

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Hormonální terapie v reprodukci klisen

Bakalářská práce

Autor práce: Hedvika Řimnáčová

Vedoucí práce: Jiří Šichtař

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Hormonální terapie v reprodukci klisen" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2014

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Jiřímu Šichtaři, Ph.D. za cenné rady a připomínky při tvorbě této bakalářské práce.

Hormonální terapie v reprodukci klisen

Souhrn

Tato bakalářská práce je tematicky zaměřena na využití hormonálních terapií pro manipulaci s reprodukcí klisen. Práce začíná popisem reprodukční soustavy klisny, dále seznamuje s neurohumorálním řízením pohlavní aktivity a s fyziologií pohlavních cyklů klisny.

Část „Hormonální terapie u klisen“ popisuje účinnost a použití: prostaglandinů, lidského choriového gonadotropinů (hCG), gonadotropin uvolňujícího hormonu (GnRH), progestinů, oxytocinu a FSH přípravků. Každý z těchto hormonů má specifické vlastnosti, kterých lze využít pro řízení a manipulaci s estrálním cyklem klisen, udržení březosti, navození porodů či vyvolání potratů při nechtěnné a abnormální březosti. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ způsobuje luteolýzu žlutého tělíska a lze ho využít pro ukončení luteální fáze cyklu anebo pro ukončení nechtěné březosti. Prostaglandin E_2 stimuluje elektromyografickou aktivitu vejcovodu a tím usnadňuje průchod gamet nebo embryí vejcovodem. Lidský choriový gonadotropin spolehlivě navozuje ovulaci do 48 hodin u klisen, v jejichž vaječnících se nachází folikul o velikosti 35 mm. Avšak někteří autoři uvádějí, že účinnost hCG se snižuje, pokud je podáván v daném připouštěcím období vícekrát. GnRH navozuje ovulaci za stejných podmínek a s podobnou účinností jako hCG. Nicméně některé GnRH přípravky mohou způsobit prodloužení interovulačního intervalu. Progestiny se nejčastěji používají k potlačení říje a říjového chování, jsou nezbytné pro udržení březosti a tlumí děložní kontrakce. Z těchto vlastností lze těžit při léčbě klisen s luteální insuficiencí nebo klisen s rizikovou březostí. Oxytocin způsobuje děložní kontrakce, čehož se využívá pro navozování porodů, pro odstranění děložní tekutiny a zadržovaných plodových obalů. Vposlední době se studuje jeho vliv na potlačení luteolýzy a na prodloužení životnosti žlutého tělíska. FSH přípravky stimulují růst folikulů a využívají se pro navození první ovulace roku a pro navození superovulace. Avšak vyvolání superovulace u klisen je velmi problematické především z důvodů anatomického uspořádání vaječníků klisen.

Klíčová slova: klisna, estrální cyklus, ovulace, hormonální terapie, superovulace

Hormonal therapy in reproduction of mares

Summary

This bachelor thesis is focused on the use of hormonal therapy in reproduction of mares. The beginning of this paper deals with mare's reproductive system as well as with neurohumoral control of sexual activity and physiology of estrous cycle, folliculogenesis and oogenesis.

The main part of this paper (Hormonal therapy in reproduction of mares) describes an efficacy and use of: prostaglandins, human chorionic gonadotropin, gonadotropin-releasing hormone, progestins, oxytocins, and follicle-stimulating agents. Each of these hormones has specific characteristics, which could be used for control and manipulation with mare's estrous cycle, for maintain pregnancy, for inducing of parturition and for inducing abortion of the equine pregnancy. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ causes luteolysis of corpus luteum. It has been used in equine stud medicine to stop the luteal phase of the estrous cycle and terminate early pregnancy. Prostaglandin E_2 stimulates the electromyographic activity of the oviduct and improves transport of gametes or embryos through a fallopian tube. Human chorionic gonadotropin reliably induces ovulation when a follicle 35 mm in diameter is detected. Some authors suggest that the repeated dosage with hCG causes decrease of its efficiency during the breeding season. GnRH induces ovulation in the same conditions and with similar efficiency as hCG. However, some GnRH preparations have been associated with prolonged interovulatory intervals. Progestins are frequently used to suppress estrus and estrual behaviour. They have been used to maintain pregnancy in mares with luteal insufficiency. High – risk pregnant mares could be treated with progestins to prevent abortions, because of its ability to suppress uterine contractions. Oxytocin stimulates uterine contractions. Its clinical uses include: induce parturition, removal uterine fluid and loosen retained fetal membranes. Recently it has been studied for its effect on prolonging the life span of the corpus luteum to prevent estrual behaviour. FSH agents stimulate the growth of follicles. They are also used for the induction of the first ovulation and to induce superovulation. Nevertheless, induction of superovulation in mares is highly questionable, primarily due to the anatomical organization of mare's ovaries.

Keywords: mare, estrous cycle, ovulation, hormonal therapy, superovulation

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Přehled řešené problematiky	3
3.1	Samičí pohlavní soustava	3
3.1.1	Zevní pohlavní orgány.....	3
3.1.2	Vnitřní pohlavní orgány.....	4
3.2	Řízení pohlavní činnosti	7
3.2.1	Neurohumorální řízení.....	7
3.2.2	Principy řízení, zpětná vazba.....	9
3.2.3	Mozková kůra.....	10
3.2.4	Limbický systém.....	10
3.2.5	Retikulární formace.....	10
3.2.6	Šišinka.....	10
3.2.7	Hypotalamus.....	11
3.2.8	Hypofýza.....	11
3.2.9	Produkce ovariálních a uterinních hormonů.....	13
3.3	Pohlavní aktivita	16
3.3.1	Folikulogeneze a oogeneze.....	16
3.3.2	Sezónnost klisny.....	21
3.3.3	Puberta.....	21
3.3.4	Anestrus.....	21
3.3.5	Jarní přechodné období.....	21
3.3.6	Připouštěcí období.....	22
3.3.7	Podzimní přechodné období.....	22
3.3.8	Estrální cyklus.....	22
3.3.9	Fyziologie estrálního cyklu.....	23
3.4	Hormonální terapie u klisen	24
3.4.1	Prostaglandin F ₂ Alfa.....	24
3.4.2	Léčba prostaglandinem E ₂	26
3.4.3	Lidský choriový gonadotropin (hCG).....	26
3.4.4	GnRH a jeho analogy.....	28

3.4.5	Progesteron a progestiny.....	30
3.4.6	Léčba oxytocinem.....	36
3.4.7	Využití EPE, eFSH a reFSH v léčbě klisen a při navození superovulace	39
4	Závěr	43
5	Citovaná literatura.....	44

1 Úvod

Od doby, kdy byl kůň domestikovaný, se stal díky svým jedinečným vlastnostem nedílnou součástí života člověka. Sloužil mu při práci v zemědělství, umožnil mu překonávat stakilometrové vzdálenosti a doprovázel ho v bojích. S nástupem průmyslové revoluce a technického pokroku v 18. století začíná být kůň nahrazován novodobými stroji. Může se zdát, že v životě moderního člověka pro koně není místo, opak je však pravdou. Dnes koně slouží k zábavě a sportovnímu vyžití člověka v různých jezdeckých disciplínách. Reprodukce a dobrá plodnost je nedílnou součástí každého chovu koní už od samého počátku chovatelství.

V současné době je na reprodukci, a tím na chovné klisny i hřebce, vyvíjen velký tlak. Chovatelé plnokrevníků chtějí mít své klisny březí již v únoru, aby se hříbata rodila na začátku následujícího kalendářního roku. Časněji rozená hříbata jsou totiž konkurenceschopnější při srovnávacích dostihových závodech. Nicméně klisna je sezónně polyestrická a takto raná březost není bez použití některé z terapií možná. Velmi častou metodou, jak stimulovat růst folikulů a navodit tak první ovulaci roku, je umělé prodlužování světelné fáze dne. Avšak ne u všech klisen tato terapie navodí ovulaci, nehledě na to, že management této terapie je velmi náročný. Dobrým způsobem jak ovlivnit nejenom vývin folikulů a nástup první ovulace, ale i jak mít celý estrální cyklus klisny plně pod kontrolou, je použití hormonálních terapií. Estrální synchronizace klisen usnadňuje chovateli inseminaci, kterou díky tomu může provést u všech najednou. Pro úspěšný embryotransfer musejí být příjemkyně s dárkyní dokonale sesynchronizované, čehož docílíme jen použitím hormonů. Dalším procesem, který se často neobejde bez hormonální terapie, je inseminace klisen zmrazeným spermatem. Hormonální terapie se dají využít nejen na podporu a usnadnění reprodukce, ale i na potlačení říje a s tím spojeným říjovým chováním. Říjící klisna se totiž často nesoustředí na výkon a je neklidná. Takové chování je kontraproduktivní, pokud je klisna v tréninku nebo se účastní závodů. Hormonální terapie mohou být dále nápomocné při prevenci časných embryonálních ztrát, rizikovém těhotenství, navození porodů, ale i při potratech.

2 Cíl práce

Cílem práce je vytvořit ucelenou literární rešerši na téma hormonální terapie v reprodukci klisen.

3 Přehled řešené problematiky

3.1 Samičí pohlavní soustava

Reprodukční orgány klisny se rozdělují na dvě základní skupiny. Zevní pohlavní orgány (vulva, poštváček, poševní předsín), které chrání náchylnější a citlivější vnitřní orgány (pochvu, dělohu, vejcovody, vaječníky) (Davies-Morel, 2008).

3.1.1 Zevní pohlavní orgány

Vulva

Vulva je společné zakončení močových a pohlavních vývodných cest. Spolu s poštváčkem se jedná o nejkaudálnější část vývodných pohlavních cest. Je zodpovědná za ochranu dělohy proti různým zdrojům infekce (Samper et al. 2007).

Je tvořena dvěma velkými stydkými pysky, které ohraničují vertikálně postavenou stydkou šterbinu. Stydké pysky jsou spojeny dorzální a ventrální spojkou (*commissurae*). U klisen je dorzální spojka ostrá a ventrální zaoblená. Stydké pysky jsou vně kryty kůží s aromatickými a mazovými žlázami. Jejich stěna je tvořena tukovým, elastickým a kolagenním vazivem s trámci hladké svaloviny (Červený, 2011).

Poštváček (*clitoris*)

Poštváček je uložen ve ventrální stěně poševní předsíně. Má podobnou stavbu jako samčí penis. Tělo poštváčku je tvořeno dvěma rameny odstupujícími od oblouku sedací kosti a kaudálně je zakončeno žaludem poštváčku. Žalud poštváčku proniká až k ventrální komisuře vulvy, kde je skryt v ochraném vaku, předkožce poštváčku. Základem žaludu jsou dvě topořivá tělesa poštváčku, která přecházejí do těla poštváčku. Sval poštváčku společně se svěračem vulvy jsou zodpovědné za tzv. blýskání, což je jeden z projevů říjící klisny (Samper et al. 2007; Červený, 2011).

Poševní předsíň

Poševní předsíň je kaudálním pokračováním pochvy. Nachází se v mediální části pánevní dutiny a sahá až po stydké pysky. Na rozhraní pochvy a předsíně se u mladých klisen nachází slizniční řasa zvaná panenská blána (*hymen*). Na dně poševní předsíně ústí konečná část vývodných močových cest. Poševní předsíň se tak stává společnou částí pohlavních a močových vývodných cest. Stěna poševní předsíně obsahuje četné množství vestibulárních žláz. Sekret těchto žláz umožňuje snadnější průnik penisu při kopulaci a zvlhčuje porodní cesty. Stěna předsíně je výrazně krvená. Žíly podslizniční laterální stěny tvoří kavernózní tkáň, což je obdoba spongiózní tkáně v penisu samce (Samper et al. 2007; Červený, 2011).

3.1.2 Vnitřní pohlavní orgány

Vnitřní pohlavní orgány představují párový vaječník s funkcí samičích gonád a produkcí hormonů, dále pak párový vejcovod a děloha. Ve vaječnicích dozrávají vajíčka, která se při ovulaci uvolňují a jsou zachycena vejcovody, ve kterých mohou být oplodněna. V děloze se oplodněná vajíčka (zygoty) uhnízdí a nastává vývoj nového jedince (Červený, 2011).

Pochva – (*vagina*)

Pochva je dlouhá, tenkostěnná trubice roztažitelná do délky a šířky. Tato vlastnost je důležitá nejen při kopulaci, ale i při porodu. Pochva kraniálně navazuje na děložní krček a kaudálně na poševní předsíň. Je uložena v pánevní dutině mezi konečníkem (dorzálně) a močovou trubicí (ventrálně). U děložního krčku ji pokrývá peritoneum, z větší části je však kryta adventicií. Tato vaziva fixují vaginu v pánevní dutině.

Stěna pochvy se skládá ze tří vrstev. Na povrchu jsou to již zmiňované peritoneum a adventitia. *Tunica muscularis* je střední vrstva hladké svaloviny pochvy, uspořádaná do zevní podélné a vnitřní kruhové vrstvy. Sliznice je kryta vrstevnatým dláždicovým epitelem, jehož vzhled je ovlivněn fází estrálního cyklu. Poševní sliznice neobsahuje žlázy, je vlhčena sekretem ze žláz děložního krčku (Bergfelt, 2009; Červený, 2011).

Děložní krček (*cervix uteri*)

Děložní krček je svalový svěrač 5 – 8 cm dlouhý a 2 – 5 cm široký. Je to nejkaudálnější oddíl dělohy, který přechází až do pochvy v podobě děložního čípku. Středem děložního krčku prochází kanálek děložního krčku, který začíná v dutině děložního těla a otevírá se do pochvy. Stěna děložního krčku je tvořena tlustou vrstvou hladké svaloviny, která je trvale stažena. Lumen děložního krčku vystylají a často i uzavírají slizniční řasy a hustý hlen. Lumen a stěna děložního krčku tak společně tvoří dokonalou bariéru proti vstupu infekce do dělohy. Stah, velikost a barva děložního krčku jsou řízeny hormonálními změnami, proto se tyto faktory v průběhu pohlavního cyklu mění (Davies-Morel, 2008; Červený, 2011).

Děloha (*uterus*)

Děloha je dutý svalový orgán, ve kterém se vyvíjí a je chráněn zárodek. Klisny mají stejně jako jiní domácí savci dělohu dvourohou. Skládá se z děložního těla a dvou děložních rohů. Tělo dělohy u nebřezích klisen je 18 – 20 cm dlouhé a 8 – 12cm široké. Rohy dělohy jsou pak o poznání delší (20 – 25 cm) a užší (1 – 6 cm) (Bergfelt, 2009). Tělo a rohy dělohy leží v břišní dutině. Děložní krček, kaudální pokračování těla dělohy, pak v pánevní dutině. Povrch dělohy je kryt perimetriem, které je tvořené tenkou vazivovou vrstvou a pobříšnicí. Perimetrium pak přechází v závěs dělohy zvaný mezometrium, kaudálně přecházející v široký děložní vaz. Tento vaz tak představuje poslední společnou část závěsu vaječníků, vejcovodů a dělohy.

Stěnu dělohy tvoří myometrium, které obsahuje kromě hladké svaloviny také elastické vazivo, nervy a cévy. Podélná hladká svalovina tvoří tenkou povrchovou vrstvu a relativně silná kruhová svalovina tvoří vnitřní vrstvu. Mezi oběma vrstvami je zřetelná vazivová vrstva bohatě protkaná cévami a nervy (Červený, 2011). Myometrium je vrstva, která umožňuje značné rozpětí dělohy během březosti a zároveň poskytuje sílu pro následné vypuzení fetu. Lumen dělohy je vystlán silnou slizniční vrstvou, uspořádanou do podélných řas, takzvaným endometriem. Endometrium je světle hnědožluté barvy a narůžovělé (Bergfelt, 2009). Je kryto cylindrickým epitelem. Na povrch děložní sliznice ústí rozvětvené tubulární žlázy. Činnost těchto žláz ovlivňují cyklické hormonální změny (Červený, 2011).

Vejcovod

Vejcovod je párový orgán, který je uložen mezi ovariem a dělohou. Po ovulaci zachycuje a odvádí vajíčka do dělohy. Vejcovod je také místem, kde dochází k oplození vajíčka. Začíná otvůrkem na dně nálevky vejcovodu a končí vyústěním do vrcholu děložního rohu. Jde o úzkou klikatou trubici dlouhou 20 – 30 cm. Sestává se ze tří oddílů. Prvním je široká nálevka trychtýřovitého tvaru, která je vystlaná slizničními třásněmi. Na ni navazuje rozšířený úsek *ampulla tubae uterinae* a konečný zúžený úsek *isthmus tubae uterinae*. Některé třásně, které tvoří okraj nálevky vejcovodu, přirůstají ke kraniálnímu pólu vaječníku, kde tvoří kraniální okraj ovulační jamky. Ampule vejcovodu se postupně zužuje v isthmus a konec vejcovodu vrůstá do stěny děložního rohu jako tzv. děložní část vejcovodu, která vyčnívá jako nízká papila do děložní dutiny. Stěna vejcovodu je velmi podobná stěně dělohy. Sliznice tvoří četné podélné řasy. V ampule jsou nejpočetnější a dělí se na primární, sekundární a terciární. Sliznici kryje jedno i vícevrstevnatý cylindrický epitel. Epitel je jednak s řasinkami nebo bez řasinek, což jsou buňky sekreční. Sliznice ampule poskytuje ideální prostředí pro oplození vajíčka, ke kterému zde dochází. Isthmus, u něhož dominuje spíše svalová vrstva a cylindrický epitel, poskytuje prostředí, které pohání spermie do místa oplození a následně oplozená vajíčka do dělohy (Davies-Morel, 2008; Červený, 2011).

Děložní část vejcovodu

Děložní část vejcovodu odděluje děložní roh od vejcovodu. Jde o svěrač, který je tvořen kruhovou svalovinou myometria vejcovodu. Oplození vajíčka probíhá ve vejcovodu a pouze oplozená vajíčka mohou projít touto částí do dělohy. Neoplozená vajíčka zůstávají v isthmu, kde postupně zanikají (Davies-Morel, 2008).

Vaječník (*ovarium*)

Vaječník je párový orgán, který produkuje gamety a pohlavní hormony. U klisny má ledvinovitý tvar a je 6 – 10 cm dlouhý. Na dorzální konvexní okraj se upíná peritoneální závěs (*mesovarium*), který fixuje vaječník na strop břišní dutiny. K vaječníku tudy pronikají nervy a cévy. Místo vstupu cév a nervů do vaječníku označujeme jako vaječnickovou branku. Ventrálně postavený okraj vaječníku je u dospělé klisny prohlouben ovulační jamkou (*fossa ovarii*). Na řezu vaječníku se rozlišuje povrchově uložená dřev (*medulla ovarii*) a hlouběji

uložená kůra (*cortex ovarii*), která se nachází hlavně v oblasti ovulační jamky i v centru vaječníku. Skelet vaječníku tvoří vazivové stroma, které na povrchu vaječníku přechází v pevný vazivový obal (*tunica albuginea*). Ve vazivovém stromatu kůry se nachází vaječnickové folikuly a aktivní buňky, které se účastní vývoje vaječnickových folikulů a některé z nich vylučují pohlavní hormony.

Dřeň je prostoupena nervy a cévami. U pohlavně dospělých klisen se v kůře vyskytují vaječnickové folikuly v různém stupni zralosti. Rozlišujeme primordiální, primární, sekundární a terciární vaječnickové folikuly (Davies-Morel, 2008; Červený, 2011).

3.2 Řízení pohlavní činnosti

U savců existují dva systémy, které se podílejí na regulaci reprodukčních procesů. Jde o endokrinní a nervovou soustavu, které společně zajišťují adaptaci organismu na vlivy vnějšího prostředí a zachování homeostázy organismu (Ptaszynska, 2003; Sastry, 2008). Podněty z vnějšího prostředí jsou registrovány smysly a dále přenášeny do mozku. Senzory vnímající vnější prostředí jsou různé povahy. Oči zprostředkovávají pohled na zvíře stejného druhu, nos zachycuje pohlavní pachy a hmat registruje další informace z vnějšího prostředí. Získané informace jsou pak zrakovým, čichovým a dalšími smyslovými nervy přenášeny dále do mozku. Mozek tyto informace zpracovává, a když je nezbytné na daný podmět reagovat, vysílá nervové vzruchy přes nervová vlákna až do cílového orgánu (Ptaszynska, 2003).

Hlavní spolupráce nervové a endokrinní soustavy spočívá v regulační funkci hypotalamu při sekreci hormonů hypofýzy, dále v kombinaci nervové a endokrinní odpovědi na různé stimuly a nakonec v kontrole endokrinní sekrece nervovou soustavou. Dokonalá souhra těchto dvou systémů je nezbytná pro uskutečnění kaskády dějů, které nakonec vedou k úspěšnému odchovu zdravého jedince (Ptaszynska, 2003; Sastry, 2008).

3.2.1 Neurohumorální řízení

Hormon může být definován jako chemická látka, produkovaná žlázou nebo tělními tkáněmi, která způsobuje specifickou reakci v hormonálně citlivých tkáních. Činnost hormonálního systému lze rozdělit podle toho, jakým způsobem se hormon dostává k cílovým buňkám. Apokrinní přenos, buňka svými produkty působí sama na sebe (Ptaszynska, 2003). Při parakrinním přenosu hormony difundují přes tkáňový mok z buňky původní do buňky cílové, přičemž takto distribuované hormony mají vliv jen na sousední buňky a orgány. Endokrinní hormony jsou přenášeny ke vzdálenějším cílům krví. Například gonadotropin vylučovaný

v hypofýze stimuluje produkci ovariálních steroidů v buňkách vaječníku. Při exokrinním přenosu jsou hormony nebo sekreční produkty produkované žlázami ven z těla. Jedná se především o hormony vylučované do střeva. Co se týče reprodukční soustavy, jsou to například mléčné žlázy u samic nebo prostata u samce. Nejvíce informací je však přenášeno krví, tedy endokrinním přenosem (Ptaszynska, 2003; Morresey, 2011a).

Po dosažení cílové buňky hormon vyvolává reakci. Pro tento účel má cílová buňka speciální hormonální receptor, na který se hormon naváže. Tento receptor je tvořen unikátní molekulovou strukturou s vysokou afinitou pro konkrétní hormon. Nachází se buď vně, nebo uvnitř cílové buňky. Navázáním hormonu na receptor dochází k předání informace, která buď aktivuje, nebo inaktivuje enzymy v cílové buňce. Hormonální receptory mají dvě hlavní funkce. Rozpoznat hormon v cílové buňce a přeměnit informaci nesenou hormonem ve specifickou odpověď buňky. Mnoho receptorů potřebuje druhého posla (second messenger) pro předání informace buňce. Jedni z nejčastěji se vyskytujících druhých poslů jsou cyklický AMP, cGMP či kalciové kationty (Ptaszynska, 2003).

Steroidní hormony

Steroidní hormony jsou odvozeny od cholesterolu. Zahrnují produkty kůry nadledvinek (glukokortikoidy, mineralokortikoidy a adrenalin), pohlavních žláz (estrogen, progesteron, testosteron) a vitamin D. Všechny tyto hormony mají stejný biochemický základ (steran). Cholesterol je pro syntézu steroidních hormonů nezbytný. Nevyžaduje žádné genetické kódování, ale je zapotřebí přítomnost specifického enzymu, který přeměňuje cholesterol v odpovídající steroid. Existují různé sekreční buňky sekretující steroidní hormony, které také sekretují odlišné enzymy tak, aby z cholesterolu vznikl právě daný konkrétní steroid. Steroidy jsou sekretovány buňkami s malým nebo žádným skladovacím systémem. Steroidy se většinou vážají na plazmatický protein (albumin) s nízkou afinitou. Steroidy jsou odbourávány a vylučovány v moči nebo žluči (Morresey, 2011a).

Peptidové a proteinové hormony

Peptidové a proteinové hormony jsou co do velikosti a složitosti struktur velmi variabilní. Mohou být tvořeny třemi aminokyselinami, či se skládat z velkého množství podjednotek glykoproteinů. Příkladem jsou gonadotropin uvolňující hormon (GnRH), gonadotropiny, prolaktin a oxytocin. Tyto hormony jsou syntetizované v endoplazmatickém retikulu. Hormony jsou pak dále transportovány do Golgiho aparátu, kde jsou dále štěpeny a baleny do sekrečních váčků. Peptidové a proteinové hormony jsou z buňky vylučovány dvěma způsoby. Častějším způsobem je, že se hormony uvolní do okolí buňky po její určité stimulaci, která způsobí prasknutí váčků, ve kterých se hormony v buňce hromadí. Tento způsob uchování a uvolňování hormonů umožňuje buňce uvolnit velké množství hormonů za poměrně krátkou dobu. Méně častým způsobem uvolňování hormonů z buňky je uvolnění hormonů přímo z váčků, kde byly předtím syntetizovány. V buňce se hormony neukládají a poločas rozpadu takto vyloučených hormonů je jen pár minut. (Morresey, 2011a)

3.2.2 Principy řízení, zpětná vazba

Základem endokrinních regulací je mechanismus zpětné vazby. Zpětná vazba může být negativní, kdy koncentrace daného hormonu v krvi snižuje jeho další produkci ve žláze přímo nebo prostřednictvím kaskády dějů. Pokud sekrece daného hormonu stimuluje jeho další sekreci, jedná se o pozitivní zpětnou vazbu.

Nejjednodušší uspořádání má jednoduchá negativní zpětná vazba, při které je produkce hormonu regulována jeho koncentrací v periferní krvi. Složitá negativní vazba je víceúrovňová a je základem řízení periferních endokrinních žláz hypotalamo-hypofyzárním systémem (Kittnar a kol., 2011).

3.2.3 Mozková kůra

Mozková kůra se nachází na povrchu mozkových hemisfér a mozečku. Je tvořena šedou mozkovou hmotou. Šedá mozková hmota je tvořena převážně těly neuronů a minimem axonových vláken. Mozková kůra přijímá informace z podkorových částí mozku, informace následně zpracovává a vyhodnocuje, nakonec vydá příkaz pro výkonné struktury (Shipp, 2007).

3.2.4 Limbický systém

Limbický systém je složitý systém vzájemně propojených korových a podkorových úseků mozku nacházejících se v čelním a temenním mozkovém laloku, dále pak v thalamu, hypotalamu a ve středním mozku. Je ústředním místem autonomního systému. Limbický systém se podílí na utváření emocionálního chování, je spojen s centry, kontrolující agresivní chování a neposlední řadě souvisí se sexuálním a rozmnožovacím chováním savců (Donald a Broom, 2007).

3.2.5 Retikulární formace

Retikulární formace je síť vzájemně propojených neuronů, prostupující přes mozkový kmen, thalamus a pokračuje až do hypotalamu. Je centrem řízení vegetativních funkcí (Hodos, 2005).

3.2.6 Šišinka

Šišinka je nepárová žláza s vnitřní sekrecí, zavěšená na epitalamu poblíž čtvrté mozkové komory. Má hruškový tvar a u koně dosahuje délky 13-15 mm. Její povrch kryje vazivové pouzdro, které v podobě přepážek vbíhá dovnitř šišinky a dělí ji tak na jednotlivé lalůčky. Lalůčky jsou tvořené gliovými a pineálními buňkami, mezi nimiž jsou četná nervová vlákna a krevní cévy. V šišince vzniká hormon melatonin, který má u savců antiestrogenní a antiandrogenní účinky a brzdí tak pohlavní činnost. Produkce melatoninu je provokována světelným drážděním sítnice a tak se množství vyloučeného hormonu mění v závislosti na délce a intenzitě denního světla. Šišinka tak díky tomu reaguje na kolísání intenzity světla v průběhu ročních období a během dne a reguluje tak sezónní a denní aktivitu gonád (Červený, 2011).

Melatonin

Melatonin je hormon 5methoxy-N-acetyltryptamin a je produkován v šišince. Je zodpovědný za cirkadiánní rytmy i za regulaci celoročních rytmů. Melatonin řídí nástup reprodukčního období u polyestrických zvířat, tedy i u koní. Jeho produkce je nejvyšší během tmy. Melatonin inhibuje produkci GnRH a tím nepřímo ovlivňuje produkci gonadotropních hormonů i folikulogenezi (Pilliner, 2004; Sharp, 2011a).

3.2.7 Hypotalamus

Hypotalamus je uložen v části mezimozku. Jde o koordinační centrum činnosti autonomní nervové soustavy a žláz s vnitřní sekrecí. Je neurony napojen na limbický systém. Dále je napojen na retikulární formaci a přes talamus na mozkovou kůru. V hypotalamu jsou některá jádra složená z neuronů s neurosekreční schopností. Jejich buňky vylučují buď již plnohodnotné hormony, nebo látky, které regulují sekreční aktivitu buněk adenohipofýzy. Tyto nervové buňky spolu s krevním oběhem v hypofýze představují tzv. hypotalamo-hipofyzární komplex. Podle funkce, kterou neurosekrety hypotalamu zajišťují, rozdělujeme hypotalamo-hipofyzární komplex na hypotalamo-adenohypofyzární komplex, který řídí aktivitu buněk adenohipofýzy prostřednictvím sekretů stativů a liberinů a na hypotalamo-neurohipofyzální komplex, který zajišťuje sekreci a transport hormonů (oxytocin a vasopresin) z hypotalamu do neurohipofýzy (Červený, 2011). Hypotalamus je také samozřejmě součástí hypotalamo-hipofýzo-ovariální osy (Cheng, 2008).

Gonadotropin uvolňující hormon (GnRH)

GnRH (gonadotropin-releasing hormone) se syntetizuje v hypotalamu odkud je žilním portálním systémem dodáván do adenohipofýzy, kde ovlivňuje syntézu gonadotropních hormonů (Cheng, 2008). GnRH je secernován jako odpověď na nízkou hladinu těchto hormonů v krvi (Alexander a Irvine, 2011).

3.2.8 Hypofýza

Hypofýza má klíčové postavení mezi žlázami s vnitřní sekrecí. Svými hormony totiž ovlivňuje a řídí jejich endokrinní aktivitu. Je to tělísko tvaru elipsoidu zavěšené pomocí stopky na bázi mezimozku. Už její poloha potvrzuje její významnou roli ve zprostředkovávání vztahů mezi nervovou a hormonální regulací. Je bezprostředně funkčně závislá na hypotalamu, který reguluje její činnost pomocí liberinů a statinů. Hypofýza je

orgán se dvěma funkčně odlišnými oddíly. Skládá se ze dvou vývojově, funkčně i morfologicky odlišných částí. Z předního žlázového laloku ektodermálního původu, adenohypofýzy, na níž z dorzální a kaudální strany přiléhá neurohypofýza endodermálního původu (Červený, 2011).

Adenohypofýza

Skládá se z trámců žlázoových buněk, mezi nimiž probíhá velmi bohatá síť sinusoidních krevních kapilár. Buněčné trámce tvoří buňky, které se podle barvitelnosti dělí do tří skupin. Acidofilní buňky jsou nejpočetnější (až 50%), vylučují růstový hormon (STH) a pravděpodobně i prolaktin (LTH). Bazofilní buňky (30%) vylučují gonadotropní hormony, dále tyrotropní hormon (TSH) a kortikotropní hormon (CTH). Třetí skupinu tvoří chromofóbní buňky, jejichž funkce není dosud známá. Přímý vztah k reprodukci mají gonadotropní hormony a prolaktin (Červený, 2011).

Folikulostimulační hormon a luteinizační hormon

Folikulostimulační hormon (FSH) a luteinizační hormon (LH) jsou glykoproteiny, vylučované adenohypofýzou na základě její předchozí stimulace GnRH. Jsou si strukturálně podobné, společně působí na stejný cílový orgán (vaječníky). Během ovariálního cyklu klisny se střídají období, kdy převládá sekrece FSH, a naopak období, kdy převládá sekrece LH. Vylučování těchto hormonů reguluje negativní zpětnou vazbou progesteron (Davies-Morel, 2008; Alexander a Irvine, 2011).

Folikulotropin (FSH)

FSH má na vaječníky mnohočetný účinek. Stimuluje nejenom buněčnou proliferaci, růst, a diferenciaci buněk, ale také řídí buněčnou syntézu pohlavních hormonů a jejich následné vylučování. Do krevního oběhu je uvolňován dvoufázově (Davies-Morel, 2008).

Luteinizační hormon (LH)

Zvýšená hladina LH těsně před ovulací způsobuje prasknutí Graafova folikulu a vylití vajíčka do vejcovodu. Další jeho funkcí je tvorba žlutého tělíska. LH tak nepřímo působí na tvorbu a vylučování progesteronu, který se tvoří právě ve žlutém tělisku (Alexander a Irvine, 2011).

Prolaktin

Prolaktin je polypeptid tvořený adenohipofýzou. Hypotalamus snižuje sekreci prolaktinu v adenohipofýze pomocí dopaminu, který se do adenohipofýzy dostává portálním oběhem ve stopce hypofýzy. Množství prolaktinu v krvi je pozitivně ovlivňováno délkou denního světla a jeho množství je zvýšené během připouštěcího období. U klisen tak délka fotoperiody hraje významnou roli v řízení množství vyloučeného prolaktinu (Morresey, 2011). Prolaktin se účastní laktace. Svou roli má i při ovulaci, avšak funkce prolaktinu u koní je dosud málo objasněna (Bliss, 2012).

Neurohypofýza

Neurohypofýza tvoří s hypotalamem jednotný funkční celek. Skládá se ze specifických gliových buněk s podpůrnou funkcí. Mezi jejich výběžky prochází bohatá síť krevních kapilár a axony neurosekrečních buněk hypotalamu. Soubory těchto axonů představují neurosekretorické dráhy. Těmito dráhami se dostávají neurosekrety (oxytocin a vazopresin) z hypotalamu do neurohypofýzy, kde se shromažďují. Odtud jsou krevními kapilárami vstřebávány do krevního oběhu (Červený, 2011).

Oxytocin

Oxytocin je peptid. Je produkován v hypotalamu, odkud je axony transportován do neurohypofýzy, kde se shromažďuje. Způsobuje kontraktilitu myoepitelových buněk mléčných žláz a kontraktilitu hladké svaloviny dělohy (Morresey, 2011b). Oxytocin podněcuje děložní kontrakce, které hrají klíčovou roli během porodů. Děložní kontrakce vzniklé během estru po inseminaci, napomáhají transportu spermií do vejcovodu (LeBlanc, 2011).

3.2.9 Produkce ovariálních a uterinních hormonů

Produkce steroidních hormonů (estrogenů a progesteronů), inhibinu, activinu, prostaglandinu a relaxinu je řízena hypotalamo-hipofyzárním systémem (Kittnar a kol., 2011).

Estrogeny

Estrogeny jsou steroidní hormony. Jsou nezbytné pro normální dospívání a sexuální vývoj samice. Primárně jsou syntetizovány ve vaječnících, i když malé množství je taktéž

syntetizováno v kůře nadledvinek. U klisen je taktéž významným zdrojem estrogenů žluté tělísko, avšak jeho syntéza v žlutém tělísku není doposud objasněna. Jejich syntéza je stimulovaná gonadotropními hormony adenohypofýzy. LH stimuluje vylučování androgenů buňkami *theca interna* a ty přecházejí do granulozních buněk, kde FSH stimuluje přeměnu androgenů na estrogeny.

Estrogeny jsou hormony ovlivňující vývin a činnost pohlavní soustavy a mléčných žláz, zároveň ovlivňují i chování klisny. Během reprodukčního období ovlivňuje proliferaci děložní sliznice a poševního epitelu a podporuje tvorbu vývodů mléčných žláz. Jeho vylučování působí zpětnou negativní vazbou na syntézu gonadotropních hormonů (Christensen, 2011).

Gestageny

Gestageny jsou steroidní hormony, které jsou esenciální pro udržení březosti. Změna hladiny gestagenů v krvi je provázána s dramatickými změnami nejenom v chování klisny ale i s fyziologickými změnami na hypotalamo-hypofýzo-ovariální ose a se změnami pohlavních cest. Gestageny cestou negativní zpětné vazby regulují množství vyloučených gonadotropinů, čímž prakticky zabraňují vývinu a ovulaci vajíčka.

Nejvýznamnějším přirozeným gestagenem je progesteron, který je tvořen především v žlutém tělísku. V malém množství je tvořen v thekálních buňkách preovulačního folikulu. Velké množství progesteronu je pak tvořeno během březosti placentou (Vanderwall, 2011).

Inhibin a activin

Jsou to proteinové komplexy, které ovlivňují syntézu a sekreci FSH. Inhibin je vylučován především dominantním folikulem, ale může být také vylučován hypofýzou, žlutým tělískem a placentou. Inhibin působí negativní zpětnou vazbou na produkci FSH modulací odpovědi adenohypofýzy na stimulaci GnRH tak, že se sníží produkce FSH v adenohypofýze.

Aktivin může být taktéž vylučován folikulem, hypofýzou nebo placentou, ale oproti inhibinu má pozitivní účinek na sekreci FSH.

Aktivin a inhibin se velkou měrou podílejí na vývoji preovulačního folikulu (Davies-Morel, 2008).

Relaxin

Relaxin se skládá ze dvou polypeptidových řetězců. Zdroj relaxinu je u mnoha živočichů různý. Může být produkován žlutým tělískem (u krysy, myši a prasete), placentou (u králíka a

křečka) nebo dělohou (u morčete). U koní je relaxin produkován trofoblastickými buňkami placenty. Je zodpovědný za změny, umožňující vypuzení plodu během porodu a těsně před ním. V této souvislosti se jedná o remodelaci pánve, děložního krčku a vaginy. Dále pak přispívá k relaxaci myometria. Relaxin se taktéž podílí na změnách v enzymatické aktivitě reprodukčních orgánů (Morresey, 2011b).

Androgeny

Androgeny jsou hormony, které stimulují vývoj samčího pohlavního ústrojí. U samic vznikají v intersticiálních buňkách vaječníku, ale i ve folikulu a žlutém tělísku. Velký význam v samičí pohlavní soustavě hrají androgeny, a to proto, že jsou prekurzory estrogenů, které vznikají jejich aromatizací (Kittnar a kol., 2011).

Prostaglandiny

Prostaglandiny jsou dvacetihlíkaté nenasycené mastné kyseliny. Jedná se o nestabilní molekuly, které jsou poměrně rychle odbourávané, a proto působí většinou jen na okolní tkáň. Nicméně, některé z dobře známých reprodukčních funkcí prostaglandinů dosahují svého cíle přes endokrinní přenos stejně jako klasické hormony. Znamená to tedy, že mohou ovlivňovat orgány vzdálené od místa jejich vzniku. Příkladem je role prostaglandinu F₂-alfa (PGF_{2α}) při cyklické degradaci žlutého tělíska. Tento prostaglandin je produkován endometriem. Prostaglandiny hrají zásadní roli v dalších aspektech reprodukční fyziologie klisen jako je ovulace, průchod časného embrya vejcovodem, uvolnění svalů děložního krčku a kontrakce dělohy během porodu. Prostaglandiny produkované buňkami folikulů jsou v širokém rozsahu považovány za nezbytné pro uskutečnění ovulace (Stout, 2011).

Equinní choriový gonadotropin (eCG)

Equinní choriový gonadotropin (někdy označován též jako Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG)), glykoprotein s dlouhotrvajícím účinkem (více jak 24 hodin), je produkován buňkami endometria březích klisen. Vylučování tohoto gonadotropinu mezi 35. – 42. dnem březosti způsobuje vznik sekundárních žlutých tělísek rozvojem a ovulací příslušných folikulů. Tím eCG zajišťuje dostatečnou produkci progesteronu skoro až do poloviny březosti (120 – 150 dní březosti). Ačkoli má equinní choriový gonadotropin především účinek jako FSH, má i dostatečně silný účinek na to, aby způsobil ovulaci a luteinizaci folikulů (stejně jako LH) (Rivire a Papich, 2009).

3.3 Pohlavní aktivita

Klisna je sezónně polyestrické zvíře. Znamená to, že je pohlavně aktivní pouze v určitém období roku a to v periodě od půlky jara až do podzimu. Pohlavní aktivita klisny je odstartována během puberty první ovulací. Od této chvíle se pravidelně střídá období pohlavní aktivity (duben – říjen) s obdobím pohlavního klidu (listopad – březen).

Klisna dosahuje chovatelské dospělosti ve věku tří let. V tomto věku už je klisna schopna úspěšně donosit plod a porodit zdravé hříbě. Takto chovatelsky aktivní může být do věku 15 – 20 let. Ve věku 25 – 30 nastává období sénia. Dochází k mnohým hormonálním změnám a útlumu pohlavní aktivity. (Youngquist a Threlfall, 2007)

3.3.1 Folikulogeneze a oogeneze

Počet potencionálních vajíček obsažených ve vaječnicích je dán už před narozením. Tato velmi nezralá vajíčka se nazývají oogonie. Oogonie mají plný počet chromozomů a jsou obklopeny buněčným útvarem, primordiálním folikulem (Marvan, 1998). Před narozením klisny obsahují její vaječnícíky několik tisíc primordiálních folikulů různých velikostí, které podstupují vývoj, folikulogenezi (Nagy et al., 2000). Ještě během fetálního vývoje vstupují všechny oogonie do prvního redukčního dělení, které je ve fázi diplotene zablokováno a vzniká primární oocyt. Primární oocyt je chráněn jednou vrstvou folikulárních buněk, bazální membránou a vazivovým buněčným obalem folikulu. Tento vzniklý útvar je označován jako primární folikul, též zásobní (Marvan, 1998). V této fázi folikuly přetrvávají až do puberty, kdy se mění koncentrace gonadotropních hormonů, které dále řídí folikulogenezi (Ginther, 1992).

Folikulární buňky se vlivem folikulární vlny začnou zvětšovat a mitoticky dělit, vznikají vrstvy granulózniých buněk a zóna pellucida, které chrání oocyt. Tyto folikuly se nazývají sekundární neboli rostoucí folikuly. Ty pokračují v růstu (Ginther, 1992). Mezi folikulárními buňkami se začnou objevovat prostory vyplněné folikulární tekutinou, které se postupně spojují do jedné větší dutiny. Takový folikul označujeme jako časně antrální (Marvan, 1998). Oocyt v tuto chvíli znovu zahajuje první redukční dělení. Vzniká oocyt s haploidním počtem chromozonů a pólovým tělískem, které je vyloučeno mimo oocyt. Tento oocyt vzápětí vstupuje do druhého meiotického dělení, které je v metafázi opět zablokováno. Vzniká sekundární oocyt, který je přítomen v časně antrálním folikulu. Jde o oocyt, který je zcela dorostlý a proto se označuje též jako ovulační oocyt (Gastal et al., 2004).

Terciální nebo také antrální folikul je charakteristický velkou folikulární dutinou, která je vyplněná folikulární tekutinou. Okolo folikulu se začne organizovat přiléhající vazivo kůry vaječníku a tvoří se vazivový obal, který označujeme jako *theca folliculi* (Ginther, 1992). V dalším vývoji folikulu se *theca folliculi* diferencuje na vnější vrstvu *theca folliculi externa* a na vnitřní vrstvu *theca folliculi interna* (Marvan, 1998). Z folikulárních buněk vzniká vejconosný hrbolek, na kterém leží vajíčko. Tento folikul je označován jako Graafův (ovulační) folikul. Během ovulace ovulační folikul praskne, vajíčko s folikulární tekutinou se vylije do nálevky vejcovodu a ze zbytku folikulu vzniká žluté tělísko (Davies-Morel a O'Sullivan, 2001).

Folikulární vlny

Folikulární vlny se u klisen rozvíjejí stimulací narůstajícího FSH.(Ginther et al., 2005) Dělí se na majoritní (sekundární, primární) a minoritní vlny. Hlavním rozdílem je, že během majoritní vlny se vyvíjí dominantní folikul, který dosahuje velikosti 34 – 47 mm, zatímco během minoritní není diferencován dominantní folikul a největší folikuly dosahují 18 – 25 mm (Donadeu a Ginther, 2002). Už toto napovídá, že majoritní vlny budou charakteristické pro připouštěcí období, zatímco minoritní vlny probíhají především během přechodných období (Bergfelt a Ginther, 1993).

Majoritní vlny

V průběhu estrálního cyklu klisny probíhá jedna nebo dvě majoritní folikulární vlny. Majoritní vlna ovlivňuje vývoj 5 – 10 antrálních folikulů, které zpočátku rostou stejně rychle. Časem však dojde k rozdělení folikulů na dominantní a subordinátní. Dominantní folikul (1 – 2) pokračuje v růstu, a když dosahuje velikosti > 30 mm, zaniká (anovulační vlna) nebo ovuluje (ovulační vlna). Zbývající subordinátní folikuly podstupují časnou atrésii a zanikají (Bergfelt a Ginther, 1993).

Klisna je unikátní v tom, že k majoritní vlně a následné ovulaci může dojít i během luteální fáze. K této vlně dochází během časného diestru a dominantní folikul buď ovuluje (sekundární nebo diestrální ovulace) nebo zaniká. Avšak jestliže dojde k ovulaci, vajíčko dominantního folikulu není schopné oplození. Tato vlna je označována jako sekundární (Ginther et al. 1989). Majoritní vlna, která vzniká během středního diestru, způsobuje ovulaci spojenou s říjí a je definována jako primární vlna.

U většiny plemen obvykle stačí jedna vlna (primární), která vzniká během středního diestru a kulminuje až v estrální ovulaci (Ginther et al. 2004). Jestliže během estrálního cyklu vznikají dvě vlny (plnokrevník), tak jako první vzniká sekundární vlna (během časného diestru). Vlna, která přímo přispívá k ovulaci, probíhá během středního diestru a nazývá se primární (Sirois et al., 1989).

Minoritní vlny

Během vlny se nevyvíjí folikul, schopný ovulace a to proto, že FSH nedosahuje koncentrace, která je potřebná k dozrání folikulu. Maximální velikost folikulů během těchto vln se pohybuje okolo 18 mm – 25 mm. Tato vlna je charakteristická pro luteální fázi estrálního cyklu a pro přechodná období (Ginther, 1992).

Antrealní folikul

U klisny hovoříme o antrální folikulu, když dosáhne velikosti 0,3 mm. Nejmenší možná velikost folikulu, která může být detekovaná transrektální ultrasonografií, je 2 mm, a proto se o vývoji menších folikulů zatím moc neví (Driancourt, 1979). Předpokládá se, že malé antrální folikuly (menší než 10 mm) neustále rostou a zanikají nezávisle na hormonálním prostředí nebo reprodukčním stavu klisny. Avšak charakter a způsob růstu a regrese folikulů menších než 10 mm je zatím neznámý (Ginther, 1993). Bylo zjištěno, že než folikul vyrostе z velikosti 0,1 mm na 1 mm, uplynou dva estrální cykly, a že během této časně fáze vývoje folikuly podléhají atrezii jen velmi vzácně (Driancourt, 1979).

Výskyt folikulární vlny je pro experimentální účely popisován momentem, kdy největší folikul dosáhne velikosti 6 mm – 13 mm (Ginther et al., 2003). Folikulární vlna zpočátku ovlivňuje růst různého počtu folikulů. Tyto folikuly rostou stejnou rychlostí a to 2 mm – 3 mm za den. Na konci společné růstové fáze je vyselektován jeden folikul, který bude pokračovat v růstu. Tento folikul je největší a po dosažení velikosti 22 mm se stává dominantním. Růst ostatních menších folikulů je zastaven a posléze tyto folikuly podléhají regresi. Dominantní folikul dosáhne velikosti 35 mm – 45 mm a obvykle se stane ovulačním folikulem nebo zaniká, záleží na tom, zda vznikne ovulační vlna (stimulace LH těsně před ovulací) či nikoli (Donadeu and Pedersen, 2008; Raz and Aharonson-Raz, 2012).

Žluté tělísko

Žluté tělísko se podílí na správném rytmu a kontrole estrálního cyklu. Je esenciální endokrinní žlázou nezbytnou pro normální průběh březosti. Žluté tělísko se tvoří po ovulaci ze zbytku folikulární stěny, který zůstane ve vaječniku po prasknutí dominantního folikulu (Ginther, 1992; Weems et al., 2006).

Existují dva morfologicky odlišné druhy luteální tkáně. Zatímco v jednom případě dochází ke vzniku krevní sraženiny uvnitř dutiny prasklého folikulu, v druhém případě tomu tak není. Útvar s krevní sraženinou uvnitř dutiny je označován jako *corpus hemorrhagicum*. Když klisna nezabřežne, tělísko postupně zaniká, scvrkává se a bledne. Hovoříme o *corpora albicantia*. (Clayton, 2005).

Bez ohledu na morfologii luteální tkáně, rozlišujeme primární, sekundární a vedlejší žluté tělísko. Primární žluté tělísko vzniká ovulací dominantního folikulu, který byl vyselektován během majoritní primární vlny na konci estru. Sekundární tělísko vzniká taktéž z dominantního folikulu, který však vznikl během majoritní sekundární vlny v průběhu diestru nebo časně březosti. Vedlejší žluté tělísko se vyvíjí z dominantního anovulačního folikulu během diestru nebo časně březosti (Bruce, 2000). Sekundární a vedlejší žlutá tělíska se společně označují jako doplňková. Společně podporují rané stádium březosti (Donadeu et al., 2012)

Luteinizace

Luteinizace je proces, během kterého dochází k sérii morfologických a biochemických změn, vedoucí k strukturální a funkční reorganizaci folikulárních buněk v buňky žlutého tělíska a s tím spojené přeměně estrální produkce (folikulární b.) v produkci progesteronovou (b. žlutého tělíska). Tento proces je odstartovaný preovulační vlnou LH (Murphy, 2000).

U většiny savců dochází během preovulační vlny LH k luteinizaci thekálních a granulózních buněk. Vznikají dva typy morfologicky odlišných buněk, a to velké luteální buňky (large luteal cells - LLC) z granulózních buněk a malé luteální buňky (small luteal cells - SLC) z thekálních buněk (Niswender et al., 1994).

U klisen se však luteinizace účastní pouze buňky granulózní. Buňky thekální zanikají a jsou nahrazeny fibroblastem (Van Niekerk, et al., 1975). Po ovulaci se granulózní buňky neustále zvětšují. Třetí den je luteinizace těchto buněk dokončena. Vznikají tzv. velké luteální

buňky, které pátý den po ovulaci tvoří 46% celkové populace luteálních buněk (Watson a Sertich, 1990). Tyto buňky dosahují devátý den maximální velikosti 38 – 42 μm a jsou tak největšími endokrinními buňkami těla (Enders, 1973).

Luteální tkáň je tvořena velkými buňkami, které jsou světlé, a malými buňkami, které jsou tmavé. Malé buňky, které tvoří 15% celkové populace luteálních buněk, představují klidové stádium velkých buněk (Van Niekerk, et al., 1975). Dvanáctý den počet malých tmavých buněk stoupá na 25% a počet velkých světlých klesá na 24%. Zatímco u klisen s rostoucím věkem žlutého tělíska stoupá počet malých buněk, u většiny zvířat je tomu naopak (Watson a Sertich, 1990).

Luteolýza

Když klisna nezabřežne, dochází k poklesu produkce progesteronu a pomalému zániku žlutého tělíska. To vše proto, aby mohl nastat nový estrální cyklus (Niswender et al., 1994). Kaskádu dějů, která nakonec vede k luteolýze, a rozrušení žlutého tělíska, je spuštěna stoupající hladina estrogeneru (McCracken, 1980.). Estrogen stimuluje sekreci oxytocinu z neurohypofýzy a navíc způsobí to, že receptory endometria budou vůči oxytocinu vnímavější. Vylučovaný oxytocin se váže na receptory endometria, což způsobí syntézu $\text{PGF}_{2\alpha}$ (McCracken et al., 1995). Prostaglandin $_{2\alpha}$ je vylučován v pulzech dvakrát až třikrát za den a je esenciální pro zánik žlutého tělíska (Ginther et. al., 2011).

Porozumění luteolýze vyžaduje porozumění anatomickým vztahům a uspořádání mezi ovariální tepnou a uteroovariální žílou u jednotlivých druhů hospodářských zvířat. U ovcí a krav jsou žíla s tepnou do sebe zapletené, což umožní $\text{PGF}_{2\alpha}$ volně difundovat z žíly do ovariální tepny. U klisen se však žíla s tepnou nedotýkají (Ginther, 1974). $\text{PGF}_{2\alpha}$ se k vaječnům dostává systémovou cirkulací (přes celý krevní oběh) a proto musejí být buňky žlutého tělíska klisen vnímavější vůči $\text{PGF}_{2\alpha}$ než je tomu u jiných druhů. (McCracken, 1999). U klisen intramuskulární podání pouhého 1 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$ způsobí luteolýzu, zatímco u krav je k tomu zapotřebí 25 mg (Douglas a Ginther, 1972). Piper et al. (1970) se domnívá, že k tomu dochází právě proto, že plíce klisny odbourávají mnohem méně $\text{PGF}_{2\alpha}$, než je tomu u jiných zvířat, u nichž stačí jeden průchod $\text{PGF}_{2\alpha}$ plícemi na to, aby byl plně odbouraný (Piper et al., 1970). Intramuskulární nebo intraděložní podání $\text{PGF}_{2\alpha}$ má u klisen stejný účinek (Douglas et al., 1975).

V průběhu luteolýzy koncentrace estradiolu stoupá a koncentrace progesteronu naopak klesá (Ginther et al., 2011). Dochází k mnohým morfologickým změnám, jako je ukládání

tukových kapének v cytoplazmě luteálních buněk, degenerace kapilár žlutého tělíska, zmenšování velikosti a úbytek luteálních buněk (Weems et al., 2006).

3.3.2 Sezónnost klisny

Reprodukční aktivita klisny je popisována jako sezónně polyestrická. Se střídáním ročních období se mění pohlavní aktivita klisny. Střídají se období pohlavní aktivity a pohlavního klidu s přechodnými obdobími. S ohledem na tyto změny je reprodukční rytmus klisny dělen na čtyři charakteristická období, a to anestrus, jarní přechodné období, připouštěcí období a podzimní přechodné období (Robinson a Sprayberry, 2008).

Sezónnost klisny je řízena prodlužující se světelnou fází dne, která ovlivňuje tvorbu melatoninu v šišince. Melatonin, který je syntetizován pouze za tmy, inhibuje vylučování GnRH z hypotalamu a tím brzdí reprodukční pochody. S prodlužujícím se dnem koncentrace melatoninu klesá, tudíž produkce GnRH stoupá a klisna se pomalu dostává ze zimního klidového období (Ginther et al., 2004).

3.3.3 Puberta

Puberta u mladé klisny začíná mezi 12 a 24 měsícem života. Puberta nastává jako odpověď na měnící se koncentrace FSH a LH. V prvním roce života je koncentrace FSH poměrně vysoká, kdežto koncentrace LH je nízká. Během puberty je tomu právě naopak, FSH koncentrace klesá a naopak koncentrace LH narůstá a u mladé klisny nastává první ovulace (Nogueira a Barnabe, 1997).

3.3.4 Anestrus

Anestrus je obdobím, během kterého dochází k úplnému zastavení reprodukce. Dochází k němu při postupném zkracování dne, které má za následek zvýšenou produkci melatoninu, který negativně ovlivňuje produkci GnRH z hypotalamu. Následkem snížení GnRH se sníží hladina LH na minimum. Díky poklesu LH nedochází k selekci dominantního folikulu, a tudíž dochází i k poklesu ovariálních hormonů estrogenu a inhibinu. Folikuly jsou menší než 30mm (Youngquist and Threlfall, 2007).

3.3.5 Jarní přechodné období

Během tohoto období dochází k sérii charakteristických dějů, které jsou nezbytné pro ukončení zimního anestru. Probíhá znovuoobnovení produkce GnRH po nejkratším dni roku

jako odpověď na snižující se hladinu melatoninu. Folikuly začnou reagovat na obnovenou produkci LH za vzniku dominantního folikulu, který přesahuje rozměry 30mm. Zvyšuje se hladina estrogenu a inhibinu, které jsou vylučované dominantním folikulem (Robinson a Sprayberry, 2008).

3.3.6 Připouštěcí období

Připouštěcí období je charakteristické pravidelně se opakujícím říjovým cyklem. Toto období začíná první ovulací roku a končí poslední ovulací roku. Zatímco začátek připouštěcího období lze relativně přesně datovat (u koní duben $7 \pm 9,1$ dne a poníků květen $7 \pm 21,1$ dní), jeho konec je u klisen různorodější. Probíhá v termínu od září až do listopadu (Sharp, 2011b).

3.3.7 Podzimní přechodné období

Podzimní přechodné období nastává u klisen velmi variabilně, zpravidla však nastane v době od září do listopadu. Klisna se takto připravuje na období pohlavního klidu, tedy na anestrus. Během tohoto období jsou u klisny běžně k vidění projevy říje, avšak slabší. K zastavení pohlavní činnosti během podzimního přechodného období dochází díky zkracující se světelné fázi dne, následném nárůstu tvorby melatoninu v šišince a jeho negativnímu vlivu na produkci GnRH. Pokles GnRH má za následek pokles LH. Bez dostatečné stimulace LH těsně před ovulací nemůže k ovulaci dojít. Odpovědí na sníženou hladinu LH je taktéž pokles estrogenu, jehož syntézy se LH účastní. (Ginther, 1995).

3.3.8 Estrální cyklus

Estrální cyklus je časový interval mezi dvěma po sobě jdoucími ovulacemi a trvá přibližně 21 dní. Tento cyklus se periodicky opakuje, pokud není přerušen březostí klisny anebo ročním obdobím.

Estrální cyklus lze dělit do dvou fází buď na základě sexuální vnímavosti na estrus a diestrus, nebo na základě fyziologických dějů na folikulární a luteální fázi. Folikulární fáze (estrus neboli říje) obvykle trvá 5 – 7 dní a luteální fáze (diestrus) 14 – 16 dní. Během estrálního cyklu dochází k četným fyziologickým změnám reprodukčního traktu, které jsou z většiny řízeny ovariálními steroidy. Avšak GnRH je hormonem, který spouští sled událostí,

kteře vedou až k zmiňované produkci ovariálních steroidů (McCue, Scoggin a Lindholm, 2011).

Estrus (folikulární fáze)

Estrus neboli říje je období, během kterého klisna projevuje zájem o hřebce. Říjové chování je stimulované zvyšující se koncentrací estradiolu (konkrétně estradiol - 17 β), který je produkován rostoucím dominantním folikulem. Kromě chování ovlivňuje během říje řadu fyziologických a endokrinních změn, jako je relaxace děložního krčku, otok dělohy či zvýšená sekrece endometria. Během říje dochází k ovulaci a to nejčastěji 24 až 48 hodin před koncem říje.

Průměrná délka říje je 5 – 7 dní a její délka souvisí s velikostí folikulu na konci diestru, s mírou růstu dominantního folikulu a konečnou velikostí ovulačního folikulu (McCue et al., 2011).

Říjové chování

Každá klisna se během říje projevuje jinak co do druhu a intenzity říjového chování. Říjové chování má zaujmout a vzrušit hřebce. Nastavování je jedním z dobře detekovatelných znaků říjící klisny. Klisna se hřebci nastavuje do pozic nejvhodnějších pro kopulaci, zvedá při tom ocas, rozkročuje zadní končetiny, podsazuje pánev a vyklene hřbet tak, že většina její hmotnosti spočívá na předních končetinách. Časté močení je dalším druhem říjového chování. Je spojené se zvedáním ocasu a odhalováním genitálií. Dalším projevem je tzv. blýskání, což je rytmické převrácení stydkých pysků a vystavování klitorisu (Ginther, 1992).

Diestrus (luteální fáze)

Diestrus představuje období mezi dvěma říjemi, kdy klisna nevykazuje říjové chování a nejeví zájem o hřebce. Během tohoto období se zvyšuje koncentrace cirkulujícího progesteronu spojená s rozvojem poovulačního žlutého tělíska. Progesteron potlačuje říjové chování a způsobuje diestrické chování (Löfstedt, 2011).

3.3.9 Fyziologie estrálního cyklu

Těsně před ovulací LH dosahuje své maximální koncentrace a způsobuje tak prasknutí Graafova folikulu a vylití vajíčka do nálevky vejcovodu (Ginther, 1992). Ještě před ovulací

klesá hladina estradiolu. Tento pokles koresponduje se slabým nárůstem FSH i přes poměrně vysoké hladiny inhibinu (Bergfelt, 2009).

Hned po ovulaci se začíná rozvíjet žluté tělísko. To produkuje progesteron, který působí negativní zpětnou vazbou na produkci LH. Progesteron dosahuje své maximální koncentrace kolem 6. dne po ovulaci což je doba, kdy LH klesne na svojí bazální koncentraci.

Po ovulaci nastává pokles ovariálních hormonů, především inhibinu. Tento pokles umožňuje nárůst FSH během časného diestru. FSH stoupá a dosahuje koncentrace nezbytné pro vznik folikulárních vln, které stimulují růst folikulů (Ginther, 1992). Po těchto folikulárních vlnách na konci společné růstové fáze folikulů je vyselektován jeden dominantní folikul, který bude pokračovat v růstu. Ostatní folikuly zánikají. Výběr dominantního folikulu je časově spojen s poklesem FSH a nárůstem LH koncentrace. Pokles FSH je zapříčiněn negativní zpětnou vazbou na nárůst inhibinu a estradiolu. Inhibin je vylučovaný rostoucími antrálními folikuly a estradiol je produkovaný dominantním folikulem. Inhibin a estradiol tak společně potlačují produkci FSH a několik dní před ovulací sráží jeho hladinu na basální úroveň (Bergfelt, 2009).

Kolem 14. dne, nedojde-li k oplození vajíčka, je luteální fáze spontánně ukončena a z endometria je vylučován prostaglandin F₂-alfa, který způsobí regresi žlutého tělíska. Začne se snižovat koncentrace progesteronu a naopak narůstat koncentrace LH (Youngquist a Threlfall, 2007).

3.4 Hormonální terapie u klisen

Klisy mají velký význam nejenom v chovatelství, ale i v jezdeckém sportu. V obou těchto odvětvích je třeba mít pod kontrolou jejich pohlavní cykly. Pro úspěšnou plemenitbu je zásadní a nezbytné synchronizovat estrální a ovariální cyklus. Důležitá je také otázka embryotransferu u klisen, kde se ale stále nedaří najít hormonální přípravek, který by spolehlivě a efektivně navodil superovulaci. Narozdíl od podpory růstu folikulů, který je nutný při navození superovulace, je také možné pomocí hormonální terapie růst folikulů dočasně inhibovat a to třeba během závodů, kdy není žádoucí, aby klisna říjela, ale plně se soustředila na výkon (McCue, 1996).

3.4.1 Prostaglandin F₂ Alfa

Luteální fáze estrálního cyklu může být zkrácena léčbou PGF_{2α} a jeho analogů. PGF_{2α} způsobí luteolýzu žlutého tělíska a znovu navodí estrus. Říjové chování se obvykle dostaví

během 1 – 7 dne po podání $\text{PGF}_{2\alpha}$, záleží na velikosti folikulů, které jsou během léčby přítomny ve vaječníku (Ginther a Pierson, 1989).

Nejčastěji používanými $\text{PGF}_{2\alpha}$ jsou dinoprost a cloprostenol. Dinoprost je přirozeně se vyskytující $\text{PGF}_{2\alpha}$ a cloprostenol je jeho syntetický analog. Aby bylo možné luteální fázi ukončit, je zapotřebí, aby bylo žluté tělísko dostatečně vnímavé k prostaglandinu, což je u koní pátý den po ovulaci. Do té doby žluté tělísko vykazuje neúplnou citlivost vůči $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Allen a Rowson, 1973). Standardní doporučená dávka dinoprostu pro klisny je $9\mu\text{g}/\text{kg}$ a doporučená dávka cloprostenolu je $0,55\mu\text{g}/\text{kg}$ (Nie et al. 2001). Výzkum Douglase a Ginthera (1975) však prokázal, že i mnohem nižší koncentrace přípravků podávaného dvakrát za 24 hod. způsobí luteolýzu žlutého tělíska a to i bez vedlejších účinků jako je pocení a kolika. $\text{PGF}_{2\alpha}$ lze aplikovat intravenózně, intraděložně, subkutánně, ale preferovaným způsobem je intramuskulární podání, díky snadné aplikaci (Ginther a Pierson, 1989).

Synchronizace estrálního cyklu pomocí $\text{PGF}_{2\alpha}$

Synchronizace estrálního cyklu a ovulace umožňuje to, že klisny mohou být společně připuštěné nebo inseminované v předem určený čas, čímž se výrazně zjednoduší management chovu a chovatelství obecně. Kromě toho je estrální synchronizace nedílnou součástí embryo transferu u koní (Youngquist a Threlfall, 2007).

Estrální synchronizace je úspěšně využívána v chovu skotu. Podáním dvou dávek $\text{PGF}_{2\alpha}$ jedenáctý a dvanáctý den cyklu je účinnost 80% (Wright a Malmo, 1992). Avšak tato metoda podání dvou dávek $\text{PGF}_{2\alpha}$, čtrnáctý den cyklu, není u koní příliš spolehlivá, zejména kvůli velkým rozdílům v době ovulace u jednotlivých klisen (Bristol, 1987). Proto je nutné mít při embryo transferu na jednu klisnu dárkyni deset klisen příjemkyň, aby se zvýšila šance, že alespoň jedna z příjemkyň se se synchronizuje s klisnou dárkyní (Irvine, 1981). Pro zvýšení úspěšnosti estrální synchronizace se k injekcím $\text{PGF}_{2\alpha}$ přidávají i další hormony (hCG, GnRH, progesteron, estrogen a jejich analogy) (Staempfli, 2011).

Léčba prodlouženého diestru $\text{PGF}_{2\alpha}$

Zpočátku se předpokládalo, že za prodloužený diestrus může perzistentní žluté tělísko, ale mnohem častějším jevem, který se vyskytuje v říjovém cyklu klisny a způsobuje prolongaci diestru, je ovulace během diestru. Prodloužený diestrus je charakterizován jako diestrus trvající po ovulaci déle jak 16 dní (Youngquist a Threlfall, 2007). V plazmě klisen, takto způsobeným prodlouženým diestrem, se nachází víc progesteronu, než je u nebřezích klisen obvyklé (Ginther, 1990). To poukazuje na existenci funkčního žlutého tělíska, které vyžaduje léčbu prostaglandinem (Asbury, 1988).

Přerušení březosti a porod

$\text{PGF}_{2\alpha}$ se dále využívá v léčbě klisen pro přerušení abnormální nebo nechtěné březosti. Využití $\text{PGF}_{2\alpha}$ k navození porodu je možné, ale může dojít k mnoha komplikacím, jako je například předčasné odloučení placenty a snížená životaschopnost hříbete způsobené právě jeho využitím. Z těchto důvodů se $\text{PGF}_{2\alpha}$ nedoporučuje k navození porodu (Asbury, 1988).

3.4.2 Léčba prostaglandinem E_2

Prostaglandin E_2 je hojně používán v humánní gynekologii jako vaginální čípek, který navozuje abortus (Bryman et al., 1982). Bylo zjištěno, že PGE_2 u klisen způsobuje relaxaci děložního krčku a lze jím řídit činnost hladké svaloviny vejcovodu (Troedsson et al., 1995; Rigby, et al., 1998). Podáním 2.0 mg až 2.5 mg PGE_2 intracervikálně 6 hodin před porodem, způsobí relaxaci děložního krčku a tím usnadní průběh porodu (Rigby, et al., 1998).

Má se za to, že léčba PGE_2 ovlivňuje funkci hladké svaloviny vejcovodu. Electromyografickou aktivitu vejcovodu lze stimulovat intramuskulárním podáním 10 mg PGE_2 a usnadnit tak průchod gamet nebo embrya vejcovodem (Troedsson et al., 1995). Lokálním podáním naopak lze dosáhnout relaxace hladké svaloviny vejcovodu (Weber et al., 1995).

3.4.3 Lidský choriový gonadotropin (hCG)

Lidský choriový gonadotropin (hCG) je gonadostimulační hormon produkovaný dělohou těhotné ženy. hCG funguje stejně jako LH, a proto v léčbě slouží jako jeho náhražka a stejně jako LH podporuje zrání folikulů, ovulaci a vznik žlutého tělíska. Lidský choriový gonadotropin je stejně jako eCG glykoprotein, gonadotropin s dlouhým poločasem rozpadu

(>24 hod.). Díky převládající LH aktivitě je hCG indikován pro navození ovulace u klisen, jejichž folikuly dosahují požadované velikosti (Wathes et al., 2003).

Dále je hCG u klisen využíván k léčbě poruch produkce gonadotropních hormonů, ať už na úrovni hypotalamu nebo hypofýzy (Samper, 2001). Podává se nejčastěji intravenózně nebo intramuskulárně (Roser, 1979).

Navození ovulace pomocí hCG

Pro úspěšné navození ovulace je třeba vědět, jak velké folikuly se v době hCG léčby nacházejí ve vaječnících. Monitorování folikulárního vývoje po celou dobu říje je proto nutností (Samper, 2008).

Léčba jednou dávkou 1500 – 3300 IU se těší poměrně velké úspěšnosti, pokud je indikovaná ve chvíli, kdy je na vaječníku rektální palpací nebo ultrasonografem detekovaný 35 mm folikul. Ovulace se u většiny klisen dostaví do 48 hodin (Ginther a Pierson, 1989). To potvrzují i některé pokusy, kde 96% a 95% klisen léčených 2500 IU a 1500 IU dosáhlo ovulace během 48 hodin (Evans et al., 2006). V dalším pokusu 83 klisen z 89 ovulovalo během 48 hodin po podání injekce hCG (Duchamp, 1987). Když je však hCG indikován ještě před tím, než folikul dosáhne velikosti 30 mm, je odpověď na tuto léčbu snižená a klisna ovuluje až za několik dní nebo vůbec. Naopak když je folikul příliš velký (více než 40 mm) ovulace se dostaví během dvanácti hodin po podání (Bollwein a Braun, 1999).

Schopnost kontrolovat ovulaci je zvláště důležitá, pokud má být klisna inseminovaná mraženým spermatem (Chavatte a Palmer, 1998). Kontrola a načasování ovulace přináší i další výhody. Snižuje počet skoků nebo inseminací nutných k zabřeznutí. Lze synchronizovat ovulaci několika klisen, připustit všechny najednou, usnadnit a zintenzivnit tak management chovu (Shiner, 1988).

Nevýhodou hCG je to, že si klisna na něj může vytvořit protilátky a na léčbu nereagovat. Tento stav může nastat, pokud je klisna v daném přípouštěcím období léčená pomocí hCG víckrát nebo je léčená dávkami > 5000 IU (Roser, 1979). Proto se doporučuje klisnu léčit v daném přípouštěcím období pomocí takto vysokou dávkou hCG maximálně dvakrát (McCue et al., 2007).

Synchronizace mnohonásobné ovulace (multiple ovulation)

Skoro polovina spontánních mnohonásobných ovulací se neděje současně. Mnohem častěji ovuluje nejprve jeden folikul a po něm, v rozmezí nejčastěji dvou až tří dnů, ovuluje druhý folikul. Indikace hCG dokáže interval mezi těmito ovulacemi zkrátit, a to na interval kratší dvanácti hodin. Potencionálně se tak zvyšuje šance na oplození při embryotransferu (Davies-Morel a Newcombe, 2008).

Prodloužení luteální fáze pomocí hCG

Hormonální terapie indikuje navození diestrální ovulace použitím 3000 IU hCG. Během diestru, přibližně osmý den po ovulaci, se provádí monitorování diestrálních folikulů. Jestliže se ve vaječniku nachází diestrální folikul > 30 mm, může být léčba indikována a luteální fáze prodloužena až o 90 dní (Hedberg, 2006).

3.4.4 GnRH a jeho analogy

Léčba pomocí GnRH a jeho analogů se používá pro navození ovulace u cyklujících klisen (Barrier-Battut et al., 2001) a pro stimulaci růstu folikulů u klisen v jarním přechodném období nebo anestu (Harrison et al., 1990).

Způsob podání GnRH je značně variabilní, od jedné injekce přes kontinuální infuzi, pulzující infuzi až k podkožnímu implantátu, který pomalu uvolňuje účinnou látku. Nejčastěji používaným analogem GnRH je deslorelin, méně častým pak busserelin a goserelin (Johnson, 1987; Lindholm, 2010).

Navození ovulace u cyklujících klisen

Stejně jako hCG, který nejúčinněji indikuje ovulaci u říjících klisen, na jejichž vaječnicích se nachází folikul > 35 mm, tak i GnRH a jeho analog deslorelin účinně indukují ovulaci do 48 hodin u 84 % klisen (Farquhar, 2000). Navození ovulace lze docílit buď léčbou jednou injekcí, několika injkcemi nebo zavedením podkožního implantátu, který obsahuje deslorelin (komerční název Ovuplant) (Heinze et al., 1975). Studie prokázaly, že větší účinek má několikanásobná injekce nebo podkožní implantát, který kontinuálně uvolňuje deslorelin (Meinert et al., 1993).

Několik experimentů potvrdilo, že nejefektivnější dávka deslorelinu je 2,1 mg. Takové množství je obsažené v Ovuplantu a je schopno navodit během 48 hodin ovulaci u 88% klisen (McKinnon et al., 1993; Jochle a Trigg, 1994). Navození ovulace pomocí GnRH a jeho analogů se používá především u starších klisen, které už několikrát prodělaly léčbu hCG, a tudíž je riziko, že by na tuto léčbu již nereagovaly (McCue et al., 2002).

Ovuplant

Ovuplant je podkožní implantát, který lze použít se používá pro navození ovulace u cyklujících klisen. Obsahuje 2,1 mg deslorelinu. Avšak u klisen léčených Ovuplantem častěji dochází k prodloužení interovulačního intervalu. Během diestru, který následuje po ovulaci navozené Ovuplantem, může dojít k snížené koncentraci FSH a v důsledku toho i potlačení růstu folikulů (Johnson, 2000). Ukázalo se, že prodloužený interovulační interval se ještě častěji vyskytuje u klisen léčených prostaglandinem 7 – 8 dní po ovulaci navozené právě Ovuplantem (Farquhar, 2002). Prodloužení interovulačního intervalu lze předcházet časným vyjmutím implantátu, a to do 48 hodin po vložení (Farquhar et al., 2001).

Zpočátku se implantát vkládal do podkoží na krku klisny (Squires, 2011). Dnes se kvůli snazší a rychlejší manipulaci implantát vkládá do podkoží stydkého pysku (McCue et al., 2002).

Navození ovulace u klisen v jarním přechodném období a anestru

Jedním z nejzřetelnějších rysů zimního anestru u klisen je výrazný pokles syntézy LH v adenohipofýze (Hyland et al., 1987). Jarní přechodné období, přechod klisny ze zimního anestru do přípouštěcího období, je charakteristické znovuoobením vylučování GnRH z hypotalamu, který následně stimuluje syntézu a vylučování LH (Silvia et al., 1987). Pro chovatele je výhodné, aby neproduktivní období klisny, anestrus, a jarní přechodné období, trvalo co možná nejkratší dobu. Tuto dobu lze zkrátit GnRH terapií (Mumford, et al., 1994). V roce 1976 Evans a Irvine dokázali, že GnRH navozuje vylučování FSH a LH u klisen v anestru (Evans a Irvine, 1976). Podáváním injekcí obsahujících 25 μ g nativního GnRH třikrát denně po dobu 28 dní způsobí to, že se jedenadvacátý den léčby na vaječniku léčené klisny objeví preovulační folikul (Turner a Irvine, 1991). Další pokus zjistil, že vložení podkožního implantátu, který denně uvolňuje 30 μ g GnRH analogu, po dobu 28 dní, způsobí během osmnáctého dne ovulaci u 15 z 20 anestrických klisen (Allen et al., 1987).

Ainsworth a Hyland zkoumali působení osmotické mini pumpy na navození ovulace u plnokrevníků. GnRH byl podáván jako podkožní osmotický implantát, který kontinuálně uvolňoval dávky 100 ng/kg/den a 200 ng/kg/den. Tato léčba navodila ovulaci u velkého procenta anestrálních klisen (Ainsworth a Hyland, 1991).

Ukázalo se, že vliv má i způsob uvolňování GnRH. Kontinuální uvolňování, které za hodinu uvolní 20 μ g GnRH, bylo porovnáno s účinkem léčby, která stejnou dávku 20 μ g GnRH uvolňuje v pulsech za hodinu. Ovulace navozená pulsujícím GnRH proběhla o 2,8 dne dříve než léčba kontinuálním uvolňováním (Becker a Johnson, 1992).

Nedávná studie potvrdila, že kontinuální podávání 100 μ g/h GnRH anestrickým klisnám na začátku února nebo března, způsobí růst folikulů a zvýší výskyt ovulace. Jakmile se však léčba vysadí a klisna nezabřeze, navrátí se s velkou pravděpodobností zpět do zimního anestru (Thorson et al., 2014b). Thorson et al. ve své experimentu uvádí, že když se tato léčba zkombinuje s podáním hCG, který navodí ovulaci, výrazně se tak zvýší počet březích klisen během těchto měsíců (Thorson et al., 2014a). Dále uvádí, že GnRH léčba podporuje vývin primárních a sekundárních žlutých tělísek a udržuje tak březost i potom, co léčba GnRH odezní (Thorson et al., 2014b).

Potlačení říje a říjového chování

Deslorelin se běžně používá pro navození ovulace u klisen, jejichž folikul dosáhl velikosti alespoň 35 mm (McKinnon et al., 1993).

Ovšem podáním dvojité dávky deslorelinu (dva implantáty Ovuplant, obsahující 2,1 mg) je možné potlačit vývoj folikulů až po dobu 30 dnů (McCue et al., 2000). Další studie prokazuje, že je možné potlačit ovulaci až po dobu 90 dní. Ovulaci se podařilo potlačit po zmíněnou dobu u patnácti klisen z dvaceti, a to podáním několika injekcí goserelinu (Fitzgerald et al., 1993).

3.4.5 Progesteron a progestiny

Termínem progestiny se rozumí skupina látek, které mají stejné schopnosti, vázat se na progesteronové receptory a vyvolávat progestační účinek, jako progesteron (Pinto, 2011). Exogenní progestiny jsou od roku 1966 využívány v koňské medicíně pro udržení březosti, potlačení říje a kontrolu říjového chování klisen (Simon et al., 2011), a to díky jejich schopnosti potlačit folikulární růst a ovulaci (Loy a Swan, 1966). Mnohé studie potvrzují, že progesteron potlačuje koncentrace LH a estradiolu - 17 β (Garcia a Ginther, 1978; Webel a

Squires, 1982). Niekerk et al. (1973) jako první popsal účinek progesteronu na navození ovulace u klisen v jarním přechodném období.

Altrenogest, jako jeden z mála progesteronových přípravků, je pro užití v koňské medicíně povolen v mnoha státech. Díky tomuto faktu a jeho snadné orální aplikaci je nejhojněji užívaným exogenním progestinem (Pinto, 2011).

Léčba klisen v přechodném období

Terapie, které využívají progesteron pro řízení cyklu klisen v jarním přechodném období, mají urychlit nástup první ovulace. Avšak terapie nemají u klisen jednoznačnou výslednou odpověď. Existují různé protokoly, kterými toho lze docílit. (Pinto, 2011). Bez ohledu na typ léčby bylo mnohokrát prokázáno, že na léčbu reagují pouze klisny ve střední nebo pozdní fázi přechodného období (Squires, 2008).

Synchronizace estru a navození ovulace použitím samotné léčby progesteronem není optimální. Proto se léčba často kombinuje s jinými hormonálními přípravky, nejčastěji estradiolem a PGF2 α , nebo terapiemi (Pinto, 2011). Příkladem je možná kombinace 12 – 15 denní léčby exogenním progesteronem s léčbou, která umělým svícením klisně prodlužuje světelnou fázi dne. Poté, co byla klisna vystavená umělému svícení po dobu 30 – 60 dní, je indikovaná 12 – 15 denní léčba progesteronem (Squires et al., 1979).

Progesteron v oleji

V jednom z prvních pokusů se klisnám, v pozdní nebo střední fázi jarního přechodného období, denně po dobu sedmi dní aplikovaly injekce se 100 mg progesteronu v oleji. Klisny během dvou dnů přestaly vykazovat příznaky říje a šestý až sedmý den po ukončení léčby ovulovaly (Niekerk et al., 1973).

Denní podávání injekcí progesteronu v oleji přináší jisté komplikace. Mnoho klisen dobře nesnáší denní podávání a dlouhotrvající léčbu. Je tu velké riziko vzniku dlouhotrvajících otoků v místě vpichu, které vedou k tvorbě seromů, abscesů a zhmožděnin (Pinto, 2011).

Altrenogest

Webel a Squires ve svém pokusu klisny léčili orálním podáním altrenogestu. Denně aplikovali 0,044 mg/kg altrenogestu, a to po dobu 12 – 15 dní. Zjistili, že tato léčba je nejeftektivnější, jsou-li splněné následující podmínky: klisna se nachází v pozdní nebo střední fázi přechodného období, vykazuje známky říje a v jejích vaječnicích se nachází alespoň jeden folikul větší než 20 mm. Je uvedeno, že když je léčba aplikovaná právě za těchto podmínek, léčené klisny častěji vykazují známky říje a ovulují, než je tomu u klisen v kontrolní skupině (Webel a Squires, 1982).

Dlouho působící progesteron

Obecně platí, že ať už je podáván altrenogest (*per os*) nebo injekce progesteronu v oleji, léčba je aplikovaná denně po dobu 12 až 15 dní (Squires, 2008). Tyto denní aplikace jsou pro chovatele nepohodlné a časově náročné (Simon et al., 2011) nehledě na to, že injekce progesteronu přináší klisnám (výše zmíněné) zdravotní komplikace (Pinto, 2011). Proto byly testovány nové přípravky, které by nevyžadovaly denní aplikaci (Simon et al., 2011).

Cílem farmaceutických firem bylo vytvořit směs vysoce koncentrovaného a dlouho působícího progesteronu. Firmy BET PHARM LLC, Lexington a KY vyvinuly přípravek, který pomalu uvolňuje progesteron a udržuje jeho koncentraci vyšší než 2 ng/ml po dobu sedmi až deseti dní, a to po aplikování jedné injekce (Burns et al., 2008). Simon et al. v nedávném pokusu léčil klisny v pozdní fázi jarního přechodného období přípravkem (BioRelease P4 LA300), který pomalu uvolňuje progesteron. Deset z dvanácti klisen ovulovalo mezi 10 a 24 dnem po léčbě (Simon et al. 2011).

Progesteron uvolňující zařízení

Progesteron uvolňující zařízení taktéž nevyžadují denní aplikaci. PRID (progesterone releasing intravaginal device), CIDR (controlled intravaginal drug release) a Cue – Mate (u klisen používaný pod názvem Cue – Mare) jsou používány především k léčbě hospodářských zvířat. Mnohé studie prokázaly, že jsou také velmi úspěšné při navozování ovulace u klisen v jarním přechodném období (Pinto, 2011). Progesteron uvolňující zařízení se aplikuje intravaginálně. Používání těchto přípravků je často spojováno se záněty pochvy (Youngquist a Threlfall, 2007). Pinto v knize *Equine Reproduction* uvádí, že tyto přípravky nejsou pro

použití v koňské medicíně povolené, až na Cue – Mare, který je však povolen jen na Novém Zélandě (Pinto, 2011). Nicméně bylo publikováno několik studií, kde byly přípravky Cue – Mare, CIDR i PRID u koní použity. Newcombe a Wilson zkoumali působení tohoto přípravku na klisny v přechodném období. Více jak 90% klisen ovulovalo v průměru 18,3 den po vložení. (Newcombe a Wilson, 1997).

V dalším pokusu 89% klisen v přechodném období, které byly léčené PRID, ovulovalo během deseti dní po vyjmutí (Newcombe, 2002). Novodobější studie zjistila, že 85% ze 151 klisen, které byly léčené Cue – Mare, se dostalo do říje během pěti dní a 88% ovulovalo během sedmi dní. 90% léčených klisen zabřezlo o 18 dní dříve než 84% klisen v kontrolní skupině (Hanlon a Firth, 2012).

V kombinaci s estrogeny

Nedávná studie zjistila, že kombinací P4 LA (dlouho působícího progesteronu) s estradiol benzoátem je možné připravit necyklující klisny v zimním anestru nebo jarním přechodném období na příjem embrya při embryotransferu. Tento protokol přináší efektivní alternativu v době, kdy je nedostatek normálně cyklujících klisen pro embryotransfer (Kaercher et al., 2013).

Potlačení říje a říjového chování

Jestliže se má klisna účastnit závodů nebo výstavy, je říjové chování naprosto nežádoucí. Říjící klisna není plně soustředěná na výkon, který se od ní očekává, a navíc upoutává pozornost přítomných hřebců, což je taktéž nežádoucí (Pryor a Tibary, 2005).

Říje a s tím spojené říjové chování se dá potlačit léčbou exogenními progestiny, a to buď podáním altrenogestu (*per os*) nebo progesteronu v oleji (injekčně) (Aksoy et al., 2013). Léčba progestinem může začít v jakékoli fázi estrálního cyklu a klisna by měla zůstat v diestru po celou dobu léčby (Squires et al., 1983). V jedné studii byly říjící klisny a klisny ve středním diestru léčeny altrenogestem. U všech klisen byla říje během 2 – 3 dnů úspěšně zablokována (Pinto, 2011).

Prodloužení luteální fáze cyklu pomocí progestinů nemá žádný škodlivý vliv na reprodukční soustavu klisny ani na její celkové zdraví. To potvrzuje studie, kde byly klisny léčené po 88 dní dávkami 5x většími (0,22 mg/kg) než je dávka doporučená (0,044mg/kg). Během léčby ani po ní nebyl objeven žádný toxický účinek ani negativní účinek na celkové zdraví (Shideler et al., 1982).

Březí klisny

Progesteron je nezbytně nutný pro udržení březosti během prvního trimestru. Snížená hladina progesteronu je způsobena luteální nedostatečností, kdy má žluté tělísko omezenou nebo žádnou schopnost tvorby progesteronu. Častou příčinou je zánět dělohy, v důsledku něhož je z postiženého endometria vylučován $\text{PGF}_{2\alpha}$, který způsobí luteolýzu (Vanderwall, 2008). Snížená koncentrace progesteronu nebo úplná ztráta žlutého tělíska způsobí časnou embryonální ztrátu (Allen, 2001). Altrenogests a progesteron v oleji mají schopnost udržet březost i bez přítomnosti žlutého tělíska. U takto postižených klisen je léčba progesteronem přerušena teprve ve chvíli, kdy je placenta plně schopna sama produkovat progesteron (120. – 150. den březosti) a udržovat tak březost klisny (Squires, 2008). Studie Hinrichs et al. (1986) se zabývá účinkem altrenogestu na klisny, které prodělaly ovarioktomii. Zjistil, že dávka $44\mu\text{g}/\text{kg}$ není tak účinná jako dávka dvojnásobná $88\mu\text{g}/\text{kg}$. Léčba progesteronem a altrenogestem je nezbytnou součástí embryo transferu ve chvíli, kdy je jako příjemkyně použita anestrická klisna nebo kiska po ovariektomii. Díky progesteronové léčbě klisny zůstávají po embryotransferu březí (Daels, 2006).

Léčbou altrenogestem je možné zabránit abortům u klisen v pozdních fázích březosti, jejichž březost je klasifikovaná jako riziková. Altrenogest má totiž přímý vliv na kontrakce myometria (Neuhauser et al., 2009).

Klisny po porodu

První říje, a tedy i první potencionální šance klisnu úspěšně připustit, přichází krátce po ohřebení. Avšak úspěšnost připouštění během první říje po ohřebení je nižší než u klisen inseminovaných třicátý den po porodu (Pinto, 2011). Loy ve své studii uvádí, že pravděpodobnost zabřeznutí klisen, které říjí dříve než desátý den po ohřebení, je nižší než u těch, které říjí později (Loy, 1980). Možnost jak zvýšit fertilitu první ovulace (po ohřebení) je léčba progestinem (Pinto, 2011) nebo jeho kombinace s estradiolem 17β (Bruemmer et al., 2002), který je však v EU zakázaný (Lane et al., 2008). Cílem těchto hormonálních terapií je oddálit nástup první ovulace a dopřát tak děloze více času na regeneraci. Endometrium pak lépe odolává potencionální kontaminaci, která může nastat během inseminace. Léčba je prováděna buď progesteronem v oleji nebo altrenogestem často ještě v kombinaci s estradiolem 17β . Musí být zahájena nejpozději 24 hodin po porodu a trvá nejméně osm dní. Léčba progesteronem sama o sobě nezabrání ovulaci, a proto se může stát, že během léčby

dojde k ovulaci a tvorbě žlutého tělíska. Z tohoto důvodu je na konci léčby progestiny aplikovaný PGF2 α proto, aby rozrušil případně přítomné žluté tělísko (Pinto, 2011).

Estrální synchronizace

Synchronizaci říje při umělém oplodnění a embryo transferu lze pomocí progestinu provést dvěma způsoby (Pinto, 2011). Jedním ze způsobů je podávání samotného progestinu po dobu 10 – 14 dní, a to všemi možnými způsoby (v oleji, v injekci jako dlouho působící progesteron nebo jako progesteron uvolňující zařízení). Nejběžněji se však používá orální altrenogest (0,044 mg/kg) (Squires, 2008). Druhou možností je aplikovat injekce progesteronu v kombinaci s injekcemi estradiolu po dobu 10 dní (Pinto, 2011).

Vedou se diskuze o tom, do jaké míry lze samotnou léčbou exogenními progestiny kontrolovat ovulaci (Squires, 2008). Ať už je léčba prováděná samotným progestinem nebo jeho kombinací s estradiolem, je zpravidla kombinovaná s PGF2 α (Blanchard et al., 1992). Synchronizace estru pomocí steroidních hormonů může být indikovaná v jakékoli fázi estrálního cyklu u cyklujících klisen (Scherzer, 2010). Loy et al. ve své studii léčil dvě skupiny klisen s tím rozdílem, že na konci léčby jedné skupiny aplikoval PGF2 α . První skupinu léčil injekcemi progesteronu (150 mg) a estradiolu 17 β (10 mg) denně po dobu deseti dní. Výsledkem bylo, že patnáct klisen z šestnácti ovulovalo mezi 9. a 13. dnem po ukončení léčby, z toho třináct klisen ovulovalo mezi 10. a 12. dnem. V druhé skupině indikoval stejnou desetidenní léčbu steroidními hormony s tím, že desátý den po ukončení léčby steroidy, byl podán PGF2 α (10 mg). Dvacet klisen ovulovalo mezi 9. a 13. dnem po injekci s tím, že osmnáct z nich ovulovalo mezi 10. a 12. dnem po injekci. Výsledky naznačují, že léčba steroidními hormony v kombinaci s prostaglandínem může zúžit časový interval, v kterém klisny ovulují (Loy et al., 1981).

Klug a Jöchle uvádějí, že synchronizaci estru lze navodit terapií, která kombinuje injekci estradiolu 17 β s progesteron uvolňujícím zařízením (PRID, CIDR nebo Cue-Mare). Po této terapii následuje injekce PGF2 α . Tato terapie je vysoce úspěšná a říji navodí rychleji v porovnání s injekcemi progesteronu/estradiolu. 95% klisen ovulovalo 2 – 2,4 dne po injekci PGF2 α (Klug a Jöchle, 2001).

3.4.6 Léčba oxytocinem

Klinické využití oxytocinu v koňské gynekologii je poměrně široké. Oxytocin způsobuje děložní kontrakce, čehož se dá využít při odstraňování děložní tekutiny, která z různých patologických příčin neodtéká, při odstranění zadržovaných plodových obalů a při navození porodů. Dále se využívá pro navození laktace či mateřského chování. V poslední době se také používá pro potlačení říjového chování, a to prodloužením životnosti žlutého tělíska (LeBlanc, 2011).

Poločas rozpadu oxytocinu je pouze 6,8 minuty (Paccamonti et al., 1999), zatímco jeho syntetický analog carbetocin v těle vydrží až 17 minut (Schramme et al., 2008).

Léčba klisen po inseminaci a podpora odtoku děložní tekutiny

V průběhu inseminace, především přirozené, může dojít ke kontaminaci pohlavních cest, což může vést až ke vzniku zánětu endometria. Endometritida je nejčastějším důvodem toho, proč děložní tekutina neodtéká (Zent et al., 1998). Běžně se vyskytuje těsně po páření. Pokud děložní tekutina neodteče do 12 hodin po páření, jedná se o patologický jev (Watson, 2000). Podáváním oxytocinu během říje se stimuluje uvolňování $\text{PGF}_{2\alpha}$, a tím i vyprazdňování dělohy (Reitzenstein, 2002).

Allen v roce 1991 zjistil, že oxytocin podporuje odvodnění tzv. clearance dělohy u klisen, které mají tento děj narušen (Allen, 1991). Pozdější studie LeBlanc et al. (1994), ve které byla provedena uterinní scintigrafie, jen potvrdila Allenovo tvrzení. Klisny, které z dělohy vypudily po intraděložní infuzi méně než 10% radiokoloidu, po podání 20 IU oxytocinu (intravenózně) vypudily za třicet minut 95% radiokoloidu. Délka a síla děložních kontrakcí vyvolaných oxytocinem jsou závislé na dávce, způsobu podání a v neposlední řadě na fázi estrálního cyklu, ve které je oxytocin indikován. Gutjahr et al. (2000) ve své práci závěrem píše, že léčba oxytocinem zahájená ještě před ovulací přináší větší odezvu v podobě děložních kontrakcí než léčba zahájená po ovulaci. Dávka 10 IU oxytocinu, podávaná intravenózně ještě před ovulací, způsobí kontrakce trvající 24 minut, zatímco dávky 5 UI a 2,5 UI jen 16,3 a 17,6 minuty (Cadario et al., 1999). Oxytocin indikovaný po ovulaci je doporučeno podávat ve vyšších dávkách 20 UI – 25 UI (Paccamonti et al., 1999). Ukázalo se, že pokles v odpovědi na oxytocin podávaný po ovulaci nepřímo souvisí s koncentrací progesteronu (Gutjahr et al, 2000).

Nicméně Jones et al. (1991) ve své studii uvádí, že 30 IU a vyšší dávky oxytocinu podávané intravenózně snižují děložní kontrakce a tím pádem i clearance dělohy. Vysoké dávky oxytocinu mohou dokonce způsobit trvalou kontrakci (křeč), namísto zvyšování frekvence.

Intramuskulární podání oxytocinu se od intravenózního podání liší v nástupu kontrakcí. Intramuskulárním podáním nastoupí kontrakce $11,8 \pm 1$ minuta, zatímco intravenózně je to v rozmezí 0,5 až 1 minuta (Cadario et al., 1999). Doba trvání kontrakcí je závislá na velikosti dávky. Dávka 5 – 10 IU podaná intramuskulárně je spojená s 40 – 50 minutovým trváním kontrakcí, zatímco dávka 20 – 40 IU s 90 – 100 minutovým trváním.

Terapie oxytocinem není stejně účinná u všech klisen zadržujících děložní tekutinu. Ukázalo se, že některé klisny nereagují na běžné dávky oxytocinu (20 IU) podané intravenózně nebo intramuskulárně, ale k jejich léčbě jsou potřeba dávky mnohem vyšší (50 – 80 IU) podané v podobě intrauterinní infuze (Reitzenstein et al., 2002).

Léčba klisen oxytocinem se zahajuje mezi čtvrtou a osmou hodinou po skoku (inseminaci). Je to dostatečně dlouhá doba na to, aby se spermie dostaly do vejcovodu, ale ne dost dlouhá na to, aby se bakterie stačily rozmnožit (Williamson et al., 1987; Brinsko et al., 1991). Oxytocin může být podáván opakovaně ve čtyř až šesti hodinových intervalech po dobu dvou až tří dní. Pycoc a Newcombe (1996) zjistili, že léčba oxytocinem (intravenózně) v kombinaci s antibiotickým výplachem dělohy zvýší procento zabřezlých klisen v porovnání s klisnami léčených samotným oxytocinem nebo antibiotiky.

Navození porodů

Délka trvání běžné březosti se pohybuje v poměrně velkém rozmezí 325 – 360 dní s tím, že konečné zrání hříbete se odehrává během posledních pěti až sedmi dní březosti (Cudd et al., 1995). Díky těmto faktům není úplně jednoduché správně odhadnout, kdy může být porod navozen. Špatné odhadnutí a navození porodu v nesprávnou dobu může vést ke kritickým zdravotním problémům jak hříbete, tak i klisny (Rossdale et al., 1997).

U klisen lze zahájit léčbu oxytocinem, pokud jsou splněny následující podmínky: minimální délka březosti musí být 330 dní, ve vemeni musí být přítomno kolostrum, mléčná žláza musí vylučovat vápník o koncentraci vyšší než 40 mg/dl a také v ní musí být vyšší produkce draslíku než sodíku (Ousey et al., 1984). Pro navození porodů se používají dávky oxytocinu v rozmezí 7,5 – 140 IU. Dávky jsou podávány bolus intravenózně, injekcí intramuskulárně nebo infuzí. Studie z roku 1977 doporučuje podávat 100 – 140 IU oxytocinu v jedné injekci (intramuskulárně) na 450 kg. Léčené klisny prokazovaly známky nepohody a

pocení. Většina z nich porodila do 30 minut po aplikaci injekce. Avšak mnoho narozených hříbat mělo hypoxii (Jeffcott a Rossdale, 1977). Proto se doporučují nižší dávky (40 – 60 IU) podávané bolus intravenózně nebo infuzí. Alternativně může být 10 – 15 IU oxytocinu podáváno (intravenózně nebo intramuskulárně) každých 20 minut až do prasknutí chorioallantoisu (maximální celková dávka oxytocinu 75 UI) (Knottenbelt et al., 2003). Úspěšnou a bezpečnou metodou, jak navodit porod u klisen v termínu, se ukázala být denní podávání nízkých dávek oxytocinu (2,5 – 3,5 IU). Hlavní výhodou této metody je to, že navodí porod pouze u klisen, které nesou zralý plod a připraveny k porodu (Villani a Romano, 2008).

Léčba klisen se zadržnými plodovými obaly

Plodové obaly jsou u klisen běžně vypuzeny do tří hodin po porodu. Není však výjimkou, že jsou vypuzeny 12 – 16 hodin po porodu, a to bez patologických projevů (LeBlanc, 2011). Oxytocin používaný samotný nebo v kombinaci s jinými terapiemi je obvyklou metodou pro vypuzení zadržných plodových obalů (Provencher et al., 1988).

Léčba je zpravidla zahájena 5 – 8 hodin po porodu. Oxytocin je podáván několikrát denně intravenózně, intramuskulárně nebo v infuzi. Doporučená dávka oxytocinu je v 10 – 40 IU, podávaná v časových intervalech 0,5 – 4 hodiny (LeBlanc, 2011). Bylo zjištěno, že infuze 30 – 60 IU oxytocinu zředěných s litrem fyziologického roztoku, podávaná po dobu 1 hodiny, poskytuje lepší fyziologickou odpověď než velká dávka intravenózně (Vandeplassche et al., 1971).

Poporodní léčba klisen

Léčba oxytocinem v poporodním období se aplikuje u klisen, které měli těžký průběh porodu nebo klisnám s poporodními problémy (např. při zadržní plodových obalů). Oxytocin podporuje zčištění dělohy a její celkovou regeneraci. Léčba se často kombinuje s dalšími léčebnými metodami jako je děložní laváž, podávání antibiotik či aplikace nesteroidních protizánětlivých léků pro léčbu metritid.

Dávkování oxytocinu je podobné jako při léčbě klisen se zadržnými plodovými obaly (20 – 40 IU). První dávka se aplikuje vždy po děložní laváži, zbývající dávky se podávají ve čtyř až šesti hodinovém intervalu (LeBlanc, 2011).

Potlačení říjového chování

Nedávná studie kolektivu Vanderwall et al. (2007) odhalila, že podávání 60 IU oxytocinu dvakrát denně, sedmý až čtrnáctý den po ovulaci, je efektivní metodou jak potlačit luteolýzu a prodloužit tak životnost žlutého tělíska. Závěrem autor píše, že narušení luteolýzy podáním exogenního oxytocinu během diestru, se zdá být dobrou a praktickou metodou, jak dlouhodobě potlačit říjí u klisen (Vanderwall et al., 2007). Avšak přesný mechanismus, jak k tomuto jevu dochází, není znám. Předpokládá se, že opakované nebo kontinuální podávání oxytocinu, zahájené do deseti dnů po ovulaci, inhibuje luteolýzu tím, že zabraňuje nárůstu počtu endometriálních receptorů, na které se oxytocin váže. Vazebných míst pro oxytocin není dost na to, aby mohl stimulovat vylučování $\text{PGF}_{2\alpha}$ z endometria v době luteolýzi (Stout et al., 1999).

Vanderwall et al. (2012) potvrzují výsledek své předchozí práce (Vanderwall et al., 2007) ohledně účinnosti oxytocinu na prodloužení životnosti žlutého tělíska. Dále uvádí, že oxytocin stačí podávat pouze jednou denně a jeho účinnost na prodloužení životnosti žlutého tělíska zůstane stejná. Tato studie zároveň vyvrací tvrzení Stout et al. (1999). Vanderwall et al. (2012) v závěru píše, že léčba oxytocinem nemá vliv na počet endometriálních receptorů, vazebných míst pro oxytocin, a proto mechanismus, kterým oxytocin zabraňuje luteolýze, zůstává neznámým.

3.4.7 Využití EPE, eFSH a reFSH v léčbě klisen a při navození superovulace

Equinní hypofyzární extrakt (EPE), equinní a rekombinantní folikulostimulační hormony (eFSH a reFSH) se využívají pro stimulaci růstu folikulů u klisen v anestru, jarním přechodném období a u cyklujících klisen (Niswender et al., 2004). Dále je lze použít k léčbě klisen v poporodním anestru nebo klisen s nepravidelnými estrálními cykly během připouštěcího období (Meyers-Brown et al., 2013). Největší pozornost je však věnována jejich schopnosti navodit vývoj a ovulaci několika preovulačních folikulů, takzvanou superovulaci (Squires, 2008).

EPE, eFSH jsou přípravky, které obsahují gonadotropní hormony, FSH i LH, a to v různém poměru (Squires a McCue, 2011). EPE a eFSH jsou extrahovány z koňských hypofýz. EPE přípravky jsou co do poměru gonadotropních hormonů značně variabilní, udává se, že obsahují 6 – 10% LH a 2 – 4% FSH (Strickland, 2001). Jelikož je účinnost EPE závislá

na obsaženém množství FSH, je zřejmé, že i odpověď na léčbu jednotlivými EPE přípravky se bude značně lišit (Roser a Meyers-Brown, 2012). Pravděpodobně z těchto důvodů není EPE komerčně dostupný a byl využíván především v počátečních výzkumech (Squires et al, 1987). V letech 2003 – 2012 společnost Bioniche Animal Health komerčně vyráběla standardizovaný equinní hypofyzární extrakt obsahující FSH a LH v poměru 10:1. Tento přípravek byl získáván čištěním EPE a byl označován jako eFSH (Squires a McCue, 2007). Dnes již bohužel není na trhu dostupný. Získávání a čištění koňských hypofýz není snadný proces, proto se hledají jiné cesty pro výrobu exogenního FSH, kterou se zdá být geneticky klonovaný rekombinantní equinní FSH (reFSH). Jedná se o jednořetězovou molekulu na rozdíl od původních forem, které jsou dvouřetězové (Jablonka-Shariff, et al., 2007). reFSH je (oproti eFSH a EPE) zbaven veškerých příměsí LH a dalších nečistot (Roser, et al., 2004) a navíc je snáze dostupný než eFSH, který je limitovaný množstvím dostupných surových koňských hypofýz (Squires a McCue, 2011).

Léčba klisen v anestru a jarním přechodném období

Douglas et al. (1974) jako první použili EPE (equine pituitary extract) k navození první ovulace roku u sezonně anestrických klisen. V této studii 87% léčených klisen ovulovalo a 57% klisen ovulovalo více než jeden folikul. Woods a Ginther (1982) ve své studii uvádějí, že EPE je při navozování ovulace u anestrických klisen účinnější, jestliže se podává ve chvíli, kdy jsou na vaječnicích folikuly o velikosti alespoň 25 mm. Dále uvádějí, že 60% léčených klisen mělo mnohočetnou ovulaci. Coy et al. (1999) porovnávali reakci na léčbu EPE u klisen v hlubokém anestru a klisen v jarním přechodném období. 89,9% klisen v jarním přechodném období ovulovalo v odpovědi na léčbu EPE, zatímco klisen v hlubokém anestru ovulovalo jen 22,2%. Niswender et al. (2004) ve své studii léčil klisny v jarním přechodném období dvakrát denně dávkami 12,5 mg eFSH. Zjistil, že léčba eFSH aplikovaná dvakrát denně následovaná injekcí hCG způsobí ovulaci u 80% léčených klisen. Časový interval od zahájení léčby po ovulaci byl $7,6 \pm 2,4$ dne. Více než jeden folikul ovulovalo 40% klisen.

Meyers – Brown et al. (2013) v nedávném experimentu zjišťovali, zda je možné pomocí reFSH v kombinaci s umělým přisvicováním stimulovat růst folikulů u klisen v hlubokém anestru a navodit tak první ovulaci roku. Klisnám bylo dvakrát denně aplikováno 0,65 mg reFSH. Potom, co se na vaječnicích objevily preovulační folikuly (35 mm), byla aplikována injekce hCG (2500 IU). Závěrem studie bylo, že tato terapie úspěšně stimuluje růst ovulačního folikulu a urychluje tak nástup první ovulace u klisen v hlubokém anestru.

Tato léčba však není úspěšná pro navození trvalé cykličnosti klisen (Meyers – Brown et al., 2013).

Superovulace

Superovulace je děj, při němž folikuly, které jsou odsouzené k zániku, nebo nebyly vybrány k ovulaci, i přesto pokračují ve svém vývoji a ovulují společně s dominantním folikulem (Strickland, 2001). V některé literatuře se uvádí, že u klisen je velmi obtížné dosáhnout superovulace, a to kvůli anatomickému uspořádání jejich vaječnicků, kdy folikuly dozrávají uvnitř (vaječnicku) a k ovulaci dochází na povrchu vaječnicku pouze na jediném místě, v ovulační jamce (Squires a McCue, 2007). U jiných hospodářských zvířat folikuly dozrávají a ovulují na celém povrchu vaječnicku a je pravdou, že díky tomu reagují na terapie navozující superovulaci mnohem lépe než klisny. Zatímco léčené krávy poskytovaly v průměru šest embryí schopných transferu (McCue, 1996), u klisen nelze hovořit o úspěchu této léčby. Léčené klisny totiž poskytovaly stejné nebo menší množství embryí jako spontánně ovulující klisny (McCue, 1996; Squires, 2006; McCue et al., 2008). Carmo et al. (2006) ve své studii zjistili, že léčené klisny měly v ovulační jamce sraženou krev, která narušovala transport vajíčka.

Navození úspěšné a efektivní superovulace by v první řadě zvýšilo úspěšnost programů na embryotransfer a snížilo jejich náklady. Dále by poskytovalo více oocytů a embryí pro reprodukční techniky jako jsou: mražení oocytu a embryí, přenos gamet do vejcovodu (GIFT) či intra-cytoplasmatická injekce spermií (ICSI) (Roser a Meyers-Brown, 2012).

Pro navození superovulace je velmi důležité načasování léčby, která by měla být zahájena ještě před vznikem dominantního folikulu, tedy na začátku folikulární vlny (Squires a McCue, 2007). Woods a Ginther (1983) zjistili, že léčba zahájena 15. – 19. den po ovulaci je úspěšnější než léčba zahájena 19. – 23. den po ovulaci. Dippert et al. (1992) porovnávali odpověď klisen na léčbu zahájenou 5. a 12. den po ovulaci. Počet ovulací byl prokazatelně vyšší u klisen, u kterých byla léčba zahájena 5. den (2,9 ovulace) v porovnání s těmi, u kterých byla zahájena 12. den (1,1 ovulace). Na základě těchto experimentů jsou metody a léčebné terapie pro navození superovulace zahajované 5. – 7. den po ovulaci, v době první folikulární vlny (Squires a McCue, 2007). Dalším faktorem, který významně ovlivňuje odpověď klisny na léčbu, je frekvence, s jakou se EPE, eFSH nebo reFSH podávají. Scoggin et al. (2002) ve svém experimentu léčili klisny 25 mg EPE jednou a dvakrát denně nebo 12 mg EPE jednou a dvakrát denně. Zjistili, že počet ovulací na klisnu je vyšší po podání 25 mg

EPE dvakrát denně (4,7 ovulace). Avšak výtěžnost embryí na klisnu byla vyšší po podání 12 mg EPE dvakrát denně (2,6 embrya). Na základě této studie je doporučováno aplikovat superovulační přípravky dvakrát denně (Squires a McCue, 2007). Niswender et. al. (2003) porovnávali účinnost dvou odlišných dávek eFSH, 12,5 mg a 25 mg podávaných dvakrát denně. Léčba byla zahájena 5. – 6. den po ovulaci. Jakmile folikuly dosáhly požadované velikosti, byla indikována ovulace, pomocí hCG nebo deslorelinu. Nejvíce preovulačních folikulů se objevilo na vaječnicích klisen, léčených 25 mg (6,7 folikulu), avšak pouze polovina z nich ovulovala. Embryonální výtěžnost na ovulaci byla nižší u klisen léčených 25 mg (18%) v porovnání s klisnami léčenými 12,5 mg (52%). Klisny reagují na léčbu eFSH různě. Jedním z problémů superovulace je určení správné dávky eFSH u jednotlivých klisen. Příliš vysoké dávky vedou k zdravotním komplikacím, jako jsou anovulační folikuly proměněné v luteinizační tkáň nebo folikulární cysty (Squires a McCue, 2007). Účinnost terapie může být ovlivněna i přípravkem, který je pro navození superovulace použit. To dokazuje studie Machado et al. (2004), ve které se porovnávala účinnost EPE a eFSH. Embryonální výtěžnost byla vyšší po léčbě eFSH (50%) v porovnání s léčbou EPE (30%).

Naopak Meyers-Brown et al. (2010) porovnávali účinnost reFSH s účinností eFSH. Všechny ukazatele posuzující úspěšnost superovulace (počet preovulačních folikulů, ovulací, embryí na výplach a embryí na jednu ovulaci) byly u všech léčených klisen srovnatelné. V poslední době se zkoumá schopnost reFSH v kombinaci s rekombinantním luteinizačním equinním hormonem (reLH) navodit úspěšnou superovulaci. Tato kombinace zvyšuje počet ovulací a embryonální výtěžnost, naopak snižuje počet anovulačních folikulů. Zdá se, že tato kombinace je úspěšnější při navození superovulace než použití samotného reFSH (Meyers-Brown et al., 2011).

4 Závěr

Cílem práce bylo vytvořit ucelenou literární rešerši na téma hormonální terapie v reprodukci klisen.

Na základě sestudovaných materiálů je zřejmé že:

- Prostaglandin $F_{2\alpha}$ se využívá pro manipulaci s luteální fází estrálního cyklu, avšak odpověď na tuto léčbu je u jednotlivých klisen značně variabilní. Dále se používá k přerušování abnormální či nechtěné březosti u klisen.
- Prostaglandin E_2 stimuluje elektromyografickou aktivitu vejcovodu a tím usnadňuje průchod gamet nebo embryí vejcovodem. Použitím tohoto hormonu by teoreticky mohlo zvýšit úspěšnost inseminace mraženým a chlazeným spermatem.
- Lidský choriový gonadotropin navodí do 48 hodin spolehlivě ovulaci u klisen, na jejichž vaječnicích se nachází folikul o velikosti 35 mm. Nicméně někteří autoři uvádějí, že účinnost hCG se snižuje, pokud je podáván za dané přípouštěcí období vícekrát.
- Gonadotropin uvolňující hormon navozuje ovulaci za stejných podmínek jako hCG a je podobně účinný. Ovšem použití některých GnRH přípravků může způsobit prodloužení interovulačního intervalu.
- Progestiny jsou úspěšně využívány pro potlačení říje a říjového chování a dále pak pro udržení rizikové březosti klisen.
- Oxytocinem lze vyvolat děložní kontrakce a toho se využívá při léčbě klisen se zadržanou děložní tekutinou, při podpoře čištění dělohy a léčbě klisen s endometritidami, při navození porodů a při vypuzování zadržovaných plodových obalů. V poslední době se zkoumá vliv oxytocinu na potlačení luteolýzy a prodloužení životnosti žlutého tělíska.
- Equinní hypofyzární extrakt, equinní folikulostimulační hormon a rekombinantní equinní folikulostimulační hormon prokazatelně stimulují růst a vývin několika preovulačních folikulů. Avšak schopnost těchto hormonálních terapií navodit superovulaci je u klisen, z důvodu anatomického uspořádání vaječníků, značně omezená.

5 Citovaná literatura

- Ainsworth, C. G., Hyland, J. H. 1991. Continuous infusion of GnRH advances the onset of oestrous cycles in thoroughbred mares on Australian stud farms. *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl. 44. 235 – 240.
- Aksoy, O. A., Ay, S. S., Kaya, D., Handler, J., Aslan, S. 2013. The Effectiveness of Progesterone-Releasing Intravaginal Device with Daily GnRH Injections on the Reproductive Parameters of Mares in Diestrus. *Animal Health Production and Hygiene*. 2 (1). 145 – 151.
- Alexander, S. L., Irvine, C. H. G. 2011. GnRH. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1608 – 1615. ISBN: 9780813819716.
- Allen, W. R. et al. 1987. Induction of ovulation in anestrus mares with slow – release implant with GnRH analogue (ICI 118 630) *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl. 35. 469 – 478.
- Allen, W. R. 2001. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*. 36 (3 – 4). 121–131.
- Asbury, A. C. 1988. The use of prostaglandins in broodmare practice. *Proc Am Assoc Equine Pract*. p. 196.
- Barrier-Battut, I., Le Poutre, N., Trocherie, E., Hecht, S., Grandchamp des Raux, A., Nicaise, J. L., Vérin, X., Bertrand, J., Fiéni, F., Hoier, R., Renault, A., Egron, L., Tainturier, D., Bruyas, J. F. 2001. Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology* 55 (8). 1679–1695.
- Becker, S. E., Johnson, A. L. 1992. Effects of gonadotropin-releasing hormone infused in a pulsatile or continuous fashion on serum gonadotropin concentrations and ovulation in the mare. *Journal of Animal Science*. 70 (4). 1208-1215.
- Bergfelt, D. R. 2009. Anatomy and Physiology of the Mare. In: Samper, J. C. (ed.). *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Saunders Elsevier. Missouri. p. 113 – 131. ISBN: 978-1-4160-5234-0.
- Bergfelt, D. R., Ginther, O. J. 1993. Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*. 39 (4). 781 – 796.
- Blanchard, T. L., Varner, D. D., Burns, P. J., Everett, K. A., Brinsko, S. P., Boehnke, L. 1992. Regulation of estrus and ovulation in mares with progesterone or progesterone and estradiol microspheres with or without PGF 2α . *Theriogenology*. 38 (6). 1091-1106.

- Bollwein, J., Braun, J. 1999. Follicular dynamics after treatment with hCG for ovulation induction in mare. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 27 (1). 47 – 51.
- Brinsko, S. P., Varner, D. D., Blanchard, T. L. 1991. The effect of uterine lavage performed four hours post insemination on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*. 35 (6). 111-1119.
- Bristol, F. 1987. Kontrol of the mare's reproductive cycle: In: *Proceedings of Annual Meeting of the Society of Theriogenology*. p. 309 – 321.
- Bruce, D. M. 2000. Models of Luteinization. *Biology of Reproductin*. 63 (1). 2–11.
- Bruemmer, J. E., Brady, H. A., Blanchard, T. L. 2002. Uterine involution, day and variance of first postpartum ovulation in mares treated with progesterone and estradiol-17beta for 1 or 2 days postpartum. *Theriogenology*. 57 (2). 989 – 995.
- Bryman, I., Lindblom, B., Norström, A. 1982. Extrême sensitivity of cervical musculature to prostaglandin E2 in erly pregnancy. *Lancet*. 2. p. 1971.
- Burns, P. J., Thompson, D. L., Storer, W. A., Gilley, R. M. 2008. Evaluation of Sustained Release Progestin Formulations in Mares. *Proceedings 7th International Symposium on Equine Embryo*. p. 82–83.
- Cadario, M. E., Merritt, A. M., Archbald, L. F., Thatcher, W. W., LeBlanc, M. M. 1999. Changes in intrauterine pressure after oxytocin administration in reproductively normal mares and in those with a delay in uterine clearance. *Theriogenology*. 51 (5). 1017-25.
- Carmo, M. T., Alvarenga, M. A., Losinno, L., Aquilar, J. J. 2006. Oocyte transport to the oviduct of superovulated mares. *Animal Reproduction Science*. 94 (1 – 4). 337-339.
- Clayton, H. M., Flood, P. F., Rosenstein, D. S. 2005. *Clinical Anatomy of the Horse*. Saunders. St Louis. p. 128. ISBN: 978-0723433026.
- Coy, R. E., McCue, P. M., Bruemmer, J. E., Squires, E. L. 1999. Follicular response of mares in deep or transitional anestrus to equine pituitary extract. *Proceedings of the 16th Equine Nutrition Physiology Symposium*. 2-5. p. 65-68.
- Cudd, T. A., LeBlanc, M., Silver, M., Norman, W., Madison, J., Keller-Wood, M., Wood C. E. 1995. Ontogeny and ultradian rhythms of adrenocorticotropin and cortisol in the late-gestation fetal horse. *Journal of Endocrinology*. 144 (2). 271-83.
- Červený, Č. 2011. *Vademecum anatomie domácích savců pro studium a veterinární praxi*. Brázda. Praha. 272 s. ISBN: 978-80-209-0389-1.
- Daels, P. F. 2006. Progesterone Therapy and Pregnancy Loss. *8th AAEP Annual Resort Symposium*. p. 19 – 21.

- Davies Morel, M. C. G. 2008. *Equine Reproductive Physiology, Breeding, and Stud Management*. CABI. Cambridge. p. 378. ISBN: 978 1 84593 450 7.
- Davies Morel, M. C. G., O'Sullivan, J. A. 2001. Ovulation rate and distribution in the thoroughbred mare, as determined by ultrasonic scanning: the effect of age. *Animal Reproduction Science*. 66 (2). 59 – 70.
- Davies Morel, M. C. G., Newcombe, J. R. 2008. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Animal Reproduction Science*. 109 (1 – 4). 189–199.
- Donadeu, F. X., Ginther, O. J., 2002. Follicular waves and circulating concentrations of gonadotrophins, inhibin and oestradiol during the anovulatory season in mares. *Reproduction*. 124 (6). 875–885.
- Donadeu, F. X. Pedersen, H. G. 2008. Follicle Development in Mares. *Reproduction in Domestic Animals*. 43 (2). 224–231.
- Donald, M. Broom, A. F. 2007. *Domestic Animal Behaviour and Welfare*. CABI. Cambridge. p. 438. ISBN: 978-1845932879.
- Douglas, R. H., Nuti, L., Ginther, O. J. 1974. Induction of ovulation and multiple ovulations in seasonally anovulatory mares with equine pituitary fractions. *Theriogenology*. 2 (6). 133-42.
- Douglas, R. H., Ginther, O. J. 1975. Route of prostaglandin F_{2α} injection and luteolysis in mares. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 148 (1). 263 – 269.
- Driancourt, M.A. 1979. Follicular kinetics in the mare ovary. *Ann Biol Anim Biochim Biophys*. 19 (4). 1443–1453.
- Duchamp, G., Bour, B., Combarous, Y., Palmer, E. 1987. Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. *Jurnal of Reproduction and Fertility*. 35. 221 – 228.
- Enders, A. C. 1973. Cytology of the corpus luteum. *Biology of Reproduction*. 8 (2). 158 – 182.
- Evans, M. J., Irvine, C. H. G. 1976. Measurement of equine follicle stimulating hormon and luteinizing hormone response of anestrous mares to GnRH. *Biology of Reproduction*. 15 (4). 477 – 484.

- Evans, M. J., Gastal, E. L., Silva, L. A., Gastal, M. O., Kitson, N. E., Alexander, S. L., Irvine, C. H. G. 2006. Plasma LH concentrations after administration of human chorionic gonadotropin to estrous mares. *Animal Reproduction Science*. 94 (1 – 4). 191–194.
- Farquhar, V. J., McCue, P. M., Vanderwall, D. K., Squires, E. L. 2000. Efficacy of the GnRH agonist deslorelin acetate for inducing ovulation in mares relative to age of mare and season. *Journal of Equine Veterinary Science*. 20 (11). 722-725.
- Farquhar, V. J., McCue, P. M., Carnevale, E. M., Squires, E. L. 2001. Interovulatory intervals of embryo donor mares administered deslorelin acetate to induce ovulation. *Theriogenology*. 55 (1). 362.
- Farquhar, V. J. et al. 2002. Desloreline acetate (Ovuplant) therapy in cycling mares: effect of implant removal on FSH secretion and ovarian function. *Equine Veterinary Journal*. 34 (4). 417-420.
- Fitzgerald, B. P., Peterson, K. D., Silvia, P. J. 1993. Effect of constant administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist on reproductive activity in mares: preliminary evidence on suppression of ovulation during the breeding season. *American Journal of Veterinary Research*. 54 (10). 1746 – 1751.
- Garcia, M. C., Ginther, O. J. 1978. Regulation of plasma LH by estradiol and progesterone in ovariectomized mares. *Biol Reprod*. 19 (2). 447 – 453.
- Gastal, E. L. Gastal, M. O. Beg, M. A. Ginther, O. J. 2004. Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. *Reproduction*. 128 (4). 417–422.
- Ginther, O. J. 1974. Internal regulation of physiological processes through local venoarterial pathways: a review. *Journal of Animal Science*. 39 (3). 550–564.
- Ginther, O. J., Knopf, L., Kastelic, J. P. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and free follicular waves. *Journal of Reproduction and Fertility*. 87. 223 – 230.
- Ginther, O. J. 1990. Prolonged luteal activity in mares – a semantic quagmire. *Equine Veterinary Journal*. 22 (3). 152 – 156.
- Ginther, O. J. 1992. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*. Equiservis Publishing. Cross Plains, WI. p. 642. ISBN: 978-0964007215.
- Ginther, O. J. 1993. Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. *Journal of Equine Veterinary Science*. 13 (1). 18 – 25.

- Ginther, O. J. 1995. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction. Book 2. Equiservices Publishing. Cross Plains, WI. p. 394. ISBN: 9780964007246.
- Ginther, O. J., Pierson, R. A. 1989. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 9 (1). 4-12.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., Baerwald, A. R. and Pierson, R. A. 2004. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biology of Reproduction*. 71 (4). 1195–1201.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A. 2004. Seasonal influence on equine follicle dynamics. *Journal of Animal Reproduction* . 1 (1). 31 – 44.
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Baerwald, A. R., Pierson, R. A. 2005. Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: A comparative study. *Reproduction*. 130 (3). 379-388.
- Ginther, O. J., Hannan, M. A., Beg, M. A. 2011. Luteolysis and associated interrelationships among circulating PGF 2α , progesterone, LH, and estradiol in mares. *Domestic Animal Endocrinology*. 41 (4). 174–184.
- Gutjahr, S., Schams, D., Blouin, D. 1999. PGFM response to exogenous oxytocin and determination of the half-life of oxytocin in nonpregnant mares. *Equine Veterinary Journal*. 31 (4). 285-8.
- Gutjahr, S., Paccamonti, D. L., Pycocock, J. F., Taverne, M. A., Dieleman, S. J., Van Der Weijden, G. C. 2000. Effect of dose and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares. *Theriogenology*. 54 (3). 447-56.
- Hanlon, D. W., Firth, E. C. 2012. The reproductive performance of Thoroughbred mares treated with intravaginal progesterone at the start of the breeding season. *Theriogenology*. 77 (5). 952-958.
- Harrison, L. A., Squires, E. L., Nett, T. M., McKinnon, A. O. 1990. Use of gonadotropin-releasing hormone for hastening ovulation in transitional mares. *Journal of Animal Science*. 68 (3). 690-699.
- Hedberg, Y., Dalin, A. M., Santesson, M. Kindahl, H. 2006. A preliminary study on the induction of dioestrous ovulation in the mare – a possible method for inducing prolonged luteal phase. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 48 (1). 12.
- Heinze, H., Klug, E. 1975. The use of GnRH for controlling the oestrous cycle of the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*. 23. p. 279.

- Hinrichs, K., Sertich, P. L., Kenney, R. M. 1986. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. *Theriogenology*. 26 (4). 455-60.
- Hodos, W. Butler, A. B. 2005. *Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and Adaptation*. Wiley-Blackwell. Hoboken. p. 600. ISBN: 978-0-471-73383-6.
- Chavatte, P., Palmer, E. 1998. Induction of ovulation in the mare. *Equine Veterinary Education*. 10 (1). 26–30.
- Cheng, Y. C. (ed.). 2008. *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis*. Landes Bioscience. New York. p. 274. ISBN: 978-0387799902.
- Christensen, B. W. 2011. Estrogens. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1630 – 1635. ISBN: 9780813819716.
- Irvine, C. H. G. 1981. Endocrinology of the estrous cycle of the mare: Application to the embryo transfer. *Theriogenology*. 15 (1). 85 – 104.
- Irvine, C. H. G., McKeough, V. L., Turner, J. E. et al. 2002. Effectiveness of a two-dose regimen of prostaglandin administrativ in inducing luteolysis without averse side effects in mare. *Equine Veterinary Education*. 34 (2). 191-194.
- Jablonka-Shariff, A., Roser, J. F, Bousfield, G. R., Wolfe, M. W., Sibley, L. E., Colgin, M., et al. 2007. Expression and bioactivity of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH). *Theriogenology*. 67 (2). 311-20.
- Jeffcott, L. B., Rossdale, P. D. 1977. A critical review of current methods for induction of parturition in the mare. *Equine Veterinary Journal*. 9 (4). 208-15.
- Johnson, A. L. 1987. Gonadotropin-Releasing Hormone Treatment Induces Follicular Growth and Ovulation in Seasonally Anestrous Mares. *Biology of Reproduction*. 36 (5). 1199-1206.
- Johnson, C. A., Thompson, D. L., Kulinski, K. M., Guitreau, A. M. 2000. Prolonged interovulatory interval and hormonal ganges in mares following the use of Ovuplant to hasten ovulation. *Journal of Equine Veterinary Science*. 20 (5). 331 – 336.
- Jochle, W., Trigg, T. E. 1994. Control of ovulation in the mare with Ovuplant. A short-term repase implant (STI) containing the GnRH analogue deslorelin acetate: studies from 1990 to 1994. *Journal of Equine Veterinary Science*. 14 (12) 632 – 644.
- Jones, D. M., Fielden, E. D., Carr, D. H. 1991. Some physiological and pharmacological factors affecting uterine motility as measured by electromyography in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*. 44 (Suppl). 357-368.

- Kaercher, F., Kozicki, L. E., Camargo, C. E., Weiss, R. R., dos Santos, I. W., Muradas, P. R., Bertol, M. A. F., de Abreu, R. A. 2013. Embryo Transfer in Anovulatory Recipient Mares Treated with Estradiol Benzoate and Long-Acting Progesterone. *Journal of Equine Veterinary Science*. 33 (3). 205 – 209.
- Kittnar, O. a kol. 2011. *Lékařská fyziologie*. GRADA. Praha. 800 s. ISBN: 978-80-247-3068-4.
- Klug, E., Jöchle, W. 2001. Advances in synchronizing estrus and ovulations in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 21 (10). 474 – 479.
- Knottenbelt, D. C., Pascoe, R. R., LeBlanc, M., Lopate, Ch. 2003. *Equine Stud Farm Medicine & Surgery*. Saunders. London. p. 368. ISBN: 978-070-2021-305.
- Lane, E. A., Austin, E. J., Crowe, M. A. 2008. Oestrous synchronisation in cattle – Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Animal Reproduction Science*. 109 (1 – 4). 1 – 16.
- LeBlanc, M. M. 2011. Oxytocin. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1830 – 1835. ISBN: 9780813819716.
- LeBlanc, M., Neuwirth, L., Mauragis, D., Klapstein, E., Tran, T. 1994. Oxytocin enhances clearance of radiocolloid from the uterine lumen of reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Veterinary Journal*. 26 (4). 279-82.
- Lindholm, A. R. G., Bloemen, E. H. G., Brooks, R. M., Ferris, R. A., McCue, P. M. 2010. Comparison of deslorelin and buserelin in mares: LH response and induction of ovulation. *Animal Reproduction Science*. 121 (1 – 2). 68–70.
- Loy, R. G. 1980. Characteristics of postpartum reproduction in mares. *Vet Clin North Am Large Anim Pract*. 2 (2). 345-9.
- Loy, R. G., Pemstein, R., O'Canina, D., Douglas, R. H. 1981. Control of ovulation in cycling mares with ovarian steroids and prostaglandin. *Theriogenology*. 15 (2). 191-200.
- Marvan, F. a kol. 1998. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda. Praha. 304 s. ISBN 80-209-0273-2.
- McCracken, J. A. 1980. Hormone receptor control of PGF_{2α} secretion by the ovine uterus. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res*. 8. 1329–1344.
- McCracken, J. A., Custer, E. E., Lamsa, J. C., Robinson, A. G. 1995. The central oxytocin pulse generator: a pacemaker for luteolysis. *Adv. Exp. Med. Biol*. 395. 133–154.

- McCracken, J. A., Custer, E. E., Lasma, J. C., 1999. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. *APS Journal*. 79 (2). 263–323.
- McCue, P.M. 1996. Superovulation in mares. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 12. 1-11.
- McCue, P.M., Faquhar, V. J., Squires, E. L. 2000. Effect of the GnRH agonist deslorelin acetate on pituitary function and follicular development in the mare. *Proceedings of 46th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. p. 355.
- McCue, P. M., Niswender, K. D., Farquhar, V. J. 2002. Induction of ovulation with deslorelin: options to facilitate implant removal. *Journal of Equine Veterinary Science*. 22 (2). 54 – 55.
- McCue, P. M., Magee, C., Gee, E. K. 2007. Comparison of Compounded Deslorelin and hCG for Induction of Ovulation in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 27 (2). 58 – 61.
- McCue, P. M., Scoggin, Ch. F., Lindholm, A. R. G. 2011. Estrus. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1716 - 1727. ISBN: 9780813819716.
- McKinnon, A. O. Nobelius, A. M., Tarrida del Marmol Figueroa, S., Skidmore J., Vasey, J. R.. Trigg, T. E. 1993. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin. *Equine Veterinary Journal*. 25 (4). 321 – 323.
- Meinert, C., Silva, J. F. S., Kroetz, I., Klug, E., Trigg, T. E., Hoppen, H. O., Jöchle W. 1993. Advancing the time of ovulation in the mare with short term implant releasing the GnRH analogue deslorelin. *Equine Veterinary Journal*. 25 (1). 65 – 68.
- Meyers-Brown, G. A., McCue, P. M., Niswender, K. D., Squires, E. L., DeLuca, C. A., Bidstrup, L. A., Colgin, M., Famula, T. R., Roser, J. F. 2010. Superovulation in Mares Using Recombinant Equine Follicle Stimulating Hormone: Ovulation Rates, Embryo Retrieval, and Hormone Profiles. *J Journal of Equine Veterinary Science*. 30 (10). 560 – 567.
- Meyers-Brown, G., Bidstrup, L. A., Famula, T. R., Colgin, M., Roser, J. F. 2011. Treatment with recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) followed by recombinant equine luteinizing hormone (reLH) increases embryo recovery in superovulated mares. *Animal Reproduction Science*. 128 (1 – 4). 52– 59.
- Meyers-Brown, G. M. McCue, P. M., Troedsson, M. H. T., Klein C., Zent, W., Ferris, R. A., Lindholm, A. R. G., Scofield, D. B., Claes, A. N., Morganti, M., Colgin, M. A. Wetzel, R. L., Peters, A. R., Roser, J. F. 2013. Induction of ovulation in seasonally anestrous mares under ambient lights using recombinant equine FSH (reFSH). *Theriogenology*. 80 (5). 456–462.

- Löfstedt, R. M. 2011. Diestrus. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1728 - 1731. ISBN: 9780813819716.
- Morresey, P. R. 2011a. How Hormones Work. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1601 – 1607. ISBN: 9780813819716.
- Morresey, P. R. 2011b. Oxytocin, Inhibin, Activin, Relaxin and Prolactin. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1680 – 1686. ISBN: 9780813819716.
- Mumford, E. L., Squires, E. L., Peterson, K. D., Nett, T. M., Jasko, D. J. 1994. Effect of various doses of a gonadotropin-releasing hormone analogue on induction of ovulation in anestrus mares. *Journal of Animal Science*. 72 (1). 178-183.
- Murphy, B. D. 2000. Models of Luteinization. *Biology Of Reproduction*. 63. (1). p. 2–11.
- Neuhauser, S., Palm, F., Ambuehl, F., Möstl, E. Schwendenwein, I., Aurich, C. 2009. Effect of altrenogest-treatment of mares in late gestation on adrenocortical function, blood count and plasma electrolytes in their foals. *Equine Veterinary Journal*. 41 (6). 572 – 577.
- Newcombe, J. R. 2002. Field observations on the use of a progesterone-releasing intravaginal device to induce estrus and ovulation in seasonally anestrus mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 22 (9). 378-382.
- Nie, G. J., Goodin, A. N., Braden, T. D., Wenzel, J. G. 2001. Luteal and clinical response following administration of dinoprost tromethamine or cloprostenol at standard intramuscular sites or at the lumbosacral acupuncture points in mares. *Am J Vet Res*. 62 (8). 1285 – 1289.
- Niswender, G.D., Juengel, J.L., McGuire, W.J., Belfiore, C.J. and. Wiltbank, M.C. 1994. Luteal Function: The Estrous Cycle and Early Pregnancy. *Biology Of Reproduction*. 50 (2). 239-247.
- Niswender, K. D., Alvarenga, M. A., McCue, P. M., Hardy, Q. P., Squires, E. L. 2003. Superovulation in cycling mares using equine follicle stimulating hormone (eFSH). *Journal of Equine Veterinary Science*. 23 (11). 487-500.
- Niswender, K. D., McCue, P. M., Squires, E. L. 2004. Effect of Purified Equine Follicle-Stimulating Hormone on Follicular Development and Ovulation in Transitional Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 24 (1). 37-39.
- Nogueira, G. P., Barnabe, R. C. 1997. Puberty and growth rate in Thoroughbred fillies. *Theriogenology*. 48 (4). 581 – 588.

- Ousey, J. C., Dudan, F., Rossdale, P. D. 1984. Preliminary studies of mammary secretions in the mare to assess foetal readiness for birth. *Equine Veterinary Journal*. 16 (4). 259-63.
- Paccamonti, D. L., Pycock, J. F., Taverne, M. A., Bevers, M., Van Der Weijden, G. C., Gutjahr, S., Schams, D., Blouin, D. 1999. PGFM response to exogenous oxytocin and determination of the half-life of oxytocin in nonpregnant mares. *Equine Veterinary Journal*. 31 (4). 285-8.
- Paccamonti, D. L., Pycock, J. F., Taverne, M. A., Bevers, M., Van Der Weijden G. C., Pilliner, S., Davies, Z. 2004. *Equine Science*. Blackwell. Ames, IA. p. 340. ISBN: 978-140-5119-443.
- Pinto, C. R. F. 2011. Progestagens and Progesterone. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1811 – 1819. ISBN: 9780813819716.
- Provencher, R., Threlfall, W. R., Murdick, P. W., Wearnly, K. W. 1988. Retained fetal membranes in the mare: A retrospective study. *Can Vet J*. 29 (11). 903–910.
- Pryor, P., Tibary, A. 2005. Management of Estrus in the Performance Mare. *Clinical techniques in Equine Practice*. 4 (3). 197 – 209.
- Piper, P. J., Vane, J. R., Wyllie, J. H., 1970. Inactivation of prostaglandins by the lungs. *Nature*. 225 (5233). 600–604.
- Ptaszynska, M. ed. 2003. *Compendium of Animal Reproduction*. Intervet International bv. Boxmeer. p. 496. ISBN: 90-801886-6-2.
- Pycock, J. F., Newcombe, J. R., 1996. Assessment of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. *Veterinary Record*. 138 (14). 320–323.
- Raz, T. Aharonson-Raz, K. 2012. Ovarian Follicular Dynamics During the Estrous Cycle in the Mare. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 67 (1). 11 – 18.
- Reitzenstein, M., Callahan, M. A., Hansen, P. J., LeBlanc, M. M. 2002. Aberrations in uterine contractile patterns in mares with delayed uterine clearance after administration of detomidine and oxytocin. *Theriogenology*. 58 (5). 887-98.
- Rigby, S., Love, C., Carpenter, K., Varner D. and Blanchard T. 1998. Use of Prostaglandin E₂ to ripen the cervix of the mare prior to induction of parturition. *Theriogenology*. 50 (6). 897 – 904.
- Riviere, J. E., Papich, M. G. 2009. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Willey-Blackwell. Ames, IA. p. 1524. ISBN: 978-0-8138-2061-3.

- Robinson, N. E., Sprayberry, K. A. 2008. Current therapy in equine medicine. Saunders Elsevier. St. Louis, MO. p. 664. ISBN: 978-0721695402.
- Robinson, S. J., Neal, H., Allen, W. R. 1998. Modulation of oviductal transport in the mare by local application of prostaglandin E₂. 7th International Equine Reproduction Symposium. 153-154.
- Roser, J. F., Keifer, B. L., Evans, J. W., et al. 1979. The development of antibodies to human chorionic gonadotropin following its repeated injection in the cyclic mare. *Journal of Reproduction and Fertility*. 27. p. 173.
- Roser, J. F., Jablonka-Shariff, A., Daphna-Iken, D., Boime, I. 2004. Expression and bioactivity of single chain recombinant equine luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH). In: *Proceedings of the 15th International Congress on Animal Reproduction*. Porto Seguro, Brazil. 82 – 83. p. 572.
- Rossdale, P. D., Ousey, J. C., Chavatte, P. 1997. Readiness for birth: an endocrinological duet between fetal foal and mare. *Equine Veterinary Journal*. 29 (24). 96–99.
- Samper, J. C., Pycock, J. F., McKinnon, A. O. (eds.). 2007. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Saunders Elsevier. Missouri. p. 512. ISBN:978-0-7216-0252-3.
- Samper, J.C. 2008. Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology*. 70 (3). 445 – 447.
- Sastry, K. V. 2008. *Endocrinology and reproductive Biology*. Rastogi Publications. New Delhi. p. 328. ISBN: 978-8171337774.
- Scoggin, C. F., Meira, C., McCue, P. M., Carnevale, E. M., Nett, T. M., Squires, E. L., 2002. Strategies to improve the ovarian response to equine pituitary extract in cyclic mares. *Theriogenology*. 58 (1). 151–164.
- Sharp, D. C. 2011a. Melatonin. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1669 – 1678. ISBN: 9780813819716.
- Sharp, D. C. 2011b. Vernal Transition into the Breeding Season. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1704 - 1715. ISBN: 9780813819716.
- Shideler, R. K., Squires, E. L., Voss, J. L., Eikenberry, D. J., Pickett, B. W. 1982. Progestagen therapy of ovariectomized pregnant mares. *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl. 32. 459-64.

- Shiner, K. A. 1988. A review of clinical applications of hCG on breeding farms. *Proc Am Assoc Equine Pract.* p. 197 – 201.
- Schramme, A. R., Pinto, C. R., Davis, J., Whisnant, C. S., Whitacre, M. D. 2008. Pharmacokinetics of carbetocin, a long-acting oxytocin analogue, following intravenous administration in horses. *Equine Veterinary Journal.* 40 (7). 658-61.
- Silvia, P. J., Squires, E. L., Nett, T. M. 1987. Pituitary responsiveness of mares challenged with GnRH at various stages of the transition into the breeding season. *Journal of Animal Science.* 64 (3). 790 – 796.
- Squires, E. L., 2011. Gonadotropin – Releasing Hormones. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction.* Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1820 – 1824. ISBN: 9780813819716.
- Squires, E. L., Heesemann, C. P., Webel, S. K., Shideler, R. K., Voss, J. L. 1983. Relationship of altrenogest to ovarian activity, hormone concentrations and fertility of mares. *Journal of Animal Science.* 56 (4). 901-10.
- Squires, E. L., McKinnon A. O., Carnevale, E. M., Morris, R. P., Nett, T. M. 1987. Reproductive characteristics of spontaneous single and double ovulating mares and superovulated mares. *Journal of Reproduction and Fertility.* 35. 399 – 403.
- Squires, E. L., Stevens, W. B., McGlothlin, D. E., Pickett, B. W. 1979. Effect of an oral progestin on the estrous cycle and fertility of mares. *Journal of Animal Science.* 49 (3). 729–735.
- Squires, E. L., McCue, P. M. 2007. Superovulation in mares. *Animal Reproduction Science.* 99 (1 – 2). 1 – 8.
- Squires, E. L., McCue, P. M. 2011. Superovulation. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction.* Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1836 – 1844. ISBN: 9780813819716.
- Staempfli, S. A. 2011. Prostaglandins. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction.* Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1797 – 1803. ISBN: 9780813819716.
- Stout, T. A. E. 2011. Prostaglandins. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction.* Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1642 - 1646. ISBN: 9780813819716.
- Strickland, Ch. Superovulation. *The Horse* [online]. 2001 [cit. 2014 – 03 – 18]. Dostupné z: <<http://www.thehorse.com/articles/10709/superovulation>>.

- Thorson, J. F., Allen, C. C., Amstalden, M., Williams, G. L. 2014a. Pharmacologic application of native GnRH in the winter anovulatory mare, I: Frequency of reversion to the anovulatory state following ovulation induction and cessation of treatment. *Theriogenology*. 81 (4). 579–586.
- Thorson, J. F., Prezotto, L. D., Cardoso, R. C., Allen, C. C., Alves, B. R. C., Amstalden, M., Williams, G. L. 2014b. Pharmacologic application of native GnRH in the winter anovulatory mare, II: Accelerating the timing of pregnancy. *Theriogenology*. 81 (4). 625–631.
- Troedsson, M. H. T., Liu, I. K. M., Ing, M., Pascoe, J. 1995. Smooth muscle electrical activity in the oviduct, and the effect of oxytocin, prostaglandin F₂ α and prostaglandin E₂ on the myometrium and the oviduct of the cycling mare. *Biology of Reproduction*. 1(Mono). 475-488.
- Turner, J. E., Irvine, C. H. G., 1991. The effect of various GnRH regimens on gonadotropins follicular growth and ovulation in deeply anestrous mares. *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl. 44. 213 – 225.
- Vandeplassche, M., Spincemaille, J., Bouters, R. 1971. Aetiology, pathogenesis and treatment of retained placenta in the mare. *Equine Veterinary Journal*. 3 (4). 144-7.
- Vanderwall, D. K., Rasmussen, D. M., Woods, G. L. 2007. Effect of repeated administration of oxytocin during diestrus on duration of function of corpora lutea in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 231 (12). 1864-7.
- Vanderwall, D. K. 2008. Early Embryonic Loss in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*. 28 (11). 691 – 702.
- Vanderwall, D. K. 2011. Progesterone. In: McKinnon, A. O., Squires, M. S., Vaala, W. E., Varner, D. D. (eds.). *Equine Reproduction*. Wiley – Blackwell. Chichester. p. 1637 – 1641. ISBN: 9780813819716.
- Vanderwall, D. K., Rasmussen, D. M., Carnahan, K. G., Davis, T. L., 2012. Effect of Administration of Oxytocin During Diestrus on Corpus Luteum Function and Endometrial Oxytocin Receptor Concentration in Cycling Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 32 (1). 536 – 541.
- Van Niekerk, C. H., Coubrough, R. I., Doms, H. W. 1973. Progesterone treatment of mares with abnormal oestrous cycles early in the breeding season. *Journal of the South African Veterinary Association*. 44 (1). 37-45.

- Van Niekerk, C. H., Morgenthal, J. C., Gerneke, W. H. 1975. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum of the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*. Suppl. 23. 171 – 175.
- Villani, M., Romano, G. 2008. Induction of parturition with daily low-dose oxytocin injections in pregnant mares at term: clinical applications and limitations. *Reproduction in Domestic Animals*. 43 (4). 481-3.
- Wathes, D. C., Taylor, V.J., Cheng, Z., Mann, G. E. 2003. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in the postpartum cow. *Reproduction*. Suppl. 61. 219–237.
- Webel, S. K., Squires, E. L.:1982. Control of the estrous cycle in mares with altrenogest. *Journal of Reproduction and Fertility* Suppl.32. 193-198.
- Weber, J. A., Woods, G. L., Lichtenwalner, A. B. 1995. Relaxatory effect of prostaglandin E2 on circular smooth muscle isolated from the equine oviductal isthmus. *Biology of Reproduction*. 1. (Mono). 125-130.
- Weems, C.W., Weems, Y.S., Randel, R. D. 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal*. 171 (2). 206 – 228.
- Williamson, P., Munyua, S., Martin, R., Penhale, W. J. 1987. Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxin infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility* Suppl. 35. 317-25.
- Woods, G. L., Ginther, O. J. 1982. Ovarian response, pregnancy rate, and incidence of multiple fetuses in mares treated with an equine pituitary extract. *Journal of Reproduction and Fertility*. 32. 415-21.
- Wotson, E. D., Sertich, P. L. 1990. Secretion of prostaglandins and progesterone by cells from corpora lutea of mares. *Journal of Reproduction and Fertility*. 88 (1). 223 – 229.
- Wright, P. J., Malmo, J. 1992. Pharmacologic manipulation of fertility. *Vet Clin N Am Food A*. 8 (1). 57 – 89.
- Youngquist, R. S., Threlfall, W. R. 2007. *Current Therapy in Large Animal*. Elsevier Health Sciences. St. Louis, MO. p. 1088. ISBN: 978-0-7216-9323-1.
- Zent, W. W., Troeddsen, M. H. T. 1998. Post breeding uterine fluid accumulation in a normal population of thoroughbred mares; a field study. *Proc Am Assoc Equine Pract*. p. 64 – 65.