraturen fra 1500 IE til 6000 IE (Roser *et al.* 1979; Wilson *et al.* 1990; Barbacini *et al.* 2000; Vandervall *et al.* 2001; Grimmet *et al.* 2001; Samper *et al.* 2002; Morris *et al.* 2003; Mac Cue *et al.* 2004; Gastal *et al.* 2006; Evans *et al.* 2006). Grimmet *et al.* (2001) så ingen signifikant forskel i effekt mellem doserne 1500, 3000 og 6000 IE. Der er udført forsøg, hvor målinger af LH-koncentrationen i plasma har vist at heste, der er injiceret med 1500 IE eller med 2500 IE, har en højere LH-koncentration 24 timer efter injektion end kontrolgruppen. LH-koncentrationen forblev i dette forsøg højere i op til 42 timer efter behandlingen. LH udskillelsen var ligeledes identisk med den LH top, som følger spontan ovulation (Evans *et al.* 2006).

Kriterierne for anvendelse af hCG med godt resultat er, at hoppen viser ydre og indre brunsttegn (Samper *et al.* 2002), samt at mindst et af ovarierne har minimum en follikel der er  $\geq 35$  mm i diameter (Barbacini *et al.* 2000). Hos follikler af denne størrelse er LH receptorerne aktiverede og ved en enkel injektion af hCG fremskyndes oocytmodningen. Brugen af hCG til induktion af ovulation påvirker ikke kvaliteten af den ovulerende oocyt (Evans *et al.* 2006).

Flere studier har, som vist i tabel 1, dokumenteret, at en stor procentdel af hopper med en follikel på  $\geq 35$  mm i diameter vil ovulere indenfor 48 timer efter behandling med hCG.

I forsøg af Wilson *et al.* (1990) konkluderedes at 75,5 % af behandlede hopper ovulerede indenfor 48 timer mod 40 % i kontrolgruppen. Samper *et al.* (2002) fandt således at 83,3 % ovulerede indenfor 48 timer, 93,6 % indenfor 72 timer og 100 % indenfor 96 timer, mens Morris *et al.* (2003) konkluderede, at 84 % ovulerede indenfor 48 timer og 89 % af dem ovulerede mellem 24-48 timer. Patrick Mac Cue *et al.* (2004) nåede frem til at 78,4 % af alle hopper ovulerede indenfor 48 timer efter injektion i den første brunst i sæsonen. Gastal *et al.* (2006) viste, at den gennemsnitlige tid fra injektion til ovulation var 43,5 +/- 1 timer i 2500 IE gruppen, 44,0 +/- 1 timer i 1500 IE gruppen og 98,2 +/- 5,6 timer i kontrolgruppen. Dette medfør at 95,5 % af hopperne ovulerede indenfor 48 timer i behandlingsgruppen mod 7 % i kontrolgruppen.

**Tabel 1. Ovulationstidspunkter efter hCG behandling og kontrolgruppe**

Forsøg	År	Dosering IE	Behandlingsgruppe Antal hopper Antal cykler	Ovulation indenfor 48 timer i %	Kontrol gruppe Antal hopper	Ovulation indenfor 48 timer i %
Roser <i>et al.</i>	1979	2644	12 / 72	100	0	
Wilson <i>et al.</i>	1990	2500	14 / 98	75,5	16	40
Barbachini <i>et al.</i>	2000	2000	559 / 1040	91	0	
Blanchard <i>et al.</i>	2002	2500	11 / 11	91	0	
Samper <i>et al.</i>	2002	2500	12 / 12	83,3	0	
Morris <i>et al.</i>	2003	1500 (pony) 3000 (hest)	113 / 113	84	0	

Berezowski <i>et al.</i>	2004	2500	29 / 29	83	0	
Mc Cue <i>et al.</i>	2004	2500	797 / 1321	78,4	0	
Gastal <i>et al.</i>	2006	1500 (n=9) 2500 (n=9)	18 / 45	95,5	9	7
Niswender <i>et al.</i>	2006	2500	7 / 7	86	0	

Barbacini *et al.* (2000), fandt i et retrospektivt studie med 155 maidenhopper, 224 følhopper og 180 goldhopper, at goldhopper generelt svarede dårligere på hCG-behandling (ovulation indenfor 48 timer: maidenhopper 96 %, følhopper 92 % versus goldhopper 87 %) end maiden- og følhopper. Ligeså svarede ældre hopper (mere end 16 år) ikke lige så godt på hCG-behandling, som de yngre hopper (3-9 år 95 %, 10-16 år 90 % og >16 år 72 %). Dette viser at både reproduktionsstatus og alder kan have indflydelse på ovulationsdistributionen efter behandling. I den samme undersøgelse så man, at flere hopper ovulerede (21 %) indenfor 24 timer efter behandling i perioden maj-august sammenlignet med perioden fra februar-april (9 %), hvor de fleste ovulerede mellem 24-48 timer efter behandling (83 %). Dette forklares med, at der er en sæsonvariation. I et andet studie fandt Mac Cue *et al.* (2004), at der var forskel i ovulationstidspunkt mellem den første behandlingscyklus, hvor 16,8 % af hopperne ovulerede indenfor 24 timer, og den femte behandlingscyklus, hvor 26,7 % ovulerede indenfor det samme tidsinterval. Forfatterne mener at forklaring på dette er, at hopperne på det senere behandlingstidspunkt var behandlet med hCG flere gange.

Gastal *et al.* (2006) viser i deres undersøgelser, at folliklen stopper med at vokse umiddelbart efter injektion med Chorulon®vet, sammenlignet med folliklen hos kontrolgruppen. Dette medfører, at koncentrationen af estradiol falder hurtigere hos hCG behandlede hopper end hos ubehandlede hopper.

I flere studier er drægtighedsresultatet efter behandling med Chorulon®vet undersøgt. Roser *et al.* (1979), Wilson *et al.* (1990) og Samper *et al.* (2002), så ingen forskel i drægtighedsprocenten mellem behandlede og ubehandlede hopper. Sandersen *et al.* (1987) fandt ligeledes i deres forsøg med 2406 hopper ingen forskel i drægtighedsprocent i det første år, mens der i det efterfølgende år sås en drægtighedsprocent på 44,3 % i behandlingsgruppen mod 57,2 % i kontrolgruppen.

Der demonstreres uenighed i litteraturen om, hvorvidt der opstår antistofdannelse mod hCG efter brug af Chorulon®vet. I et tidligt studie af Sullivan *et al.* (1973) fandt man at effekten af ovulationsinduktion med hCG blev nedsat, når substansen blev brugt mere end to gange i den samme sæson. I 1990 dokumenterede Wilson *et al.* (1990) ligeledes en nedsat effekt af hCG, når det blev anvendt oftere end to gange i den samme sæson. Dog fandt de ingen korrelation mellem høj antistoftiter og forlænget ovulationstidspunkt efter behandlingen. I et studie med 797 hopper fandt Mac Cue *et al.* (2004) en dårligere effekt af hCG efter flere behandlinger i samme sæson. 85,1 % af hopperne ovulerede indenfor 48 timer i første brunstcyklus mod 73,4 % i femte brunstcyklus.

Derimod er andre forskere kommet frem til, at der ikke er forskel i effektiviteten af Chorulon®vet, efter flere på hinanden følgende behandlinger. Gastal *et al.* (2006) konkluderer således, at effekten af hCG på ovulationstidspunktet var identisk i tre på hinanden følgende brunstcykler. Det samme resultat viser Barbachini *et al.* (2000), der opnår en tilsvarende effekt af behandling i to på hinanden følgende brunstcykler.

Et forsøg af Roser *et al.* (1979) viste at 5 ud af 12 hopper havde en signifikant antistoftiter efter oprebede injektioner med hCG. Disse antistoffers halveringstid varierede fra 30 dage og op til flere måneder. På trods af dette ovulerede alle 12 hopper indenfor 48 timer efter behandling. De mener, at antistofferne kun påvirker en del af hCG molekylet, hvilket bevirker at den resterende del kan interagere med receptorer på ovariet. Dette kan tyde på, at antistofproduktionen funktionelt er uden signifikant betydning for ovulationen (Gastal *et al.* 2006). Roser *et al.* (1979) har således også fundet, at der ikke ses krydsreaktion *in vivo* mellem de antistoffer, der er dannet mod hCG og hoppers egen produktion af LH. Der ses derfor ingen interferens mellem hoppers egen normale ovulationsrespons i forhold til den naturligt senere LH top og behandling med hCG.

Anafylaktiske reaktioner efter gentagne reaktioner er anført som bivirkning i produktresumé for Chorulon®vet, Lægemiddelstyrelsen 2007.

I udlandet findes alternativer til hCG. For eksempel kan Ovuplant® (desorelin-acetat), som er en GnRH-analog (gonadotropin-releasing hormone) anvendes. Ovuplant markedsføres som et implantat og injiceres subkutant på det samme tidspunkt i brunstcyklus som Chorulon®vet. Ovuplant® er en lille peptid, der udskiller det aktive stof GnRH i en periode på 48 til 72 timer efter injektionen. I flere forsøg er de to præparaters effekt sammenlignet (Vandervall *et al.* 2001; Blanchard *et al.* 2002; Samper *et al.* 2002; Berezowski *et al.* 2004; Mac Cue *et al.* 2004; Kölling *et al.* 2005). Det er vist, at behandling med Ovuplant® giver et forlænget diøstrusinterval eller en forlænget anovulatorisk periode hos de behandlede hopper, hvis de ikke bliver drægtige. Dette skyldes en reduktion af hoppers egen produktion af GnRH fra hypofysen med suppression af follikeltilvækst til følge. Ifølge Mac Cue *et al.* (2004), kan denne ulempe undgås ved at fjerne implantatet et par dage efter injektionen. Denne negative effekt er ikke fundet i forbindelse med hCG behandling. Samper *et al.* (2002) har dog konkluderet, at behandling med Ovuplant® giver en større procentdel hopper, der ovulerer indenfor 48 timer. I Chorulon gruppen ovulerede 83,3 % indenfor 48 timer mens tallet var 100 % i Ovuplant gruppen. Omvendt blev der ikke fundet signifikant forskel i drægtighedsprocent mellem de to undersøgte præparater.

Et andet stof, der anvendes i udlandet, er ReLH (luteinizing hormone), som er en syntetisk form af LH. Både ReLH og Chorulon® vet synes at give ensartede resultater vedrørende ovulationstidspunkter (Niswender *et al.* 2006).

## **Problemstilling**

I litteraturen er der generel enighed om, at der er effekt af at bruge ovulationsinduktion i reproduktionsarbejdet. Der findes kun få studier, hvori det undersøges, hvorvidt antallet af insemineringer/ brunst kan reduceres ved brug af Chorulon®vet sammenlignet med ubehandlede hopper.

Det forventes i henhold til litteraturen, at ovulationsinduktion medfører ovulation indenfor 48 h hos 78-100 % af hopperne, når folliklen er mellem 35 mm og 40 mm, og når ødem er til stede i livmoderslimhinden på tidspunktet for behandlingen. Det antages i lyset heraf, at behandlingen øger antallet af ovulationer indenfor 2 døgn i forhold til kontrolgruppen, og da der må være ligefrem proportionel sammenhæng mellem antal dage til ovulation og antallet af insemineringsdoser, vil denne øgning medføre, at antallet af insemineringsdoser i behandlingsgruppen mindskes i forhold til kontrolgruppen. Videre forventes det, med henvisning til litteraturen, at der ikke er forskel på drægtighedsprocenten mellem den behandlede gruppe og kontrolgruppen.

Formålet med forsøget er derfor at teste følgende hypoteser:

- 1: Ovulationsinduktion med Churolon®vet vil øge antallet af hopper, der kun behøver en dosis sæd til insemination per brunst.
- 2: Drægtighedsprocenten påvirkes ikke ved brug af Chorulon®vet.

## **Materiale og metoder**

Forsøgsmaterialet består af hopper i reproduktionssæsonerne 2006 og 2007. Hopper, der opfyldte inklusionskriterierne, blev inkluderet i forsøget efterhånden som de ankom til klinikken. Allokeringen blev foretaget ved at hver anden hoppe, der ved ankomst havde moderat ødem i livmoderslimhinden og en follikel, som målte mellem 35 og 40 mm i diameter, blev placeret i gruppe A og hver anden hoppe i gruppe B indtil der var 50 hopper i hver gruppe. Hopperne blev ultralydsscannet en gang per døgn. Rutine Caslick operationer udførtes efter behov. Hopperne i gruppe A blev straks efter inklusionen behandlet med 3000 IE Chorulon®vet i.m, og efterfølgende insemineret med kølesæd hver anden dag, indtil ovulation fandt sted. Hopperne i gruppe B blev ikke behandlet med Chorulon®vet, og indgik i forsøgets kontrolgruppe. Efter inklusionen insemineredes ligeledes disse hopper med kølesæd hver anden dag, indtil ovulation fandt sted. En hoppe der placeredes i gruppe A blev ikke, hvis ikke drægtig, placeret i gruppe B og vice versa.

Alle insemineringer blev udført på den samme klinik under de samme forhold i perioden maj – august i 2006 og 2007. Hopperne blev drægtighedsundersøgt ved hjælp af ultralydsscanning med en 5 MHz probe på 15-17:e dagen efter ovulation.

### Dataindsamling

Udover at halvdelen af hopperne blev behandlet med Chorulon®vet som var den uafhængige variable i forsøget, blev følgende parametre (de afhængige variable) registreret for alle 100 hopper: 1: Antal dage til ovulation, 2: antal sæddoser anvendt til insemination og 3: drægtighedsstatus, hvor tallet 0 angav et negativt resultat og tallet 1 angav drægtighed. For at muliggøre statistiske analyser, der kunne bekræfte eller forkaste den første hypotese blev antal sæddoser desuden oversat til en binær parameter med værdien 1 for hopper, som blev insemineret med en enkelt dosis sæd, og værdien 2 for hopper som blev insemineret med 2 doser eller flere end 2 doser.

### Eksklusionskriterier

For at sikre at hingstens fertilitet ikke interfererede med drægtighedsresultatet, blev de hopper, der skulle insemineres med sperma, som havde en lavere progressiv motilitet end 50 % ved inseminationen, ekskluderet. Hopper der var over 16 år ved ankomst til klinikken blev ikke inddraget i forsøget på grund af dokumenteret nedsat effekt af hCG (Barbacini *et al.* 2000).

Ligeledes blev de hopper der ved ankomst havde fri væske i uterus ekskluderet.

### Statistisk analyse

Der blev foretaget statistisk analyse af, om der fandtes sammenhæng mellem antal dage til ovulation og antal sæddoser, og for om behandling med Chorulon®vet havde indflydelse på hvor stor en del af hopperne der kun behøvede insemination med en enkelt dosis sæd, samt på drægtighedsprocenten. Da ingen af de indsamlede data var kontinuerte, og dermed heller ikke normalfordelte, blev alle statistiske analyser foretaget med non-parametriske tests. Sammenhæng mellem antal dage til ovulation og antal inseminationsdoser blev undersøgt ved hjælp af Spearman Rank Order Correlation test.

Chorulonbehandlingens indflydelse på de parametre, der blev registreret som binære data (kun en dosis og drægtighed) blev analyseret med to-sidet Fishers Exact test. Alle statistiske analyser blev foretaget med computerprogrammet Statistica, version 8,0, og p-værdien 0,05 blev anvendt som cut-off.

### **Resultater**

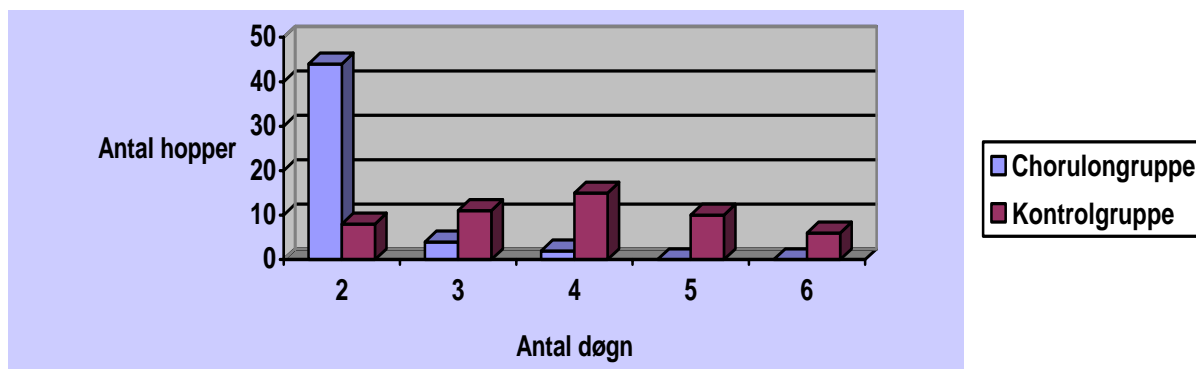
De 100 hopper, der deltog i forsøget, fordelte sig med 40 hopper fra sæsonen 2006 og 60 hopper fra 2007. Der var hopper fra Dansk Varmblod, Oldenborg og Trakhener repræsenteret. Der blev inkluderet det samme antal af maiden- (n=11), gold- (n=19) og lakterende (n=20) hopper i hver gruppe. Hopperne var mellem 3 år og 16 år. Gennemsnitsalderen for hopperne i gruppe A var 9 år og i gruppe B var 10 år. En enkelt hoppe fra gruppe A blev ekskluderet, fordi den skulle insemineres med hingstesperma, som havde en lavere progressiv motilitet end 50 %, og den næst ankomne hoppe, der opfyldte inklusionskriterierne, blev inkluderet i gruppe A i stedet. En samlet oversigt over resultatet af forsøget ses i tabel 2.

**Tabel 2. Oversigt over resultater: Gennemsnitligt tidsinterval fra inklusion til ovulation, antal doser/brunst samt drægtighedsprocent hos hopper behandlet med Chorulon®vet sammenlignet med en ubehandlet kontrolgruppe.**

Gruppe	Gennemsnitligt interval fra inklusion til ovulation. Antal døgn	Gennemsnitligt antal inseminationsdoser per brunst	Antal hopper der kun modtog en dosis sæd	Procent drægtige
Chorulon	2,1	1,16	43	76
Kontrol	3,9	2,02	13	74

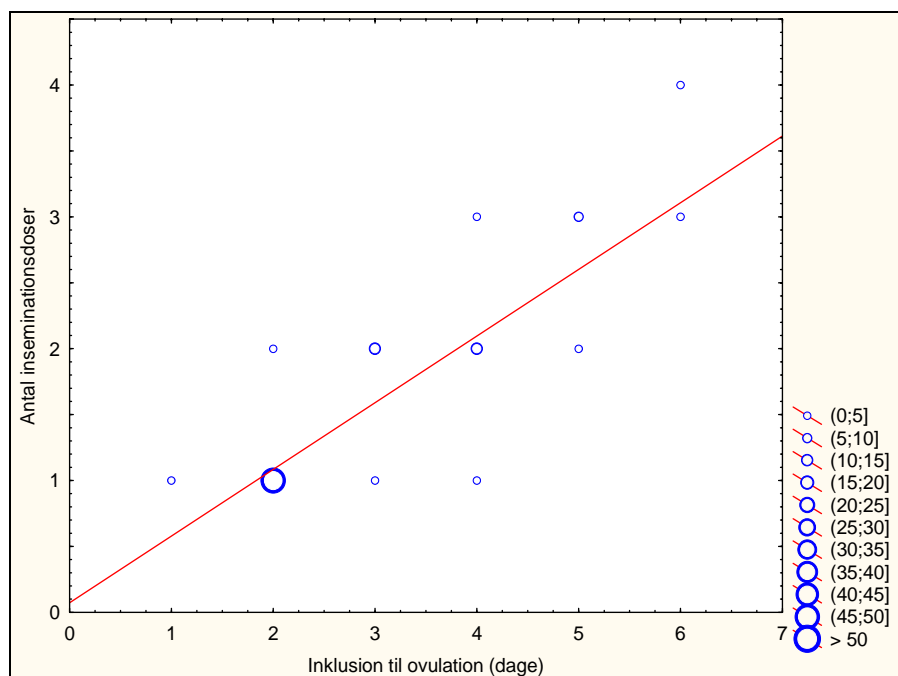


Ovulationsdistributionen er vist i figur 1. I Chorulongruppen ovulerede 88 % (44/50) indenfor 48 timer, mens dette kun var tilfældet for 16 % (8/50) i kontrolgruppen. Chorulongruppen ovulerede i gennemsnit efter 2,1 døgn mod 3,9 døgn for kontrolgruppen. I forsøget blev det fundet at flere hopper ovulerede indenfor 24 timer efter inklusionen i juli-august måned sammenlignet med perioden maj-juni, og at der ingen forskel var mellem grupperne.



**Figur 1. Distribution af ovulationstidspunktet efter behandling med Chorulon®vet og hos ubehandlede hopper.**

Antallet af insemineringsdoser der blev anvendt var 58 doser (mean 1,16) i behandlingsgruppen mod 101 (mean 2,02) doser i kontrolgruppen. Der var en statistisk sikker korrelation mellem antal dage til ovulation og antal anvendte doser med en korrelationsfaktor på 0,8901. Sammenhængen er illustreret i figur 2.



**Figur 2: Sammenhæng mellem antal dage til ovulation og det anvendte antal inseminationsdoser uafhængigt af Chorulonbehandling. Markeringens størrelse på figuren afspejler det antal observationer (hopper), der ligger bag det enkelte punkt.**

Blandt de Chorulonbehandlede hopper blev 43 (86 %) insemineret med en enkelt dosis sæd, mens dette kun var tilfældet hos 13 (26 %) af hopperne i kontrolgruppen (se tabel 3). Denne forskel var statistisk meget signifikant med en p-værdi  $< 0,0001$  ved to-sidet Fishers Exact test.

**Tabel 3: Antal hopper insemineret med 1 dosis sæd per brunst sammenholdt med behandlingsgruppe (Chorulonbehandlet eller ubehandlet kontrol).**

Sæddoser	Chorulon	Kontrol	Total
1 dosis	43	13	56
> 1 dosis	7	37	44
Total	50	50	100

Drægtighedsresultatet var 38 (76 %) drægtige i behandlingsgruppen mod 37 (74 %) drægtige i kontrolgruppen (se tabel 4). En sammenligning af resultatet i de to grupper med Fishers Exact test viste, at der ikke var signifikant forskel ( $p=1,0000$ ).

**Tabel 4: Antal drægtige blandt hopper behandlet med Chorulon og ubehandlede kontrolhopper.**

Drægtig	Chorulon	Kontrol	Total
Ja	38	37	75
Nej	12	13	25
Total	50	50	100

Forfatteren oplevede at hopperne viste ubehag ved injektionen. Produktet gav tilsyneladende en svien på halsen under injektionen. Denne var dog forbigående.

## Diskussion

Forsøget viser, at 88 % af hopperne i gruppe A ovulerede indenfor 48 timer. Det tal ligger i den høje ende sammenlignet med andre forsøg. I kontrolgruppen var der 16 % der ovulerede indenfor 48 timer. I forsøg udført af Wilson *et al.* (1990) ovulerede 40 % i kontrolgruppen indenfor den samme periode, mens Gestal *et al.* (2006) senere har fundet at kun 7 % af kontrolhopperne ovulerede indenfor 48 timer.

I mit forsøg observeredes, at flere hopper i behandlingsgruppen ovulerede indenfor 24 timer i slutningen af sæsonen. Dette skyldes ifølge Barbacini *et al.* (2000) en sæsonvariation, som resulterer i en tidligere LH-peak, og er i mindre omfang et resultat af behandling med Chorulon®vet. Det synes derfor vigtigt at være opmærksom på dette forhold, når der skal bestilles sæd i slutningen af sæsonen.

Det er yderligere værd at bemærke, at der var forskel i det antal insemineringsdoser som der var behov for i de to grupper. Dette viser, at det er sværere at forudse ovulationstidspunkt, hvis hopperne ikke ovulationsinduceres. Der er mange fordele ved at mindske antallet af insemineringsdoser hos populære avlshingste, og at undgå at inseminere problemhopper for mange gange. I modsætning til dette studie fandt Wilson *et al.* (1990) i deres studie ingen forskel i antallet af insemineringsdoser i de to grupper. Det skal dog bemærkes, at antallet af hopper der blev insemineret i kontrolgruppen af Wilson *et al.*, kun bestod af 6.

Drægtighedsprocenten i ovenstående forsøg er den samme i begge grupper. Den kan dog være svær at drage nogle konklusioner udefra, da et flertal forskellige hingste er blevet brugt. Roser *et al.* (1978), Wilson *et al.* (1990) og Samper *et al.* (2002) fandt heller ingen forskel i drægtighedsprocenten og konkluderede derfor, at brugen af hCG i reproduktionsarbejdet ikke giver nedsat drægtighed.

Hopperne reagerede, som tidligere nævnt, med ubehag under og umiddelbart efter injektionen. Der er ikke anført oplysninger om svien i Produktresumé for Chorulon®vet (Lægemiddelstyrelsen, 2007), men anførte irritationsreaktion er et forhold, som man bør være opmærksom på.

I litteraturen ses der ingen forskel i effekten af ovulationsinduktion ved doseringer på 1500 IE respektive 3000 IE. Det kan overvejes om ikke 1500 IE er en tilstrækkelig dosering til små racer, mens 3000 IE bruges til større racer (Morris *et al.* 2003). I produktresumeeet er dosisintervallet bemærkelsesværdigt ikke relateret til vægt eller lignende.

Det er vigtigt at kombinere follikelstørrelse ( $\geq 35$  mm) med ydre og indre brunsttegn, når injektionstidspunktet bestemmes. Forklaringen på dette er, at større hesteracer tenderer at ovulere større follikler end mindre racer gør. Derimod mindskes risikoen for at behandle en hoppe, der ikke er i brunst, hvis begge kriterier anvendes systematisk (Samper *et al.* 2002).

I forbindelse med ovulationsinduktion af hopper kan man diskutere det etiske aspekt i at bruge hormonbehandling, idet man jo derved griber ind i hoppens naturlige hormonbalance og reproduktionscyklus. Forfatteren mener, at det etiske aspekt kan opvejes af de store praktiske og økonomiske fordele der er forbundet med anvendelse af Chorulon®vet. I litteraturen foreligger ikke diskussion af det etiske aspekt, hvilket kan bero på, at den overvejende forskning foregår i lande, hvor det er mere almindeligt at bruge hormoner i forskellige sammenhæng.

Diskussionen vedrørende hCG inaktivering af antistoffer bør ikke tillægges større betydning hvis hopperne ikke ovulationsinduceres i mere end tre på hinanden følgende brunstcykler. Gastal *et al.* (2006) viser at effektiviteten af hCG på ovulationstidspunktet var identisk i tre på hinanden følgende brunstcykler. Barbacini *et al.* (2000) har ligeledes vist i et forsøg med 559 hopper og 1040 brunstcykler, at der kun var 9 % af brunsterne som ikke resulterede i ovulation indenfor 48 timer. Det er muligt, at effektiviteten af hCG behandling falder, hvis den bliver brugt i flere på hinanden følgende brunstperioder (Mac Cue *et al.* 2004), men det er ikke vist, at brugen af hCG negativt interfererer med ovulation eller befrugtning i ovenstående anbefalede doseringer. Barbacini *et al.* (2000) fandt at goldhopper og ældre hopper ikke svarede lige så godt på behandling som maiden-, følhopper og yngre hopper. Dette skyldes formentlig, at disse hopper har hormonelle problemer i forvejen, og at der følgelig ikke var tale om antistofproduktion. Disse hopper blev nemlig ovulationsinduceret færre gange end de øvrige grupper.

## **Konklusion**

I forsøget ovulerede 88 % af hopperne i behandlingsgruppen indenfor 48 timer, hvorimod kun 16 % af de ubehandlede hopper ovulerede indenfor samme tidsperiode. Der var en signifikant forøgelse af det antal hopper, der kunne nøjes med en enkelt inseminationsdosis, og antallet af insemineringsdoser kan derved mindskes markant, når Chorulon®vet bruges i reproduktionsarbejdet. Endelig blev det vist, at drægtighedsprocenten ikke blev påvirket af en behandling med Chorulon® vet.

Forsøget viser således, at Chorulon®vet. er et betydningsfuldt redskab for reproduktionsdyrlægen, frem for alt i start- og midsæsonen, da produktet tydeligvis har vist sig effektivt til at styre ovulationstidspunktet. Denne egenskab giver en ønskværdig effektivisering i reproduktionsarbejdet, og gavner herved hingsteholdere, dyrlæger og hopper.

## **Perspektivering**

Det kunne være interessant, at følge de samme hopper i flere brunstcykler og sammenligne med en tilsvarende kontrolgruppe, for herved at undersøge om der er en eventuel nedsat effekt over tid efter gentagne behandlinger. En sådan undersøgelse har det ikke været muligt at gennemføre for nærværende.

## **Referenceliste**

Barbacini S., Zavaglia G., Gulden P. Marchi V., Necci D. Retrospective study on the efficacy of hCG in equine artificial insemination program using frozen semen. *Equine Veterinary Education*. 2000; v. 2 side 404-411.

Berezowski, C.J., Stitch, K.L., Wendt, K.M., Vest, D.J. Clinical Comparison of 3 Products Available to Hasten Ovulation in Cyclical Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2004; v. 24, nr. 6, side 231-233.

Blanchard, T.L., Brinsko, S.P., Rigby, S.L. Effects of deslorelin or hCG administration on reproductive performance in first postpartum estrus mares. *Theriogenology*. 2002; v. 58, nr. 1, side 165-169.

Evans, M.J., Gastal, E.L., Silva, L.A., Gastal, M.O., Kitson, N.E., Alexander, S.L., Irvine, C.H.G. Plasma LH concentrations after administration of human chorionic gonadotropin to estrous mares. *Animal Reproduction Science*. 2006; v. 94, side 191-194.

Gastal, M.O., Gastal, E.L., Ginther, O.J. Effects of hCG on characteristics of the wall of the developing preovulatory follicle evaluated by B-mode and color Doppler ultrasonography and interrelationships with systemic estradiol concentrations in mares. *Animal Reproduction Science*. 2006; v. 94, side 195-198

Gastal, E.L., Silva, L.A., Gastal, M.O., Evans, M.J. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. *Animal Reproduction Science*. 2006; 2006; v. 94, side 186-190.

Grimmett, J.B., Perkins, N.R. Human chorionic gonadotropin (hCG): the effect of dose on ovulation and pregnancy rate in Thoroughbred mares experiencing their first ovulation of the breeding season. *New Zealand Veterinary Journal*. 2001; v. 49, nr 3, side 88-93.

Kölling, M., Allen, W.R. Ovulation induction for embryo transfer: hCG versus GnRH analogue. *Havemeyer Foundation Monograph Series*. 2006; v. 18, Side 54-55.

Lægemiddelstyrelsen. Produktresumé for Chorulon®Vet., pulver og solvens til injektionsvæske, opløsning. 2. april 2007.

Mc Cue P.M., Hudson J.J., Bruemme J.E. and Squires E.L. Efficacy of hCG at inducing ovulation, a new look at an old issue. *Proceedings of American Association of Equine Practitioners*. 2004; Vol.50, side 510-513.

Morris, L.H.A., Tiplady, C., Allen, W.R. Pregnancy rates in mares after a single fixed time hysteroscopic insemination of low numbers of frozen-thawed spermatozoa onto the uterotubal junction. *Equine Veterinary Journal*. 2003; v.35, nr 2, side 197-2002.

Niswender, K. Inducing ovulation with recombinant equine luteinizing hormone. 52<sup>nd</sup> annual American Association of Equine Practitioners Convention 2006 Dec. 2-6, San Antonio, Texas.

Roser J.F., Kiefer B.L., Evans J.W., Neely D.P., Pacheco C.A. The development of antibodies to human chorionic gonadotropin following its repeated injection in the cyclic mare. *Journal of Reproductive Fertility*. Suppl. 1979; v. 27, side 173-179.

Samper, J.C., Jensen, S., Sergeant, J., Estrada, A. Timing of induction of ovulation in mares treated with Ovuplant or Chorulon. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2002; v. 22, nr. 7, side 320-324.

Sandersen, M.W., Allen, W.R. Reproductive efficiency of thoroughbred mares in the United Kingdom. The mare and the foal : *Proceedings of the 9. Bain-Fallon Memorial Lectures*. 1987, Sydney / presented by the Australian Equine Veterinary Association. Artarmon Australian Equine Veterinary Association cop. 1987; Side 31-41.

Sullivan J.J., Parker, W.G., Larson, L.L. Duration of estrous and ovulation time in non-lactating mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrous periods. *Journal of American Veterinary Medicine*. Associations. 1973; v. 162, side 895-898.

Vanderwall, D.K., Juergens, T.D., Woods, G.L. Reproductive performance of commercial broodmares after induction of ovulation with hCG or Ovuplant® (Deslorelin). *Journal of Equine Veterinary Science*. 2001; v. 21, nr 11, side 539-542.

Wilson C.G., Downie C.R., Hughes J.P et al. Effect of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1990; v. 10, side 301-308.

Woods J., Bergfelt D.R., Ginther O.J. Effect of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss in mares. Equine Veterinary Journal 1990; v. 22 side 410-415.

### **Akkreditiver**

Tak til Intervet Danmark A/S for sponsorering af Chorulon®vet.

Tak til Hanne Bak, DVM, PhD, for hjælp til den statistiske del af opgaven samt tak til Annette Bonde Larsen, DVM.