

# Einsatz einer GnRH-Vakzine bei Stute und Hengst zur Beeinflussung von unerwünschtem Verhalten: Eine retrospektive Studie von 31 Fällen

B. Wenzinger, W. Kähn, U. Bleul

Klinik für Fortpflanzungsmedizin der Universität Zürich

## Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung einer GnRH-Vakzine (Equity®) auf das Verhalten und die Gonadenfunktion von Pferden mit unerwünschtem Verhalten zu untersuchen. Anhand eines Fragebogens wurden der Grund für die Behandlung erfragt, sowie die Befunde der klinischen, rektalen palpatorischen und ultrasonographischen Untersuchungen und das Verhalten von 21 Stuten und 10 Hengsten vor und nach der zweimaligen Verabreichung der GnRH-Vakzine miteinander verglichen und das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen dokumentiert. Bei 84 % der Fälle konnte eine Verminderung des störenden Verhaltens festgestellt werden. Bei den Stuten waren die Ovarien nach der Impfung signifikant kleiner als vor der Impfung ( $P \leq 0.05$ ). Auch der grösste sowie der zweitgrösste Follikel auf den Ovarien waren signifikant kleiner nach der Impfung ( $P \leq 0.05$ ). Bei den Hengsten konnte kein signifikanter Unterschied in der Hodengrösse vor und nach der Impfung festgestellt werden. Die Studie konnte zeigen, dass die Vakzine für Pferde gut verträglich ist. Nur in 6.5 % der Fälle traten geringe lokale Nebenwirkungen auf.

Schlüsselwörter: Hengst, Stute, GnRH-Vakzine, Verhalten, Gonadenfunktion

## The use of a GnRH vaccine in mares and stallions to influence undesirable behavior: A retrospective study of 31 cases

The aim of this study was to investigate the effect of a GnRH vaccine (Equity®) on behavior and gonadal function in horses with unwanted behavior. The reason for the treatment was asked using a questionnaire and the findings of physical examination, rectal palpation as well as rectal ultrasonography, were recorded. The results of these examinations and the behavior of 21 mares and 10 stallions before the first and after the second administration of the GnRH vaccine were compared. In 84 % of all cases a decrease of the unwanted behavior could be observed. In the mares the ovaries were significantly ( $p \leq 0.05$ ) smaller after vaccination than before. The largest and the second largest follicle on the ovaries were also significantly smaller after vaccination. In the stallion there was no significant difference in the size of testicles before and after vaccination. The study showed that the vaccine is well tolerated in horses and only little local adverse reactions appeared in 6.5 % of all cases.

Keywords: stallion, mare, GnRH vaccine, behavior, gonadal function

## Einleitung

Ausgeprägtes sexuelles oder aggressives Verhalten gegenüber Artgenossen oder Menschen sind unerwünschte Verhaltensformen, die den Umgang mit Pferden im Training und Wettkampf erschweren oder sogar gefährlich machen. So werden Hengste durch die Anwesenheit von Stuten oder anderen Hengsten abgelenkt, und bei Stuten kann in der Rosse die Konzentrations- und Leistungsfähigkeit stark beeinträchtigt sein, so dass sie ihr Leistungspotential nicht ausschöpfen können. Daher kann es in verschiedenen Situationen wünschenswert sein, das re-

produktive endokrine System des Pferdes teilweise oder ganz zu unterdrücken.

Die bisherigen therapeutischen Möglichkeiten umfassten das Einsetzen einer Glaskugel in die Gebärmutter, die hormonelle Ruhigstellung durch die Verabreichung von Altrenogest, eines synthetischen Progestagens, und die chirurgische Kastration. Nie et al. (2003) stellten fest, dass sich der Diöstrus nach Einsetzen einer Glaskugel in den Uterus bei 40 % der Stuten verlängerte. Dabei konnten während durchschnittlich 3 Monaten Blutprogesteronwerte von  $> 1$  ng/ml festgestellt werden. Die Mehrheit der Stuten allerdings zeigte nach dem Einsetzen einer

## 374 Originalarbeiten

Glaskugel in die Gebärmutter weder Veränderungen im Zyklus noch im Verhalten. Die Behandlung mit Altrenogest hat den Nachteil, dass das Präparat täglich verabreicht werden muss. Der Einsatz von Altrenogest beim Hengst gilt als Doping, während er bei Stuten mit Verhaltensproblemen auf Verschreibung eines Tierarztes erlaubt ist (FEI, Veterinary Regulations, 11th ed. 2009, Annex V). Die chirurgische Kastration hat die Nachteile des Operationsrisikos und der Irreversibilität.

Neuere Methoden zur Kontrolle von unerwünschtem sexuellen Verhalten sind die hormonale Kastration durch Verabreichung von GnRH-Agonisten und GnRH-Antagonisten (Watson et al., 2000; Guillaume et al., 2002; Stout and Colenbrander, 2004; Stout, 2005) sowie die immunologische Kastration mittels anti-GnRH-Impfung (Stout, 2005; Imboden et al., 2006; Stump, 2008). Die Verabreichung von GnRH-Agonisten soll nach einer initialen Gonadotropin-Hypersekretion zu einer Desensibilisierung der Hypophyse und dadurch zu einem Abfall der Gonadotropine und der Sexualsteroiden im Blut führen. Im Gegensatz zu Hunden und Katzen (Bertschinger et al., 2002) reagieren Pferde unempfindlich gegenüber GnRH-Agonisten (Stout, 2005). GnRH-Antagonisten konkurrieren mit dem GnRH um die GnRH-Rezeptoren in der Hypophyse. Der Vorteil dieser Methode besteht im raschen Wirkungseintritt ohne vorangehende Hyperstimulation der Gonadotropinsekretion und dadurch in der rascheren Reversibilität und Manipulierbarkeit (Watson et al., 2000; Huirne and Lambalk, 2001; Guillaume et al., 2002).

Die GnRH-Impfung beinhaltet die Injektion von GnRH (oder einer modifizierten Form des Hormons), konjugiert mit einem Fremdprotein und kombiniert mit einem immunstimulierenden Adjuvans. Die gebildeten Antikörper binden das endogene GnRH und verhindern damit eine Ankopplung von GnRH an die GnRH-Rezeptoren. Dadurch fällt der Stimulus zur Sekretion von Gonadotropinen weg. Die fehlende Stimulation für die Hormonbildung in den Gonaden führt zu einem Abfall der Sexualsteroiden im Blut und zu einer verminderten Spermienproduktion beim männlichen Tier sowie zur Unterdrückung von Follikelentwicklung und Ovulation beim weiblichen Tier (Thompson, 2000; Imboden et al., 2006). In der vorliegenden Arbeit sollte die Wirkung einer GnRH-Vakzine auf das Verhalten von Stuten und Hengsten und auf die Aktivität ihrer Gonaden untersucht werden.

## Tiere, Material und Methoden

### Tiere und Impfschema

Im Zeitraum von Januar 2005 bis April 2007 wurde Equity® (Equity® Oestrus Control Vaccine for Horses, Pfizer Animal Health, Australia) auf Anfrage unter der Bedingung an praktizierende Tierärzte abgegeben, dass

eine klinische Untersuchung sowie eine palpatorische und ultrasonographische Untersuchung der Gonaden durchgeführt und die Befunde dokumentiert werden. Equity® ist ein GnRH-Impfstoff, der 200 µg/ml GnRH-Konjugat und 0.1 mg/ml Thiomersal als Adjuvans enthält. Der Impfstoff wurde aus Australien bezogen, da es für Equity® in der Schweiz keine Zulassung gibt. Für die Anwendung wurde deshalb von der Swissmedic eine Sonderbewilligung für einen Tierarzneimittelleinsatz im Einzelfall eingeholt. Der Impfstoff sollte zweimal im Abstand von 4 Wochen intramuskulär verabreicht werden. Insgesamt wurden 68 Impfdosen an 9 verschiedene Tierarztpraxen versandt und damit 34 Pferde, die störendes Verhalten zeigten, behandelt.

### Dokumentation

Im Juli 2007 wurde für jedes behandelte Pferd ein Fragebogen an den entsprechenden Tierarzt verschickt. Von den 35 Fragebögen wurden 31 ausgefüllt retourniert und konnten ausgewertet werden. Für die Befunderhebung beim Hengst oder bei der Stute wurden zwei unterschiedliche Fragebögen verwendet. Sie enthielten zum einen Fragen zur Anamnese bezüglich des bisherigen Einsatzes in der Zucht, nach der Art und Häufigkeit des Auftretens der Verhaltensstörungen, die zum Einsatz der Impfung führten, und zum anderen Fragen nach den bisherigen diagnostischen und therapeutischen Massnahmen. Anschliessend sollten im Hauptteil des Fragebogens die Befunde der letzten klinischen, rektalen und ultrasonographischen Untersuchung vor Verabreichung von Equity® notiert, das Impfschema festgehalten und die klinischen, rektalen und ultrasonographischen Befunde nach der zweiten Injektion sowie unerwünschte Impfreaktionen dokumentiert werden. Die zentrale Frage war, ob eine Veränderung des Verhaltens aufgetreten ist oder nicht und wie lange die Zeitdauer bis zur Verhaltensänderung betrug.

### Auswertung der Daten

Aus den in der Untersuchung vor der ersten Injektion und in der Nachuntersuchung festgestellten Längen und Breiten der Ovarien, Follikel und Gelbkörper wurden Mittelwerte, Standardabweichungen sowie Varianzanalysen mit Hilfe des Programms StatView 5.0 (1998, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) berechnet.

## Ergebnisse

In den 31 ausgewerteten Fragebögen war die Krankengeschichte von 21 Stuten und 10 Hengsten dokumentiert. Die Pferde waren im Durchschnitt  $9.6 \pm 4.05$  (2 bis 22) Jahre alt und gehörten verschiedenen Rassen an. Sie wurden sowohl im Sport als auch als Freizeitpferde eingesetzt. Nur 3 der 31 Pferde, 2 Stuten und 1 Hengst, wurden schon zur Zucht eingesetzt. Eine Stute wurde im Natursprung

## GnRH-Vakzine bei Stute und Hengst: Eine retrospektive Studie von 31 Fällen 375

gedeckt und eine wurde künstlich besamt. Von allen 3 Pferden wurden lebende Nachkommen geboren. Verhaltensstörungen traten bei 30 Pferden auf. Ein Hengst wurde nicht primär aufgrund von unerwünschtem Verhalten mit Equity® behandelt, sondern zur immunologischen Kastration eines inguinal gelegenen Hodens. In den Tabellen 1 und 2 sind die Art der Verhaltensstörungen und die Anzahl der betroffenen Pferde dargestellt. Im Zeitraum vor der Impfung bis nach der Impfung (nach der zweiten Injektion), konnte bei 26 von 30 Pferden eine deutliche Besserung des störenden Verhaltens festgestellt werden. Bei 4 Pferden blieb die Verhaltensstörung unverändert bestehen. Die Verhaltensänderung trat durchschnittlich  $28 \pm 16$  (3 bis 90) Tage nach der ersten Injektion ein. Die zweite Injektion erfolgte im Abstand von durchschnittlich  $29 \pm 7$  Tagen (21 bis 59 Tage) nach der ersten Injektion. Abgesehen vom Verhalten ergab die kli-

nische Untersuchung direkt vor der ersten Injektion von Equity® bei keinem der 31 Pferde abnorme Befunde. Bei einer Stute wurde in der gynäkologischen Untersuchung eine Endometritis festgestellt.

Bei 7 Stuten wurde vor der ersten Injektion eine ultrasonographische Untersuchung von Ovarien und Uterus durchgeführt und die Ergebnisse dokumentiert (Tab. 3). Von den Ovarien, den jeweils grössten und zweitgrössten Follikeln sowie den Gelbkörpern wurden im ultrasonographischen Bild die Länge und Breite bestimmt. Die Uterus- und Ovarstrukturen waren mit einer Ausnahme bei allen Stuten unauffällig. Eine Stute zeigte einen dickwandigen, mit Fibrin durchzogenen persistierenden Follikel. In 5 Fällen zeigte der Uterus Radspeichenstruktur und in 3 Fällen enthielt er wenig Flüssigkeit. Bei den 5 nach der Behandlung mit Equity® untersuchten Stuten zeigte die Ultrasonographie keine Auffälligkeiten am

Tabelle 1: Verhaltensstörung und deren zeitliches Auftreten bei Stuten und Hengsten.

	vor Impfung	saisonal (nur im Sommerhalbjahr)	über das ganze Jahr	mit Rosse korreliert	nicht mit Rosse korreliert	nach Impfung
<b>Stuten</b>	21	3	18	14*	6	3
<b>Hengste</b>	9	2	7*	-	-	1

\*Bei einem Hengst lagen zur Persistenz der Verhaltensstörung und bei einer Stute zur Korrelation mit der Rosse keine Angaben vor.

Tabelle 2: Art der Verhaltensstörungen bei Stuten und Hengsten.

	Widersetzlichkeit, Unkonzentriertheit, Leistungsschwäche	Unrittigkeit	Störendes Verhalten gegenüber Artgenossen	Störendes Verhalten gegenüber Menschen	Schmerzanzeichen**
<b>Stuten</b>	16	15	6	3	4
<b>Hengste</b>	5	3	5	1	0

\*\*Schmerzen wurden bei Stuten während der Rosse beschrieben. Dabei handelte es sich um Kolik, Verspanntheit der Rückenmuskulatur und/oder Lahmheit.

Tabelle 3: Durchschnittliche (m  $\pm$  SD) Länge und Breite von Ovarien, Follikeln sowie Gelbkörper bei 7 Stuten vor und 5 Stuten nach zweimaliger Verabreichung von Equity®.

	vor Impfung (n = 7)		nach Impfung (n = 5)	
	Länge (cm)	Breite (cm)	Länge (cm)	Breite (cm)
<b>Ovar</b>	6.8 $\pm$ 2.88	5.0 $\pm$ 1.91	6.0 $\pm$ 1.9	4.6 $\pm$ 1.74
<b>grösster Follikel</b>	3.2 $\pm$ 0.47	3.1 $\pm$ 0.45	2.6 $\pm$ 0.43	2.1 $\pm$ 0.14
<b>zweitgrösster Follikel</b>	2.9 $\pm$ 0.66	2.5 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1
<b>Gelbkörper</b>	2.3 $\pm$ 0.51	1.9 $\pm$ 0.19	3.0	2.0

## 376 Originalarbeiten

Tabelle 4: Durchschnittliche ( $m \pm SD$ ) Länge und Breite der Hoden bei 5 Hengsten vor und nach zweimaliger Verabreichung von Equity®.

	vor Impfung		nach Impfung	
	Länge (cm)	Breite (cm)	Länge (cm)	Breite (cm)
Hoden	13.2 ± 1.81	7.6 ± 1.42	10.2 ± 3.97	6.8 ± 2.04

Uterus oder den Ovarien. In keinem der Fälle konnte im Uterus eine Radspeichenstruktur und/oder Flüssigkeit nachgewiesen werden. Die Länge und Breite der Ovarien sowie der jeweils grössten und zweitgrössten Follikel waren nach der zweiten Injektion signifikant ( $P \leq 0.05$ ) kleiner als vor der ersten. Nach der zweiten Injektion konnte nur bei einer Stute ein Gelbkörper festgestellt werden. Tabelle 4 zeigt die Messergebnisse der Hoden bei 5 Hengsten, wobei sich Längen und Breiten der Hoden vor und nach der Impfung nicht signifikant unterschieden haben. Ein Hengst wies einen inguinal gelegenen Hoden auf.

Bei 2 Pferden konnten unerwünschte Impfreaktionen festgestellt werden. Ein Pferd zeigte eine schmerzhafte Schwellung im Bereich der Impfstelle und Beugeschmerz am Hals während 2 Tagen. Bei einem zweiten Pferd konnte während eines Tages Beugeschmerz am Hals festgestellt werden. Fieber und Störungen des Allgemeinbefindens traten bei keinem der 31 geimpften Pferde auf.

Bei 12 der 31 Pferde wurden nach den zweimaligen Injektionen keine Auffrischungsimpfungen durchgeführt. Die Gründe waren in 2 Fällen die Kastration der betroffenen Pferde, in einem Fall die Beendigung der Sportkarriere des Pferdes, in einem Fall wurde das Pferd in seinem Temperament unabhängig von der Behandlung ruhiger und in einem Fall waren die Kosten der Grund für den Abbruch der Behandlung. Bei 4 Pferden wurde die Impfung nicht weitergeführt, da keine Besserung der Verhaltensstörung festgestellt werden konnte. Bei den übrigen 3 Pferden fehlt eine Begründung. Keines der 31 Pferde wurde im Zeitraum der Untersuchung erneut zur Zucht eingesetzt.

Auf die Frage nach der Zufriedenheit der Tierärzte mit der Impfung wurde der Erfolg nur in 2 der 31 Fälle als ungenügend eingestuft. In den übrigen 29 Fällen waren die praktizierenden Tierärzte mit dem Behandlungsergebnis zufrieden.

## Diskussion

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass durch den Einsatz von Equity® sowohl beim Hengst als auch bei Stuten störendes sexuelles Verhalten vermindert wer-

den kann. Es zeigten 84 % der Pferde eine Besserung des Verhaltens. Bei den übrigen 16 % handelte es sich um Fälle, bei denen die entsprechenden Tierärzte gemäss Fragebogen das unerwünschte Verhalten nicht dem Sexualverhalten zuordneten. Bei den Stuten konnte auch ein hemmender Einfluss von Equity® auf die Ovarfunktionen festgestellt werden. Durchschnittlich vier Wochen nach der ersten Injektion war eine signifikante Verkleinerung der Ovarien erkennbar. Dies stimmt mit den Untersuchungen von Imboden et al. (2006) überein. Diese Autoren konnten zeigen, dass sich die Ovaraktivität bei allen mit anti-GnRH-Impfstoff geimpften Stuten innerhalb von 8 Wochen verminderte und die Rosse ausblieb. In der vorliegenden Studie unterschieden sich neben den Ovarien auch die Follikel vor der ersten und nach der zweiten Injektion signifikant in ihrer Grösse. Auch konnten nach der zweiten Injektion in der ultrasonographischen Untersuchung keine Rosseanzeichen in Form einer östrusbedingten Radspeichenstruktur und keine Flüssigkeit im Uterus festgestellt werden. Beim Hengst konnte im Gegensatz zu den Untersuchungen von Stump (2008) kein signifikanter Unterschied in der Hodengrösse vor und nach der Impfung beobachtet werden. Möglicherweise liegt die Ursache in der geringen Anzahl an Hodenmessungen.

Nur 6.5 % aller mit Equity® behandelten Tiere zeigten geringe lokale Irritationen während einer maximalen Zeitdauer von zwei Tagen. Das Allgemeinbefinden war in keinem Fall beeinträchtigt. Im Gegensatz dazu rief Improvac® (Pfizer, Zürich), eine beim Schwein eingesetzte GnRH-Vakzine, in den Untersuchungen von Imboden et al. (2006) bei 8 von 9 Pferden Nebenwirkungen wie Schwellung, Steifheit im Nacken und sogar Fieber und Apathie hervor. Da keines der 31 Pferde nach der Behandlung mit Equity® wieder zur Zucht eingesetzt wurde, kann über die zukünftige Fertilität der Tiere keine Aussage gemacht werden.

## Dank

Herzliches Dankeschön an die praktizierenden Tierärzte, die sich freundlicherweise die Zeit für die Untersuchungen der betroffenen Tiere und das Ausfüllen des Fragebogens nahmen.

### Utilisation d'un vaccin GnRH chez la jument et l'étalon dans le but d'influencer un comportement non souhaité: étude rétrospective de 31 cas

Le but de cette étude était d'étudier l'effet d'un vaccin GnRH (Equity®) sur le comportement et la fonction des gonades de chevaux présentant un comportement non souhaité. On a enregistré, sur la base d'un questionnaire, la raison du traitement et comparé les résultats des examens cliniques, par palpation et échographie transrectale ainsi que le comportement et l'apparition d'effets secondaires indésirables chez 21 juments et 10 étalons avant et après une double application de vaccin GnRH. Dans 84 % des cas, une diminution du comportement non souhaité a été constatée. Chez les juments, les ovaires étaient, après la vaccination, significativement plus petits qu'avant ( $p \leq 0.05$ ). De même, la taille du plus gros et du deuxième plus gros follicule sur les ovaires, était plus petite après la vaccination ( $p \leq 0.05$ ). Chez les étalons, on n'a pas pu constater de différence significative dans la taille des testicules avant et après la vaccination. L'étude a démontré que le vaccin est bien toléré. On a constaté des réactions locales de faible importance dans seulement 6.5 % des cas.

### Uso di un vaccino GnRH nelle giumente e negli stalloni per evitare dei comportamenti indesiderati: studio retrospettivo su 31 casi

L'obiettivo di questo studio era di esaminare l'effetto di un vaccino, GnRH (Equity®), sul comportamento e sulla funzione delle gonadi dei cavalli con un comportamento indesiderato. Con l'aiuto di un questionario è stato richiesto il motivo per il trattamento e i risultati degli esami clinici, della palpazione rettale e dell'ecografia inoltre sono stati paragonati il comportamento di 21 giumente e 10 stalloni prima e dopo le due somministrazioni del vaccino GnRH e infine si è documentata la comparsa di effetti secondari indesiderati. Nell'84 % dei casi si è potuto constatare una diminuzione del comportamento disturbatore. Nelle giumente, le ovaie dopo la vaccinazione erano significativamente più piccole rispetto a prima della vaccinazione ( $p \leq 0.05$ ). Anche il più grande e il secondo più grande follicolo sulle ovaie erano particolarmente più piccoli dopo la vaccinazione ( $p \leq 0.05$ ). Tra gli stalloni, non è stata osservata alcuna differenza significativa in termini di dimensioni del testicolo prima e dopo la vaccinazione. Lo studio ha mostrato che il vaccino è ben tollerato dai cavalli. Solo nel 6.5 % dei casi si sono verificati minimi effetti collaterali locali.

## Literatur

Bertschinger H. J., Trigg T. E., Jöchle W., Human A.: Induction of contraception in some African wild carnivores by downregulation of LH and FSH secretion using the GnRH analogue deslorelin. *Reprod. Suppl.* 2002, 60: 41–52.

Guillaume D., Bruneau B., Briant C.: Comparison of the effects of two GnRH antagonists on LH and FSH secretion, follicular growth and ovulation in the mare. *Reprod. Nutr. Dev.* 2002, 42: 251–264.

Huirne J. A. F., Lambalk C. B.: Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* 2001, 358: 1793–1803.

Imboden I., Janett F., Burger D., Crowe M. A., Hässig M., Thun R.: Influence of immunization against GnRH on reproductive cyclicity and estrous behavior in the mare. *Theriogenology* 2006, 66: 1866–1875.

Nie G. J., Johnson K. E., Braden T. D., Wenzel J. G. W.: Use of an intra-uterine glass ball protocol to extend luteal function in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 2003, 23: 266–273.

Stout T. A., Colenbrander B.: Suppressing reproductive activity in horses using GnRH vaccines, antagonists or agonists. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, 82–83: 633–643.

Stout T. A.: Modulating reproductive activity in stallions: A review. *Anim. Reprod. Sci.* 2005, 89: 93–103.

Stump R.: Auswirkungen einer GnRH-Vakzine (Equity®) auf Hodenfunktion und Sexualverhalten beim Hengst. *Dissertation*, Universität Zürich, 2008.

Thompson D. L.: Immunization against GnRH in male species (comparative aspects). *Anim. Reprod. Sci.* 2000, 60–61: 459–469.

Watson E. D., Pedersen H. G., Thomson S. R., Fraser H. M.: Control of follicular development and luteal function in the mare: effects of a GnRH antagonist. *Theriogenology* 2000, 54: 599–609.

## Korrespondenz

Ulrich Bleul  
Klinik für Fortpflanzungsmedizin  
Winterthurerstrasse 260  
CH-8057 Zürich  
Fax: + 41 (0)44 63 58 904  
E-Mail: ubleul@vetclinics.uzh.ch

Manuskripteingang: 5. Mai 2009

Angenommen: 3. Februar 2010