Fertiliteitsbegeleiding van de Friese merrie.

Onderzoeksstage verslag
Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde,
Universiteitskliniek Paard, Nederland, 2013
Presentatiedatum 23-05-2013

Drs. A.E.M. van Schaik
0148547

Universiteit Utrecht

Onderzoeksbegeleider:
Dr. M. de Ruijter-Villani
Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde,
Universiteitskliniek Paard, Departement Voortplanting

Bronnen foto's voorblad.

-grote foto: foto's verkregen via Mw. J. Pijper, te Hagestein; Friezen van stal van mw. J. de Pijper.

-2 kleine foto's in het midden: foto's verkregen via Mw. J. Pijper, te Hagestein; Friezen van stal van mw. J. de Pijper.

-Links en rechts onder: Echobeelden van de Ultrasound scanner van Esaote ®. Een Mylabfive Vet, endorectale probe; lineair array, 7,5mHZ. Gemaakt op 18-05-2013, Universiteit Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteitskliniek Paard, Afdeling Voortplanting, Nederland 2013.

Inhoud

1. Samenvatting 4
2. Inleiding 5
3. Materiaal en methoden 6
   3.1 Dataverzameling algemeen 6
   3.2 Data 6
   3.2.a Referentie waarden follikelgrootte 7
   3.2.b Referentie waarden uterusoedeem 7
   3.2.c Referentie waarden interval tussen hengstig spuiten en ovuleren 7
   3.3.a Follikelgrootte Friezen 8
   3.3.b Uterusoedeem Friezen 9
   3.3.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren 10
4. Resultaten 11
   4.1.a Follikelgrootte Friezen 11
   4.1.b Uterusoedeem bij de Friezen 12
   4.1.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren Friezen 16
5. Discussie 17
   5.1.a Referentie waarden Follikelgrootte 17
   5.1.b Follikelgrootte Friezen 17
   5.2.a Referentie waarden Uterusoedeem 18
   5.2.b Uterusoedeem Friezen 18
   5.3.a Referentie waarden interval tussen hengstig spuiten en ovuleren 19
   5.3.b Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren Friezen 19
6. Conclusie 20
   6.1.a Follikelgrootte Friezen 20
   6.1.b Uterusoedeem Friezen 20
   6.1.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren 21
7. Dankwoord 22
8. References 23

1. Samenvatting

De praktijkervaringen kunnen gedeeltelijk onderbouwd worden door de resultaten van dit onderzoek. De parameters in de fertiliteitsbegeleiding van de Friese merriezijn in deze opzet onafhankelijk van elkaar bekeken en beoordeeld. De follikelgrootte waarbij, bij een hCG gift een ovulatie in 36-48 uur verwacht kan worden is bij de Friese merrie ≥43,9mm in doorsnede, ten op zichtte van de ≥35mm bij de KWPN- en Engelse volbloed merries. Qua follikelgrootte heeft de Friese merrie in het verloop van de cyclus, een afwijkende parameter. Ook het uterus oedeem vertoont een ander verloop bij de Friese merrie dan het verloop bij de KWPN- en Engelse volbloed merries. Het vertoont een plateaufase tussen dag -6 en dag-2 en geen piek op dag -3, zoals bij de KWPN- en Engelse volbloed merries, dan wel op een andere dag. Aanwezigheid van 'veel oedeem' kan bij een Friese merrie zowel in het begin als in het eind van het plateau zitten. De lengte van het interval tussen hengstig spuiten en ovuleren bij Friezen kwam uit dit onderzoek op 8 dagen uit. Deze 8 dagen vallen binnen het referentiekader van 7-12 dagen bij de KWPN- en Engelse volbloed merries. Deze parameter is in dit opzicht niet afwijkend van de parameter van de KWPN- en Engelse volbloed merries. De marge bij de KWPN- en Engelse volbloed merries is in deze opzet erg ruim ten opzichte van de uitkomst bij de Friezen in deze pilotstudy. Tevens is in dit onderzoek een PGF2a analoog gift altijd als 'hengstig spuiten' geïnterpreteerd en daarmee als het begin van een interval tussen hengstig spuiten en ovuleren. In werkelijkheid is een PGF2a analoog gift ook voor andere doeleinden ingezet. Voor een juiste vergelijking is verder onderzoek nodig.

2. Inleiding

Fertiliteitsmanagement wordt in de huidige paardenwereld veelvoudig toegepast. Als basis voor deze begeleiding wordt veelal de veel onderzochte kennis over KWPNers en Engels volbloed merries gebruikt. De Friese merrie lijkt in haar cyclus echter afwijkende parameters t.o.v. de warm- en volbloeden te vertonen. Deze, ras specifiek lijkende, informatie komt voort uit de jarenlange ervaring met Friese paarden in Nederland. Hiervan wordt in Nederland ook volop gebruik gemaakt in de praktijk. Zo doet de praktijkervaring o.a. vermoeden dat Friezen bij een groter follikel dan de KWPNers en Engels volbloed merries ovuleren. Doordat in het buitenland, o.a. de Verenigde Staten, deze informatie vermoedelijk niet of minder wordt gebruikt bij de begeleiding van Friese merries, komen hier relatief meer problemen voor in de fertiliteitsbegeleiding. Niet drachtig raken na inseminatie en het voorkomen van complicaties zoals pyometra's verlagen het succes van de fertiliteitsbegeleiding ten opzichten van dat in Nederland.
Momenteel is er op het gebied van fertiliteitsmanagement bij de Friese merrie nog weinig wetenschappelijk onderzoek gedaan. Men baseert de kennis over Friezen op de aanwezige praktijkervaring.

Doelstellingen
In dit onderzoek is er sprake van een pilotstudy met als doel de fertiliteitsbegeleiding van de Friese merrie nauwkeurig in kaart te brengen en uit te zoeken of er een basis is voor een uitgebreid wetenschappelijk onderzoek met betrekking tot afwijkende parameters in het verloop van de cyclus van de Friese merrie t.o.v. warmbloed en Engelse volbloed merries.

Onderzoeksvragen
- Kunnen praktijkervaringen d.m.v. wetenschappelijk onderzoek onderbouwd en ondersteund worden(Stout,)?
- Zijn de parameters: follikelgrootte, uterusoedeem en interval tussen hengstig spuiten en ovuleren van de merrie, in de cyclus van de Friese merrie afwijkend t.o.v. warmbloed en Engelse volbloed merries?

3. Materiaal en methoden

3.1 Dataverzameling algemeen

In deze opstelling is er sprake van een retrospectief onderzoek. De hierbij gebruikte gegevens zijn verzameld met het oog op fertiliteitsbegeleiding door de afdeling voorplanting, van de Universiteitskliniek Paard, te Utrecht. Deze gegevens komen voort uit de merriekaarten van 91 Friese merries, die voor fertiliteitsbegeleiding, gedurende de periode 2003-2008, langs kwamen op de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht in Utrecht, te Nederland.
Deze groep merries bestaat uit merries geboren tussen 1984-2004, zijn tussen de 3-29 jaar en zijn afkomstig van verschillende eigenaren en stallen.
De data voortkomend uit de fertiliteitsbegeleiding van deze merries, is verwerkt in de merriekaarten en deze zijn opgeslagen in Vetware ®, het 'Practice Management Software' systeem voor veterinairen/dierenartsen**.** In oorsprong is de groep paarden die hier gebruikt is dus niet voor onderzoeksdoeleinden opgesteld, en ook niet als zodanig behandeld. Hierdoor zijn de omgevingsfactoren van de paarden en de redenen waarom zij naar de kliniek komen niet homogeen en zijn er niet van elke cyclus evenveel data bekend.

3.2 Data

De follikelgrootte en de mate van oedeem zijn door middel van rectale exploratie in beeld gebracht met behulp van een Ultrasound scanner van Esaote ®. Een Mylabfive Vet, met een endorectale probe; lineair array, 7,5mHZ. De gevonden waarden zijn gemeten en geïnterpreteerd door verschillende specialisten of specialisten in opleiding, allen op het gebied van voortplanting paard.

Ter verwerking van de data uit Vetware ® zijn de programma's Microsoft Excel 2010 en SPSS 20 gebruikt.
De data, verkregen uit de merriekaarten van de deelnemende Friese paarden, omvat 292 cycli en gegevens betreffende de follikelgrootte, de mate van uterus oedeem en de tijdsduur verstreken tussen het moment van hengstig spuiten en ovuleren van de merrie.
Dit zijn tevens parameters die voor de fertiliteitsbegeleiding worden gebruikt. In dit onderzoek is de informatie betreffende follikelgrootte van dag -8 tot aan de ovulatie verwerkt en de mate van uterus oedeem van dag -8 tot en met de dag van de ovulatie (Ginther, 1992).
Bij de data betreffende het hengstig spuiten wordt er vanuit de ovulatie terug geteld in dagen tot de PGF2α analoog gift. In dit onderzoek wordt de PGF2α analoog gift verwerkt als het moment van hengstig spuiten. Het aantal dagen tussen de PGF2a analoog gift en de erop volgende ovulatie, is hier de lengte van 'het interval tussen hengstig spuiten en ovuleren'.

Binnen de 292 cycli van de 91 merries kunnen verschillende groepen worden onderscheiden.
In veel van de gevallen wordt er bij de merries, die in de begeleiding bij de Universiteitskliniek Paard zijn, hCG(Chorulon®, 1500IE) gebruikt om een aanwezig dominant follikel eerder te laten ovuleren. De reactie op de hCG gift is afhankelijk van het moment van toediening en de af- dan wel aanwezigheid van antilichamen ertegen. De mogelijke invloed van antilichamen op het effect van hCG is in deze pilotstudy niet mee genomen in de verwerking.
Omdat tijdens de fertiliteitsbegeleiding bij de Universiteitskliniek Paard regelmatig gebruik wordt gemaakt van hCG, bestaat de grootste groep uit cycli waarbij merries met hCG behandeld zijn (176/292).

Hierbinnen kunnen weer verschillende groepen worden onderscheiden.

- De belangrijkste groep is de groep waarbij de hCG gift op het juiste moment gegeven is en waarbij ze naar verwachting hebben gereageerd met een ovulatie na 48 uur.
- De groep die of op een ander moment hCG heeft gekregen, te vroeg of te laat. Bij deze groep heeft de ovulatie al binnen 24 uur plaats gevonden of pas na meer dan 48 uur na de hCG gift en
- de groep die überhaupt niet zal reageren op hCG omdat ze hier antilichamen tegen hebben, maar deze kan en wordt in dit onderzoek niet als aparte groep onderscheiden.

Hiernaast is er nog de groep cycli te onderscheiden, met merries die niet behandeld zijn met hCG.

3.2.a Referentie waarden follikelgrootte

Het betreft hier een grenswaarde, in millimeters, van de doorsnede van de follikelgrootte. Deze waarde geeft een verwachting van een follikelgrootte waarbij, bij een hCG gift, in 36-48 uur een ovulatie verwacht kan worden.
Als grens bij Engelse volbloed paarden en KWPN'ers, kan deze follikelgrootte van ≥ 35mm doorsnede, van een dominant follikel, worden aangehouden. Deze waarde kan niet als een geheel losstaande grenswaarde worden gezien, want ook de mate van uterus oedeem en de fase in de cyclus waarin de merrie zich bevindt spelen een grote rol.
Samengevat moet de merrie in oestrus zijn, uterus oedeem vertonen en er een dominant follikel met een diameter van ≥35mm aanwezig zijn. Als dit het geval is kan er bij een hCG(Chorulon®, 1500IE) gift in 36-48 uur een ovulatie worden verwacht (Aurich, 2011; Brinsko, Blanchard, Varner, Schumacher, Love, Hinrichs, & Hartman, 2011b; Stout,).

3.2.b Referentie waarden uterusoedeem

Er wordt een stijging in het gemiddelde uterusoedeem waargenomen vanaf dag 8, dag 7 voor de ovulatie, die een maximum bereikt op dag –3('de piek'). Vanaf dag -2 tot moment van ovuleren daalt de mate van aanwezig uterusoedeem weer. Niet bij elke merrie dan wel elke cyclus wordt de maximale mate aan oedeem gehaald (Hayes, Pierson, Scraba, & Ginther, 1985; J. C. Samper, 1997; J. C. Samper, 2009b; J. C. Samper, 2009b; Stout,).

3.2.c Referentie waarden interval tussen hengstig spuiten en ovuleren

Bij een merrie in dioestrus is bekend dat het interval, van behandeling met PGF2α-analoog tot het aantreden van de oestrus, 2-4 dagen bevat en het interval van behandeling tot ovulatie (7-12) dagen (de 10 dagen vuistregel uit de praktijk). De diameter en status van de aanwezige follikels ten tijde van de PGF2α behandeling, kunnen de duur van het interval beïnvloeden. Hierdoor kan het interval 'PGF2α-analoog behandeling tot ovulatie' variëren tussen de 48 uur en 12 dagen.
Als referentiewaarde voor het interval tussen hengstig spuiten en ovuleren van de merrie, wordt in dit onderzoek 7-12 dagen aangehouden (Brinsko, Blanchard, Varner, Schumacher, Love, Hinrichs, & Hartman, 2011a; Brinsko, Blanchard, Varner, Schumacher, Love, Hinrichs, & Hartman, 2011a; J. C. Samper, 2008).

3.3.a Follikelgrootte Friezen

De follikelgrootte wordt in dit verslag weergegeven in millimeters. Dit getal in millimeters geeft de gemiddelde doorsnede van het gemeten, dominante follikel weer. Deze is berekend aan de hand van de grootte van de lengte en breedte assen zoals verwerkt in de patiëntenkaarten in Vetware® en afgerond op één decimaal.

Van de 8 dagen vooraf gaande aan de ovulatie zijn de aanwezige data betreffende follikelgroottes gebruikt. Niet bij elke cyclus zijn er voor elke dag data beschikbaar. Op sommige dagen is er niet gemeten, op andere dagen vonden er meerdere meetmomenten plaats. Bij meerdere meetmomenten per dag, is de data van het eerste meetmoment van de dag gebruikt. Er is hiervoor gekozen om dat dit moment overeenkomt met het moment waarop de andere merries bekeken worden die één maal daags bekeken werden.

Bij het selecteren van de data zijn, bij dit onderdeel, de cycli met dubbele ovulaties buiten beschouwing gelaten, daar deze over het algemeen bij een kleiner follikelgrootte ovuleren (Ginther, Gastal, Rodrigues, Gastal, & Beg, 2008).

Binnen het totale aantal aan cycli met enkelvoudige ovulaties zijn de boven omschreven groepen te onderscheiden.
Groep 1(N=110 cycli), de cycli waarbij, 2 dagen voor de ovulatie, de merrie met hCG behandeld is, en de reactie op hCG naar verwachting verlopen is(hCG op het juiste moment gegeven en in 36-48uur gereageerd).
Groep 2(N=105cycli), de cycli waarbij niet op 48 uur na de hCG gift een ovulatie heeft plaatsgevonden. Dit kan zijn omdat er geen hCG gift was, dan wel eerder of later dan 48 uur na de hCG gift een ovulatie plaats vond.

Binnen groep 2 kunnen dan weer 2 groepen worden onderscheiden.

a. (N=16 cycli) De groep cycli waarbij de merries meer dan 2 dagen voor ovulatie met hCG behandeld zijn, deze groep is te vroeg geïnduceerd en de merries ovuleren uiteindelijk op hun eigen LH piek en bij een follikelgrootte die niet beïnvloed is door de hCG gift.

Deze groep lijkt een groot deel van de Friese merries in de fertiliteitsbegeleiding in het buitenland te vertegenwoordigen, waarbij de begeleiding niet naar wens verloopt.

b. De groep cycli waarbij de merries niet behandeld zijn met hCG en de merries die 1 dag voor de ovulatie met hCG behandeld zijn. De laatste groep is te laat geïnduceerd en beiden groepen gaan uiteindelijk op hun eigen LH piek en ovuleren bij een follikelgrootte die niet beïnvloed is door hCG gift.

Van alle merries waarvan de data hier gebruikt zijn, bestaat nog de mogelijkheid dat de hCG geen invloed zal hebben gehad op de follikelgrootte door de vorming van antilichamen tegen de hCG. Deze cycli zijn in dit onderzoek niet te onderscheiden in een aparte groep (Stout,).

3.3.b Uterusoedeem Friezen

De mate van oedeem wordt door de specialisten ‘gescoord’ in categorieën op basis van echodensiteit en aan- of afwezigheid van het karakteristieke patroon; het wagenwiel(J. C. Samper, 2009a). Hiervoor worden numerieke waarden gebruikt. In dit onderzoek zijn de waarden 0, 1, 2 en 3 gebruikt, Bij waarneming van zowel ‘veel’ als ‘heel veel’ oedeem, is er in de dit onderzoek de oedeem score 3 gegeven. Het score systeem komt verder geheel overeen met de waarden die op Universiteitskliniek Paard, te Utrecht, gebruikt worden. Deze numerieke waarden zijn tevens gebruikt om kunstmatige gemiddelden te berekenen met als doel de trend in het verloop te laten zien. In tabel 1 zijn de bijbehorende beelden van het aanwezige uterusoedeem te zien. De beelden zijn door middel van rectale exploratie gemaakt met de Ultrasound scanner van Esaote ®. Een Mylabfive Vet, met een endorectale probe; lineair array, 7,5mHZ.

Tabel 1 De verschillende maten uterusoedeem

Mate van oedeem (zoals het in Vetware® vermeld staat).	**Numerieke waarden**	**Afbeelding** (Ultrasound scanner van Esaote®. Mylabfive Vet, endorectale probe; lineair array, 7,5mHZ)
Geen	**0**	
Wat	**1**	
Duidelijk	**2**	
Veel+	**3**	

Bron afbeeldingen:
Foto’s gemaakt door Dr. P.T. Brogan, 18-05-2013, Afdeling Voortplanting, Universiteitskliniek Paard, te Utrecht.

Bij de data verwerking van de aanwezige maten van uterusoedeem, zijn de cycli weer in verschillende groepen onderscheiden.

Groep **I** : alle 292 cycli, deze groep is verder opgesplitst in 2 groepen.

- Groep **I**A (N=140 cycli): de cycli waarbij de merries 48 uur na de hCG gift geövuleerd hebben.
- Groep **I**B(N=152 cycli): de overige cycli uit Groep **I** (de cycli waarbij de merries eerder/later of zonder hCG gift geövuleerd hebben).

3.3.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren

Aan de hand van de gegevens uit de merriekaarten in Vetware®, wordt de lengte van het interval tussen hengstig spuiten en de ovulatie berekend. Het gaat hier om het aantal dagen dat verstreken is tussen het hengstig spuiten van de merrie en de erop volgende ovulatie. De merries worden behandeld met een PGF2α analoog. Dit is dus niet bij alle merries precies hetzelfde middel of dezelfde hoeveelheid, maar wordt in dit onderzoek wel als een constante beschouwd. In deze groep Friese merries zijn Genestravet®, Estrumate® en Prosolvin® gebruikt. Een deel van de merries wordt behandeld met hCG, waardoor, bij het gewenste effect van hCG(ovulatie na 36-48uur), het interval verkort is. Bij het verwerken van de gegevens is er daarom ook gekeken naar het wel of niet gebruik van hCG. De data zijn vervolgens bij het verwerken in groepen verdeeld. Groep 1 is de totale groep, deze is vervolgens onderverdeeld in één groep waarbij hCG is gebruikt en waarbij op 48 uur een ovulatie heeft plaatsgevonden (Groep 1A) en een groep waarbij geen hCG is gegeven, dan wel de ovulatie op een ander moment dan 48uur na toediening van hCG heeft plaats gevonden(Groep 1B).

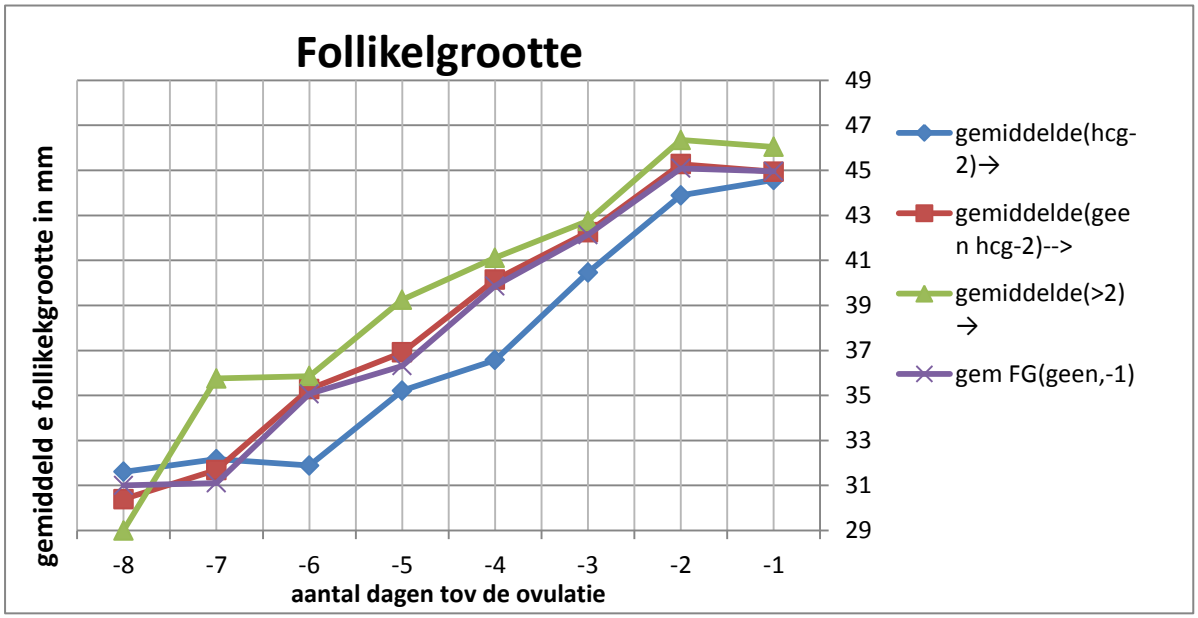
4. Resultaten

4.1.a Follikelgrootte Friezen

In *tabel 2* zijn de gemiddelde follikelgroottes per groep weergegeven en in *figuur 1*tegenover elkaar uitgezet. Hier uit valt af te lezen waar de grens van ≥35mm zich bevindt. Bij Engelse volbloed paarden en KWPN'ers, geeft deze follikelgrootte van ≥ 35mm doorsnede (waarbij de verder omstandigheden er ook op duiden) de verwachting dat, bij een hCG gift, in 36-48 uur een ovulatie verwacht kan worden aangehouden.
In deze tabel is te zien, dat in geen van de groepen de grens van ≥35 mm als een signaal van een naderende ovulatie (36-48 uur met hCG gift) terug te vinden is. Dit is hier wel onafhankelijk van omstandigheden zoals het oedeem bekeken.

Tabel 2. Gemiddelde follikelgroottes per groep weergegeven.

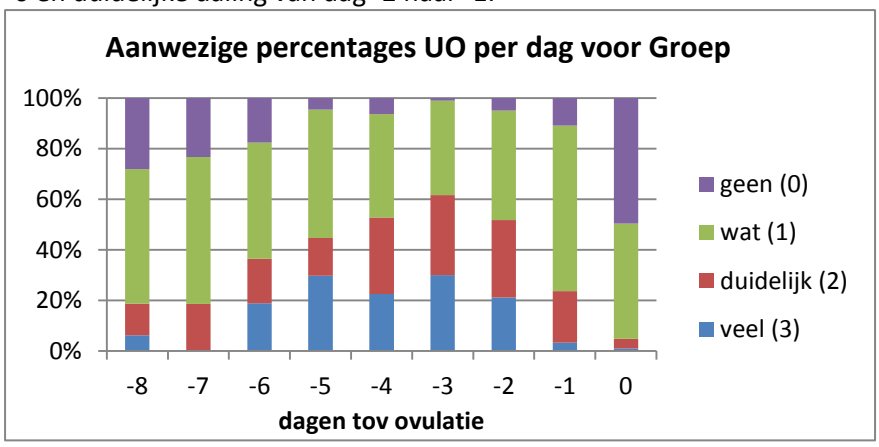
Dagen voor ovulatie→	**-1**	**-2**	**-3**	**-4**	**-5**	**-6**	**-7**	**-8**
Groepen↓								
Gemiddelde Groep 1 (hcg-2)→	44,6	43,9	40,5	36,6	35,2	31,9	32,2	31,6
Gemiddelde Groep 2 (geen hcg-2)→	44,9	45,3	42,3	40,1	36,9	35,3	31,7	30,4
Gemiddelde Groep 2a (>2)→	46,0	46,3	42,8	41,1	39,3	35,9	35,8	29,0
Gemiddelde Groep 2b (geen,-1)→	45,0	45,1	42,1	39,9	36,3	35,1	31,1	31,0
Binnen de geaccentueerd zones→ moment van hCG gift								
rood = moment dat 35mm grens is bereikt								



Figuur 1. Verloop gemiddelde follikelgroottes per groep weergegeven.

4.1.b Uterusoedeem bij de Friezen

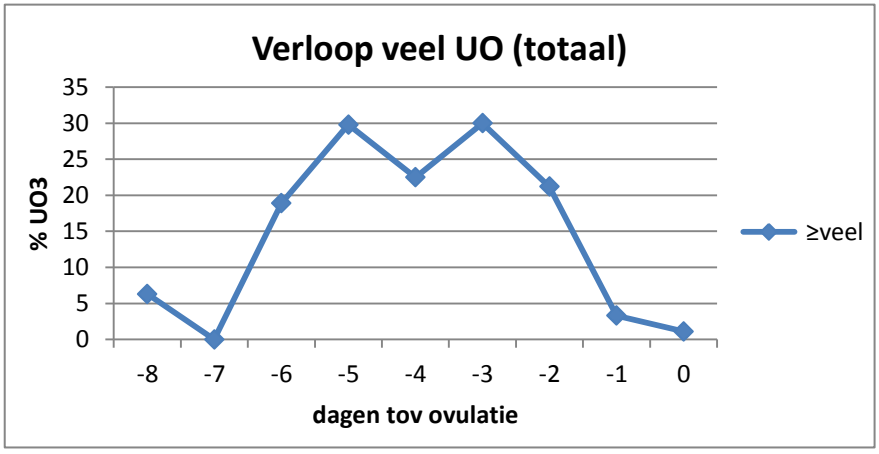
In *figuur 2* is de onderlinge verhouding van de verschillende maten van oedeem(UO) van Groep **I**, de totale groep merries, per dag te zien en in *tabel 3* zijn de verschillende maten uterusoedeem in percentages uitgelicht en in fig*uur 3* het verloop van 'veel' oedeem (UO3).
Hieruit is op te maken dat het percentage aan cycli dat 'veel' oedeem(UO3) vertoont op dag -3 een maximum van 30 % laat zien. Ten opzichte van de omgevende waarden vormt dit geen duidelijke piek, wel lijkt tussen dag-6 en dag -2 het percentage UO3 duidelijk hoger te liggen dan bij de omgevende dagen. Tevens is er een duidelijke stijging in het percentage UO3 te zien van dag -7 naar -6 en duidelijke daling van dag -2 naar -1.



Figuur 2. De onderlinge verhouding van de verschillende maten van oedeem(UO) van Groep

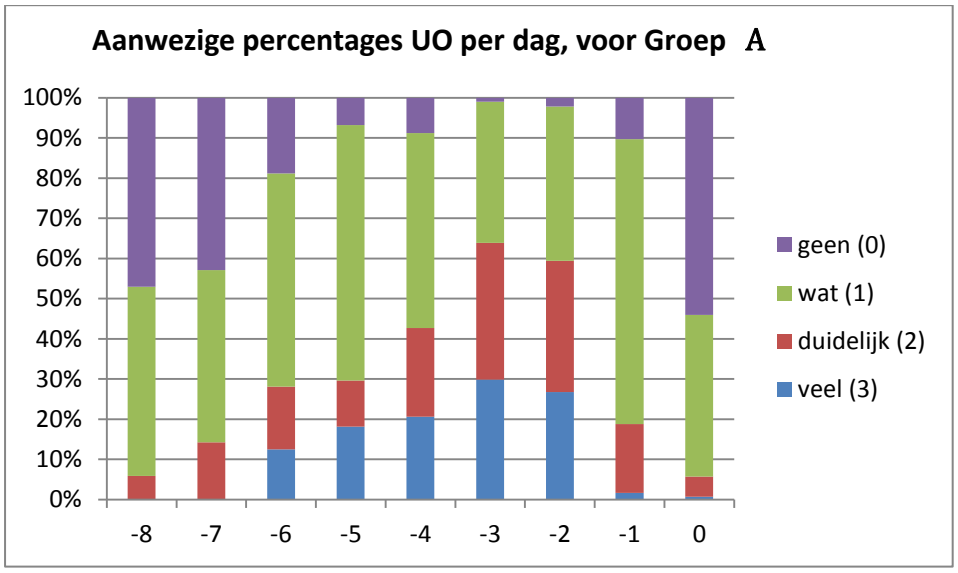
Tabel 3. Percentages van verschillende maten uterusoedeem Groep I

Groep I									
dagen t.o.v. de ovulatie→									
	-8	**-7**	**-6**	**-5**	**-4**	**-3**	**-2**	**-1**	**0**
Mate van oedeem↓									
veel (3)	6,3	0	18,9	29,8	22,5	30	21,2	3,3	1,1
duidelijk (2)	12,5	18,6	17,6	14,9	30,3	31,7	30,6	20,4	3,8
wat (1)	53,1	58,1	45,9	50,6	40,8	37,2	43,3	65,4	45,5
geen (0)	28,1	23,3	17,6	4,6	6,3	1,1	4,9	10,9	49,6



Figuur 3. Het verloop van 'veel' oedeem (UO3).

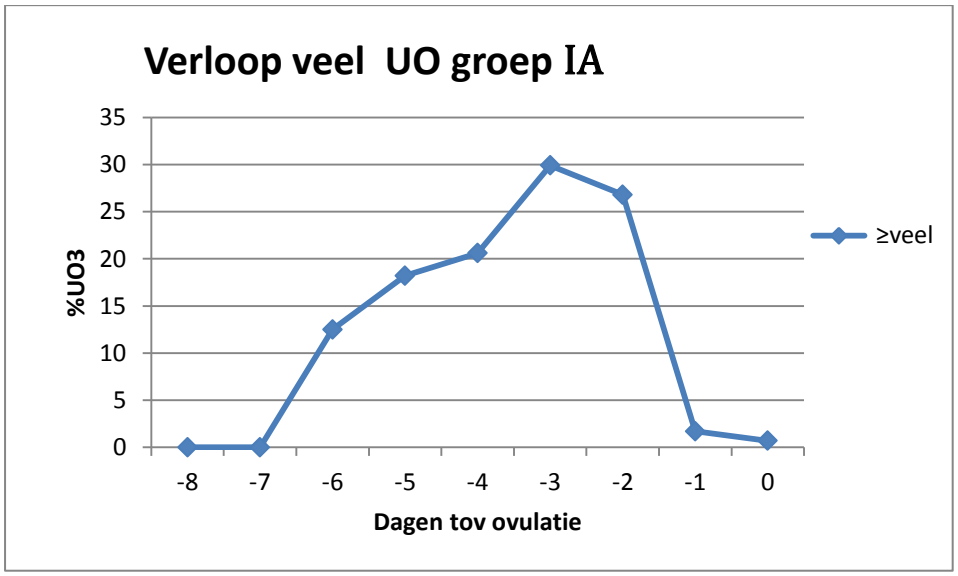
In *figuur 4, 5* en *tabel 4* is de verdeling van de verschillende maten oedeemvorming en het verloop van het UO3 percentage voor Groep IA (de cycli waarbij de merries 48 uur na de hCG gift geovuleerd hebben) weergegeven.



Figuur 4. De verdeling van de verschillende maten oedeemvorming

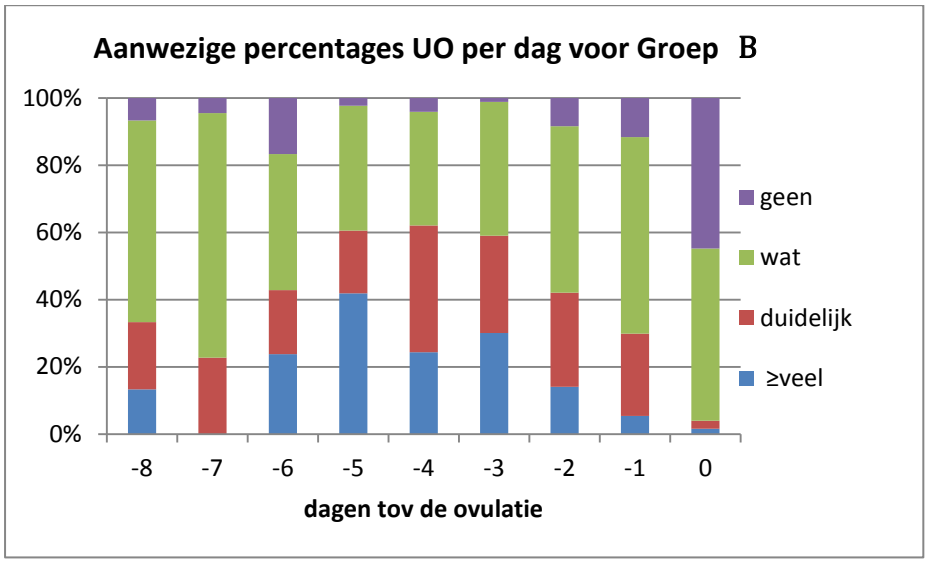
Tabel 4. Percentages van verschillende maten uterusoedeem Groep IA

Groep IA									
dagen t.o.v. de ovulatie→									
	-8	**-7**	**-6**	**-5**	**-4**	**-3**	**-2**	**-1**	**0**
Mate van oedeem↓									
geen (0)	47,1	42,9	18,8	6,8	8,8	1	2,2	10,3	54
wat (1)	47,1	42,9	53,1	63,6	48,5	35,1	38,4	70,9	40,3
duidelijk (2)	5,9	14,3	15,6	11,4	22,1	34	32,6	17,1	5
veel (3)	0	0	12,5	18,2	20,6	29,9	26,8	1,7	0,7



Figuur 5. Het verloop van het UO3 percentage voor Groep IA.

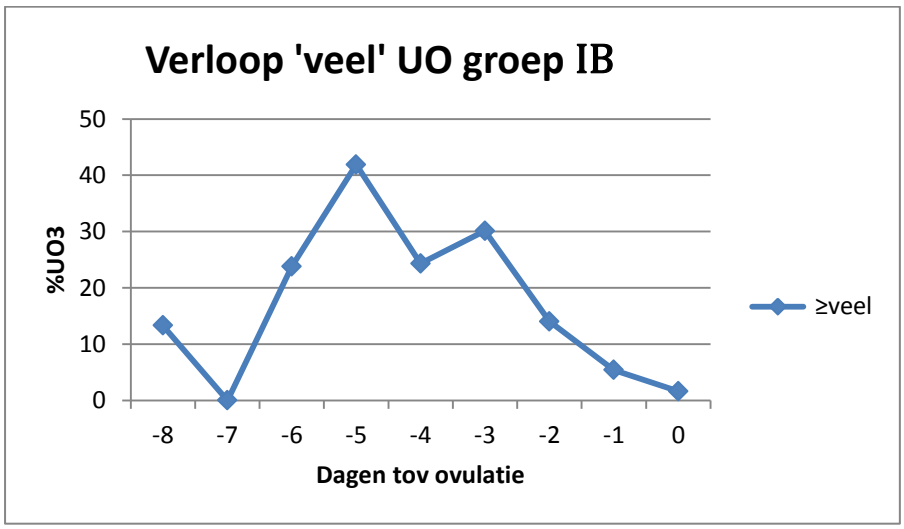
In *figuur 6,7* en *tabel 5* is de verdeling van de verschillende maten oedeemvorming en het verloop van het UO3 percentage voor Groep IB (de cycli waarbij de merries eerder/later of zonder hCG gift geovuleerd hebben) weergegeven.



Figuur 6. De verdeling van de verschillende maten oedeemvorming.

Tabel 5. Percentages van verschillende maten uterusoedeem Groep IB

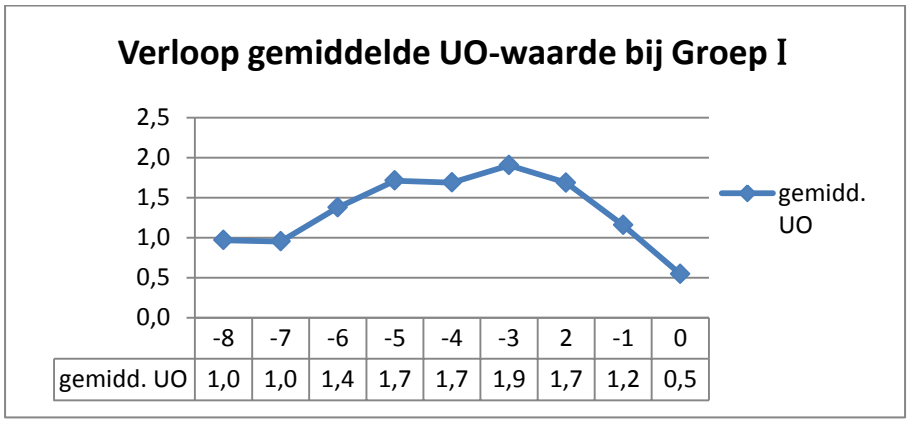
Groep IB									
dagen t.o.v. ovulatie→									
	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Mate van oedeem↓									
geen (0)	6,7	4,5	16,7	2,3	4,1	1,2	8,4	11,7	44,8
wat (1)	60	72,7	40,5	37,2	33,8	39,8	49,5	58,5	51,2
duidelijk (2)	20	22,7	19	18,6	37,8	28,9	28	24,5	2,4
veel (3)	13,3	0	23,8	41,9	24,3	30,1	14	5,4	1,6



Figuur 7. Het verloop van het UO3 percentage voor Groep IB.

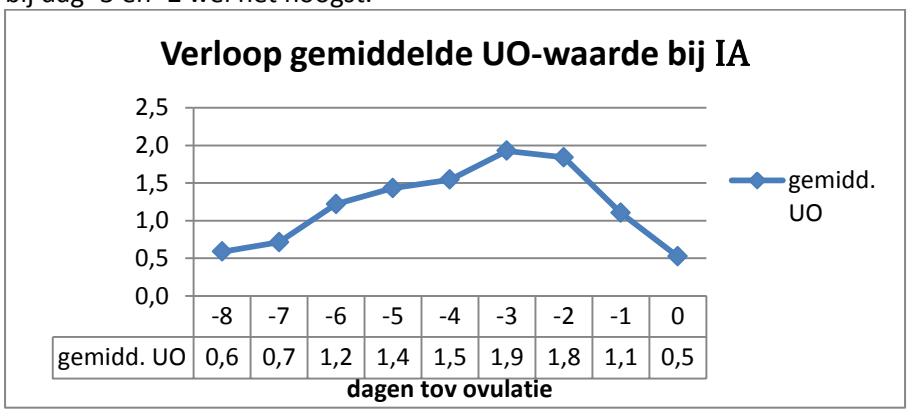
In *Figuur 8,9* en *10* is het verloop van de gemiddelde uterus oedeem waarden per groep weergegeven. Bij groep I (de gehele groep) is bij het verloop van het gemiddelde te zien dat de

gemiddelde mate uterus oedeem tussen dag -6 en -2 hogere waarden aanneemt. In dit verloop is er geen sprake van een duidelijke maximumpiek op dag -3, dan wel op een andere dag.



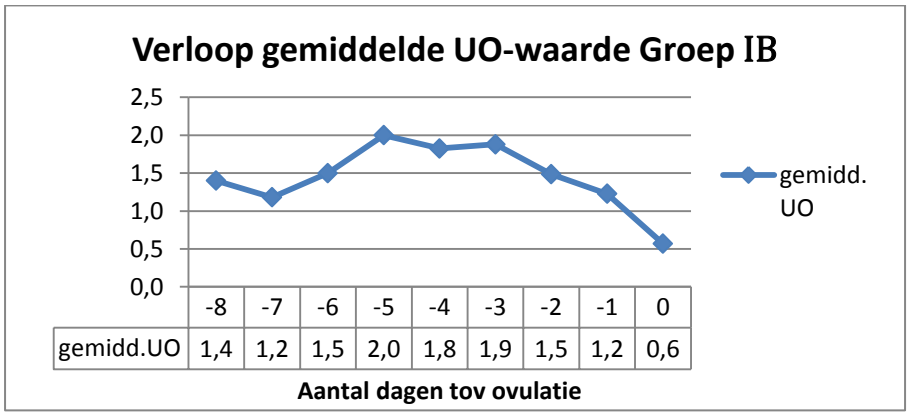
Figuur 8. Het verloop van de gemiddelde uterus oedeem waarden per groep.

Bij groep IA (de cycli waarbij de merries 48 uur na de hCG gift geovuleerd hebben) liggen de gemiddelden tussen dag -5 en dag -2 ook hoger dan de omgevende waarden, maar zijn de waarden bij dag -3 en -2 wel het hoogst.



Figuur 9. Het verloop van de gemiddelde uterus oedeem waarden per groep.

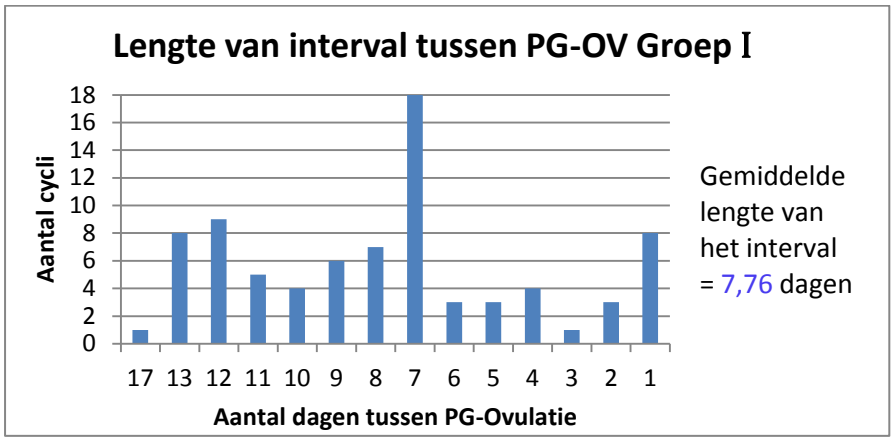
Bij groep IB is er vanaf dag -8 tot en met dag -1 een ‘ gemiddelde oedeem mate >1 ‘ te zien. Tevens is bij het verloop van het gemiddelde te zien, dat de gemiddelde mate uterus oedeem tussen dag -6 en -2 hogere waarden aanneemt. Ook in dit verloop is er geen sprake van een duidelijke maximumpiek op dag -3, dan wel op een andere dag.



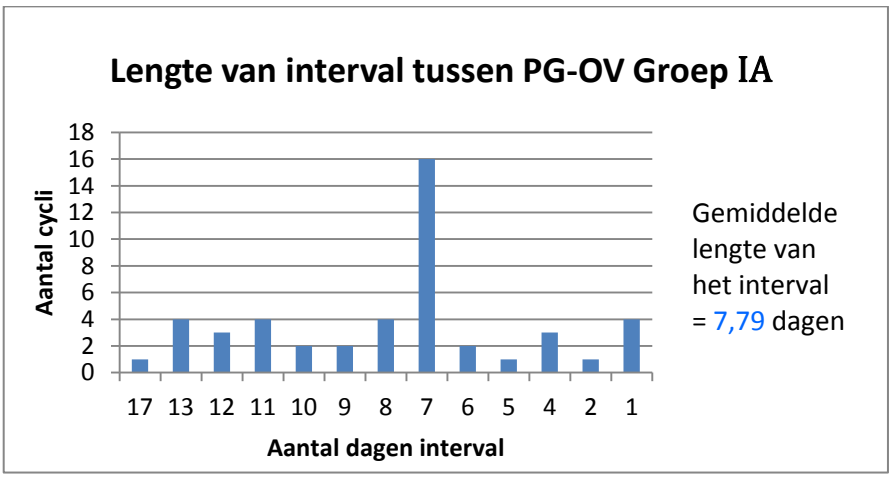
Figuur 10. Het verloop van de gemiddelde uterus oedeem waarden per groep.

4.1.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren Friezen

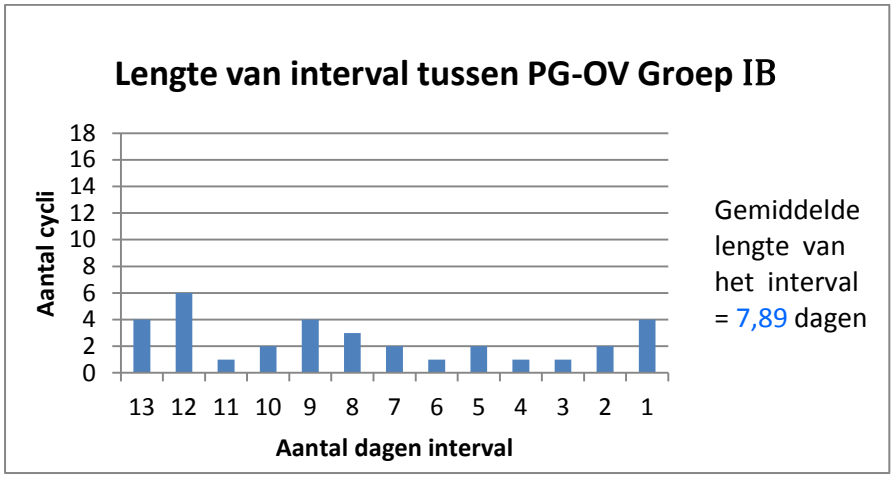
In figuur *11,12* en *13* zijn de intervallen weergegeven bij de verschillende groepen. Hieruit komt naar voren dat de lengte (in hele dagen) van het gemiddelde interval, bij alle groepen, 8 dagen is.



Figuur 11. De gemiddelde lengte van de intervallen van de cycli uit Groep I



Figuur 12. De gemiddelde lengte van de intervallen van de cycli uit Groep IA.



Figuur 13. De gemiddelde lengte van de intervallen van de cycli uit Groep IB

5. Discussie

-Doordat er hCG en PGF2a analoog gebruikt zijn, is er bij de groep merries geen sprake van een natuurlijk verloop van de cyclus en kan er ook geen zuiver beeld worden gevormd van de cyclus van de Friese merrie en de afwijkende parameters. De parameters in de deze data zijn veelal extern beïnvloed.

-Bij het verwerken van de data, zijn factoren zoals seizoensinvloeden, leeftijdsinvloeden en cyclusinvloeden niet meegenomen in de verwerking. Deze hebben mogelijkerwijs wel een invloed gehad op de verwerkte data (Donadeu & Pedersen, 2008).

-Te veel verschillende parameters en factoren die op elkaar van invloed zijn om een zuiver uitspraak te doen omtrent de uitkomende gegevens.

5.1.a Referentie waarden Follikelgrootte

- De mogelijke aanwezigheid van antilichamen tegen hCG is niet meegenomen als een factor die invloed heeft op werkzaamheid van de hCG. Dit was in deze opzet niet te onderscheiden dan wel te verwerken maar kan wel invloed uitgeoefend hebben.

-Er is in deze opzet voor een grenswaarde van ≥35mm gekozen, voor de gemiddelde doorsnede van een dominant follikel, waarbij bij hCG gift, na 36-48uur een ovulatie verwacht kan worden. In de praktijk worden door paardendierenartsen ook wel grotere waarden dan ≥35mm aangehouden bij KWPN'ers. Bij andere grenswaarden zullen de conclusies veranderen, en de waarden van de Friese merries en de KWPN- en Engelse volbloed merries wellicht minder ver van elkaar liggen.

5.1.b Follikelgrootte Friezen

-hCG heeft invloed op de follikelgroei, waardoor de follikelgrootte na hCG gift waarschijnlijk gemeten waarschijnlijk kleiner is dan dat deze zou zijn zonder hCG gift

-Er is nu bij 51% op het 'juiste' moment gespoten, terwijl er hier al wel de praktijkervaring meegenomen is in de begeleiding. Er zou een opzet met onbehandelde paarden moeten volgen, waarin ze op de uitgekomen follikelgrootte van 43,9mm doorsnede, met hCG behandeld worden.

-Als hCG op ander moment dan 36-48hr voor de ovulatie gegeven is, wordt in dit onderzoek aangenomen dat het een verwaarloosbare/geen invloed heeft op de follikelgroei. Mag dit wel zo aangenomen worden?

-De follikelgrootte is met echoapparatuur gescand, maar handmatig wordt de juiste doorsnede gezocht en gemeten. Er is geen 100% zekerheid dat je de perfecte opname hebt, en de opname treft het follikel niet precies door het midden en beeld van follikel is niet altijd geheel rond. Dus zal de gemiddelde waarde niet altijd overeen komen met de werkelijke waarde.

5.2.a Referentie waarden Uterusoedeem

-Is dag -3 als piek in het verloop van de mate van het uterusoedeem de juiste dag. Bij de Engelse volbloed- en KWPN merries vertoont deze een piek op 1-3 dagen vooraf aan de ovulatie, het oedeem begint 1 dag voor de ovulatie al weer af te nemen. Om een vergelijking te kunnen maken is op basis van literatuur voor dag -3 gekozen. Daar er bij de KWPN- en Engelse volbloed merries dus een spreiding in 'piek moment' zit, kan er hier ook sprake van zijn bij de Friezen, zonder dat dit op een rasverschil duidt (Hayes et al., 1985; J. C. Samper, 2009b).

-De score waarmee in de literatuur gewerkt is, is anders dan die op de faculteit en daarmee in dit onderzoek . Daarom kunnen waarden niet rechtstreeks met elkaar vergeleken worden.

5.2.b Uterusoedeem Friezen

-Er is hier zowel naar de gemiddelde waarden als naar het aanwezige percentage mate 3 oedeem gekeken. Daar niet alle merries mate 3 oedeem ontwikkelen en dus 'duidelijk' oedeem ook een maximum kan zijn, zou het misschien beter zijn om de percentages aanwezig mate 2 en mate 3 oedeem bij elkaar op te tellen.

-De mate van oedeem is ingedeeld in de categorieën, geen, wat, duidelijk en veel. Deze waarden zijn in werkelijkheid niet te middelen in een numeriek waarde. Maar, om een vergelijking met de Engelse volbloeden en de bij de Engels volbloed merries voorkomende oedeempiek, te kunnen maken, is er gebruik gemaakt van een weergaven van oedeem in de numerieke waarden, 0 t/m 3. De gemiddelde zijn bepaald en afgerond op basis van de numerieke schaal, terwijl het werkelijke gemiddelde van verschillende mate anders zou kunnen uitpakken.

-hCG heeft invloed op de mate uterus oedeem. Bij hCG gift neemt het uterusoedeem af, dit is bij het bepalen van het verloop van de mate uterusoedeem niet meegenomen. Bij Groep IA is in de grafiek ook een duidelijke daling te zien, steiler dan bij de andere groepen. Waarschijnlijk is hCG hierop van invloed geweest.

-Er is bij de Friese merries uitgekomen dat er geen sprake is van een piekmoment in het verloop van de mate uterusoedeem. Er lijkt wel een plateaufase aanwezig te zijn. Niet zeker is of deze plateaufase ontstaan is door middel van het uitmiddelen van pieken op verschillende momenten(tussen dag -6 en dag -2), of dat er sprake is van een werkelijke plateaufase (Hayes et al., 1985).

5.3.a Referentie waarden interval tussen hengstig spuiten en ovuleren

-De lengte van 7-12 dagen voor het interval die hier als referentiewaarde wordt aangehouden, is een ruime marge. De referentiewaarde omvat een periode van meerdere dagen waarbinnen de lengte van het interval kan vallen en deze wordt in dit onderzoek vergeleken met een lengte van 8 dagen, en niet een periode van meerdere dagen. Uit de vergelijking is geen definitieve conclusie te trekken.

5.3.b Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren Friezen

-In deze pilotstudy is de PGF2a analoog gift als begin van het interval geïnterpreteerd, onafhankelijk van het moment dat dit ingezet was. Er is hierbij niet gekeken naar het moment ten opzichte van de vorige ovulatie. Bij minder dan 7 dagen na de ovulatie geeft PGF2a geen effect en op meer dan 9 dagen na de voorafgaande ovulatie, heeft PGF2a analoog gift geen verkortend effect meer op het interval.

-Bij het detecteren van vocht in uterus wordt ter uitdrijving hiervan ook een PGF2a analoog ingezet. Bij het verwerken van de data is er niet gekeken naar de reden voor de PGF2a gift, alleen naar het moment waarop. Hierdoor zullen veel momenten waarop PGF2a is gebruik, die in deze pilotstudy als 'hengstig spuiten' zijn geïnterpreteerd, in werkelijkheid voor een ander doel geweest zijn.
De intervallen die aan de hand hiervan opgesteld zijn, geven dus geen werkelijk interval tussen 'hengstig spuiten en ovuleren' weer, maar zijn wel als zodanig verwerkt in dit onderzoek.
Het is beter om vanuit een onderzoeksopzet te starten i.p.v. retrospectief onderzoek waarbij informatie niet altijd afdoende is. Bij het bepalen van het interval, zal er gekeken worden naar het moment van hengstig spuiten ten opzichte van de voorafgaande ovulatie. Tevens zullen alleen de PGF2a analoog giften, die als doel het hengstig spuiten hebben, als start van een interval moeten worden geïnterpreteerd.

6. Conclusie

6.1.a Follikelgrootte Friezen

Als we nu los van andere omstandigheden de grens van 35 mm aanhouden, zou bij hCG gift en een dominant follikel van ≥35mm in doorsnede, in 36-48 uur een ovulatie verwacht worden. In de grafiek is er bij geen van de gemiddelden van de groepen bij de grens van 35mm doorsnede, hCG ingezet. We kunnen uit deze gegevens dus niet zeggen wat het resultaat van een hCG gift bij 35mm is, maar wel is te zien dat een hCG gift bij een follikelgrootte van 36,9-42,8mm doorsnede (>35mm) in geen van de gevallen tot een ovulatie in 48uur heeft geleid.
Pas bij een gemiddelde follikelgrootte van 43,9mm doorsnede vond er een ovulatie plaats in de verwachte 36-48 uur.

-De cycli die te vroeg met hCG behandeld zijn, zitten allemaal met een waarde boven de 35 mm en onder de 43,9 mm, dit lijkt dus aan de follikelgrootte te kunnen liggen (nog afgezien van de omstandigheden).
-Cycli die te laat of niet met hCG behandeld zijn, hebben een grotere waarde dan de 43,9mm op dag -2, zowel als op de dag van de eventuele hCG gift(dag -1).

Hieruit concluderend lijkt de Friese merrie een andere ondergrens qua follikelgrootte aan te houden waarbij hCG gift een ovulatie op 36-48 uur vertoond. Uit de gegevens van Groep 1 zou geconcludeerd kunnen worden dat bij Friezen in plaats van 35mm, 44mm als gemiddelde doorsnede van het dominante follikel moet worden genomen. 44mm Doorsnede lijkt hiervoor het juiste moment te zijn waarop, bij een hCG gift, een ovulatie in 36-48 uur verwacht kan worden. De parameter follikelgrootte, in de cyclus van de Friese merrie, lijkt hier dus afwijkend te zijn ten opzichte van de warmbloed en Engelse volbloed merries.

De praktijkervaring betreffende de fertiliteitsbegeleiding gaat er van uit dat de Friese merrie een groter follikel heeft op moment van ovuleren dan de warm- en Engelse volbloed paarden. Dit komt ook naar voren uit de hier gebruikte data. Hierbij kunnen we concluderen, op de hier gevonden waarden, dat de Praktijk ervaring vermoedelijk met verder wetenschappelijk onderzoek onderbouwd en ondersteund kan worden.

6.1.b Uterusoedeem Friezen

Uit de gegevens is van het 'mate 3 uterusoedeem' en van het gemiddelde uterusoedeem, geen piek in het verloop op dag -3, dan wel een ander moment te zien. Het verloop bij de Friese merries lijkt van dag -6 tot dag -2 een plateaufase te vertonen. In vergelijking met de referentiewaarden van het gemiddelde uterusoedeem is deze parameter bij de Friese merries afwijkend van die van de KWPN- en Engelse volbloed merries.

6.1.c Interval tussen hengstig spuiten en ovuleren

Uit de data is een gemiddelde lengte van het interval van 8 dagen gekomen, zowel met als zonder hCG gift en onafhankelijk van het wel of niet reageren op hCG met een ovulatie in 36-48 uur.
Dit interval van 8 dagen valt binnen de 7-12 dagen van de warm- en Engels volbloed merries die in dit onderzoek als referentie kader zijn aangehouden. Als alleen naar moment van PGF2a tot ovulatie wordt gekeken is 'het interval tussen hengstig spuiten en ovuleren van de merrie', als parameter in de cyclus van de Friese merrie in dit onderzoek niet afwijkend t.o.v. warm- en Engelse volbloed merries.

Uit de praktijkervaring rijst het vermoeden dat het interval tussen hengstig spuiten en ovuleren bij Friese merries langer is dan bij warm- en Engelse volbloed merries. Uit de gevonden interval lengte is dit niet gebleken. Om dit wetenschappelijk onderbouwd en ondersteund te krijgen is verder onderzoek nodig.

7. Dankwoord

Hierbij wil ik de volgende mensen en instanties bedanken voor hun ondersteuning bij dit onderzoek;

Afdeling voortplanting van de Universiteitskliniek Paard, van de faculteit diergeneeskunde aan de Universiteit Utrecht voor het leveren van de data.

Mw. Drs. W.K. Hendriks voor de begeleiding bij de opzet van het onderzoek.

Mw. Drs. S. Sitters voor het overnemen van de begeleiding van het onderzoek.

Mw. Dr. M. de Ruijter- Villani voor de begeleiding in de afrondingsfase van het onderzoek.

Dr. P.T. Brogan voor het verzamelen van de echobeelden voor de uterusoedeem scores.

Mw. J. de Pijper voor het aanleveren van foto's van Friese paarden.

Drs. J.C.M. Vernooy voor hulp bij statistische inzichten

Vrienden, die bij de afronding van het verslag hun hulp geboden hebben.

Bedankt dat jullie meegeholpen hebben aan het tot stand komen van dit onderzoeksverslag.

8. References

Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science, 124*(3–4), 220-228. d

Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Hinrichs, K., & Hartman, D. L. (2011a). CHAPTER 3 - Manipulation of Estrus in the Mare. *Manual of Equine Reproduction* (3d ed., pp. 35-36). Saint Louis: Mosby.

Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Hinrichs, K., & Hartman, D. L. (2011b). CHAPTER 3 - Manipulation of Estrus in the Mare. *Manual of Equine Reproduction* (3d ed., pp. 30-31). Saint Louis: Mosby.

Donadeu, F., & Pedersen, H. (2008). Follicle Development in Mares. *Reproduction in Domestic Animals, 43*, 224-231.

Ginther, O. J. (1992). Ch.6 Characteristics of the ovulatory season. *Reproductive biology of the mare : Basic and applied aspects* (2nd ed., pp. 183-193) Equiservices,Cross Plains, Wisconsin.

Ginther, O. J., Gastal, E. L., Rodrigues, B. L., Gastal, M. O., & Beg, M. A. (2008). Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. *Theriogenology, 69*(5), 583-590. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.11.004

Hayes, K. E. N., Pierson, R. A., Scraba, S. T., & Ginther, O. J. (1985). Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology, 24*(4), 465-477.

Samper, J. C. (1997). Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. Paper presented at the *Proceedings of the 43 Rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners,* 7-10.

Samper, J. C. (2008). Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology, 70*(3), 445-447.

Samper, J. C. (2009a). Maximazing the use of ultrasonography in reproduction. *CVC in Kansas City Proceedings,* Kansas City.

Samper, J. C. (2009b). Uterine edema in the mare. *Equine breeding management and artificial insemination* (2nd ed., pp. 133-138) Saunders Elsevier.

Stout, T. A. E.
Attention breeders and veterinarians managing Friesian mares Retrieved 04/24, 2013, from http://www.selectbreeders.com/system/attachments/203/original/Dr%20Tom%20Stout%20on%20Managing%20Friesian%20Mares%20with%20Frozen%20Semen.pdf?1302570735