

Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie  
Department für Kleintiere und Pferde  
Veterinärmedizinische Universität Wien

**Kontrollierte Thoraxkompression bei neugeborenen Fohlen:  
Effekte auf Verhalten, Herzfrequenz,  
Herzfrequenzvariabilität, Gestagen- und Cortisolfreisetzung**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Bernadette Koller

Wien, im November 2021

**Betreuer:** O. Univ.- Prof. Dr. med. vet. Jörg Aurich

**Co-Betreuerin:** Dr. med. vet. Maria Melchert

**Gutachter:** Dr, med. vet. Priv.-Doz. Ulrike Auer

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Tiere, Material und Methoden</b>	<b>4</b>
2.1 Tiere	4
2.2 Neurobehavioural Scoring System (NBSS)	4
2.3 Fallberichte der Fohlen mit Neonatalem Maladaptationssyndrom	6
2.4 Durchführung der Thoraxkompression	8
2.5 Verhaltensanalyse	9
2.6 Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität	10
2.7 Hormonbestimmungen	11
2.7.1 Progesteron	11
2.7.2 Cortisol	11
2.8 Statistische Auswertung	12
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>13</b>
3.1 Verhaltensanalyse	13
3.2 Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität	17
3.3 Cortisol und Progesteron	18
<b>4. Diskussion</b>	<b>20</b>
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>23</b>
<b>6. Summary</b>	<b>25</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>27</b>

## 1. Einleitung

Ein Fohlen wird geboren, wenn es reif und gesund ist, dann passt es sich schnell an die Anforderungen des extrauterinen Lebens an. Innerhalb der ersten zwei Stunden steht das neugeborene Fohlen und sucht das Euter. Bleibt das Fohlen allerdings liegen, reagiert nicht auf die Mutter oder sonstige Reize, zeigt keinen Saugreflex und wandert mit hängendem Kopf ziellos durch die Box, dann liegt oft das Neonatale Maladaptationssyndrom (NMS, Neonatal Maladjustment Syndrome, Dummy Foal Syndrome) vor. Dies ist eine häufige Erkrankung mit geschätzter Inzidenz von ein bis zwei Prozent, die sich innerhalb der ersten 72 Stunden von neugeborenen Fohlen manifestiert (Aleman et al., 2017; Rossdale und Leadon, 1975; Bernard et al., 1995).

Klinische Symptome dieser Erkrankung sind Bewusstseinsstörungen, unphysiologisches Verhalten inklusive Fehlorientierung, sowie klonisch-tonische Krämpfe (Palmer und Rossdale 1976). In schwerwiegenden Fällen von NMS kommt es durch Veränderungen in der Thermoregulation zur Hypothermie und die wiederum führt zu einer verminderten Darmmotilität und beeinträchtigten Organfunktionen. Dazu kommt noch - durch die mangelnde Saugaktivität bedingt - eine unzureichende Kolostrum Aufnahme, die sekundär zum „failure of passive transfer“ und schlussendlich zum Tod des Fohlens führen kann (Aleman et al., 2017).

Pathogenetisch wurde für diese Erkrankung zunächst eine geburtsbedingte Hypoxie und Ischämie verantwortlich gemacht, die zu einer Schädigung des zentralen Nervensystems (ZNS) mit entsprechenden Ausfallerscheinungen und nicht selten zum Tod des Fohlens führt (Rossdale 1972; Drummond 1988; Bernard et al. 1995; Ringger et al. 2011).

Im Laufe der Zeit hat sich jedoch gezeigt, dass bei vielen Fohlen mit NMS in der Sektion die charakteristischen, mit einer Hypoxie in Verbindung zu bringenden histologischen Veränderungen im ZNS wie Ödeme oder Blutungen nicht nachweisbar sind. Auch können Fohlen mit physiologischer Geburt ähnliche Verhaltensänderungen aufweisen, von diesen aber spontan genesen (Bernard et al. 1995; Aleman et al. 2013). Diese Beobachtungen haben letztlich zu der Erkenntnis geführt, dass NMS bei Fohlen in vielen Fällen nicht Folge einer Hypoxie ist.

Beim Pferd erfolgt die Erhaltung der Trächtigkeit im mittleren und letzten Drittel durch plazentare Gestagene, deren Vorläufersubstanzen (Pregnane) aus der fetalen Nebennierenrinde stammen und in der Plazenta zu, am Uterus wirksamen, Gestagenen synthetisiert werden. Im Laufe der fetalen Reifung beim Pferd kommt es in den letzten Tagen bis Stunden *ante natum* zu einer Umstellung der adrenocortikalen Steroidhormonsynthese von Gestagenen hin zu einer überwiegenden Synthese von Glucocorticoiden (Fowden und Silver 1995). Trotzdem sind bei neugeborenen Fohlen noch hohe Konzentrationen von Pregnanen in der peripheren Zirkulation nachweisbar, die aber innerhalb der ersten zwei Lebenstage schnell abfallen (Houghton et al. 1991; Scarlet et al. 2018). Bei Fohlen mit NMS wurden dagegen erhöhte Konzentrationen von Pregnanen in den ersten 48 Lebensstunden sowie ein verzögerter Abfall der Konzentrationen und dadurch nachweisbare Pregnankonzentrationen auch nach dem zweiten Lebenstag nachgewiesen (Rossdale et al. 1995; Aleman et al. 2013). Teilweise verfügen diese Pregnane über neuromodulatorische Eigenschaften, in dem sie an den Gammaaminobuttersäure (GABA<sub>A</sub>)-Rezeptor im ZNS binden und GABA nicht-kompetitiv verdrängen. Experimentell führte die Infusion solche Pregnane bei gesunden Fohlen zur Anästhesie und Verhaltenseffekten wie bei NMS (Madigan et al. 2012). Daher wird die Pathogenese von NMS bei vielen Fohlen heute auf eine persistierende Pregnansynthese aufgrund mangelnder Reifung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Funktion zurückgeführt (Aleman et al. 2013). Eine Therapie dieses Zustandes war jedoch bislang nicht verfügbar. Im Zusammenhang mit NMS wurde aber postuliert, dass eine Nachahmung des hohen Drucks auf den Thorax, den das Fohlen bei der Passage durch den Geburtsweg während seiner Geburt erfährt, eine Verbesserung der Verhaltensstörungen induzieren kann. Dabei soll eine sogenannte „reflex relaxation“ induziert werden kann, die das Erregungspotential des Individuums durch Hemmung des Sympathikus reduziert, die Nebennierenrindenreifung induziert und letztlich das Verhalten des Fohlens nachhaltig beeinflusst (Toth et al. 2012). Bei Fohlen mit NMS, die mittels eines um den Thorax gewickelten Seils für 20 Minuten einer solchen kontrollierten Thoraxkompression ausgesetzt wurden, konnte laut Erfahrungsberichten von praktizierenden Tierärzten nicht selten eine deutliche Verbesserung der Verhaltensstörungen und eine Verbesserung des Krankheitsverlaufs festgestellt werden (Aleman et al. 2017). Die Methode der Seilkompression des Thorax wird außerdem als eine Möglichkeit zur kontrollierten Fixierung und Schmerzlinderung bei neugeborenen Fohlen in Intensiv-medizinischer Betreuung diskutiert (Toth et al. 2012). Es fehlen jedoch bislang kontrollierte Untersuchungen an gesunden und vor allem an NMS erkrankten neugeborenen Fohlen über den Einfluss dieser Maßnahme auf

physiologische Stressparameter, das autonome Nervensystem und die adrenokorticale Steroidhormonsynthese.

Bei gesunden Fohlen kommt es während der Geburt zunächst zu einem Abfall der Herzfrequenz, aber unmittelbar nach der Geburt erfolgen ein Anstieg der Herzfrequenz, Abfall der Herzfrequenzvariabilität und Anstieg der Cortisolkonzentration im Speichel (Nagel et al. 2015). Es ist aber unklar, ob diese Änderungen bei gesunden Fohlen auch noch nach der Geburt auslösbar sind. Außerdem wurde bislang nicht gezeigt, dass eine solche Thoraxkompression die Gestagenproduktion bei Neugeborenen – egal ob gesund oder an NMS erkrankt - noch beeinflussen kann. In der vorliegenden Studie wurde darum untersucht, ob es durch die Anwendung einer standardisierten Kompression des Brustkorbes am ersten Lebenstag bei gesunden Fohlen sowie Fohlen mit NMS zu Veränderungen der Cortisolkonzentration im Speichel sowie der Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität wie bei Fohlen während und nach der Geburt kommt. Außerdem wurde analysiert, ob die Kompression zu Veränderungen der Gestagenkonzentrationen im Blut der Fohlen führt.

## **2. Tiere, Material und Methoden**

Die Untersuchungen wurden von der Ethik- und Tierversuchskommission der Vetmeduni Wien freigegeben und von der zuständigen Behörde als Tierversuch bewilligt (AZ des Bundesministeriums für Wissenschaft, Forschung und Wirtschaft BMWF-68.205/007-V/3b/2019).

### **2.1 Tiere**

Für diese Studie wurden von insgesamt 20 Fohlen Daten erhoben. Von diesen Tieren waren 17 Haflingerfohlen, die als Versuchstiere an der Vetmeduni Wien geboren wurden. Diese Fohlen wurden in eine Versuchsgruppe mit Thoraxkompression (n=9) und eine Kontrollgruppe ohne Manipulation (n=8) aufgeteilt. Trächtigkeit und deren Geburt verliefen in beiden Gruppen ohne Komplikationen und alle Fohlen wurden als klinisch gesund eingestuft. Zusätzlich wurden als einzelne klinische Fälle ein Warmblut-, ein Shetlandpony- und ein Norikerfohlen mit diagnostiziertem Neonatalem Maladaptationssyndrom (NMS) in die Studie aufgenommen. Bei diesen drei Fohlen erfolgte eine Thoraxkompression als Teil der tierärztlichen Behandlung.

1. Gesunde Fohlen, bei denen eine Thoraxkompression durchgeführt wurde (n=9)
2. Kontrollgruppe: Gesunde Fohlen ohne Thoraxkompression (n=8)
3. Fohlen mit diagnostiziertem Neonatalem Maladaptationssyndrom nach der Thoraxkompression (n=3)

### **2.2 Neurobehavioural Scoring System (NBSS)**

Diagnostiziert wird NMS lediglich durch Verhaltensbeobachtung, das Neurobehavioural Scoring System dient dabei als Hilfe. Anhand der folgenden Tabelle wird das Verhalten der Fohlen bewertet und es werden Punkte von 0 bis 20 vergeben, wobei 0 ein gesundes Fohlen und 20 ein komatöses mit paroxysmaler Aktivität darstellt. Es gelten alle Fohlen mit über 8 Punkten als NMS (Madigan et al. 2012).

Tabelle 1: Neurobehavioural Scoring System (Madigan et al., 2012)

Parameter	0 Punkte	1 Punkt/Feld	2 Punkte/Feld	3 Punkte/Feld
Wahrnehmung und Reaktion auf Reize	Reagiert normal, lebhaft und aufmerksam auf Reize	Ggr. apatisch, leicht verminderte oder gesteigerte Reaktion auf Reize	Mgr. apatisch, mäßig verminderte oder gesteigerte Reaktion auf Reize	Hgr. apathisch mit einer gesteigerten Reaktion auf Reize Stupor: +1 Pkt. Koma: +2 Pkt.
Fähigkeit zu Stehen	Steht ohne Hilfe	Steht mit wenig Hilfe	Steht mit viel Hilfe	Kann nicht stehen
Verbindung zur Mutter	Folgt der Mutter und baut aktiv eine Verbindung zu ihr auf	Ggr. verminderte Interaktion mit der Mutter	Zielloses Wandern oder Phasen stark verminderter Interaktion mit der Mutter	Reagiert gar nicht auf die Mutter
Saugreflex/Fähigkeit zum Trinken am Euter	Findet das Euter und saugt effektiv	Findet das Euter, aber saugt nicht	Schwacher Saugreflex vorhanden	Kein Saugreflex vorhanden
Neurologische Anfälle	keine	keine	Keine, nur Gliedmaßen- dehnung und Paddelbewegungen	Krampfanfälle oder anfallähnliche Aktivitäten
Haltung von den Ohren	Aufrechte Ohren	Aufrechte Ohren	Nicht ganz aufrechte Ohren	„Floppy“, hängende Ohren

### 2.3 Fallberichte der Fohlen mit Neonatalem Maladaptationssyndrom

Bei den folgenden drei Fohlen wurde anhand klinischer Symptome, ergänzt durch des Neurobehavioural Scoring Systems (siehe Tabelle 1), das Neonatale Maladaptationssyndrom diagnostiziert. Daraufhin wurde bei ihnen eine Thoraxkompression durchgeführt.

*Fohlen aus Ulanca (Lost in Vienna, Warmblut, Patienten-Nummer T/2019/001212):* Die zwölfjährige Stute Ulanca hat am 04.02.2019 um 01:19 ihr Fohlen an der Vetmeduni Wien geboren. Die Trächtigkeit verlief komplikationsfrei und dauerte 333 Tage. Die Geburt wurde von Beginn an überwacht und dauerte 19 Minuten, wobei Zughilfe geleistet wurde. Das Stutfohlen brauchte 63 Minuten bis es das erste Mal stand und 110 Minuten bis zum ersten Saugreflex, da es aber nicht eigenständig am Euter trinken konnte, wurde nach 120 Minuten das Kolostrum mit der Flasche gefüttert. Erst nach acht Stunden konnte sie am Euter trinken, die Zeit dazwischen wurde die Stute abgemolken und diese Milch wurde mit der Flasche am Euter dem Fohlen gegeben. Nach 68 Minuten setzte das Fohlen zum ersten Mal Mekonium ab.

Da das Fohlen Probleme mit dem Stehen und dem Finden vom Euter hatte, wurde es beim Neurobehavioural scoring system mit 4 Punkten eingestuft und am 04.02.2019 um 15:30 „gesqueezt“.

Es wurde ein Blutbild gemacht, welches eine Leukozytose mit vermehrten Segmentkernigen und eine Lymphopenie zeigte. Das Verhältnis von neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten betrug 10:1. Im Serum Amyloid A war sie annähernd im physiologischen Bereich mit einem Wert von 10,2 mg/L. Der IgG-Check mittels Densimeter ergab: 742 mg/dL, weshalb ein Liter Blutplasma (Hypermune, Veterinary Immunigenics LTD, UK; Plasma von immunisierten Pferden, hochkonzentrierte IgG) intravenös infundiert wurde.

*Fohlen aus Sweet Bianca (Shetlandpony, T/2019/004217):* Das Fohlen (Hengst) von Sweet Bianca wurde am 25.04.2019 geboren, die Geburt wurde von den Besitzern nicht beobachtet, wodurch es keinerlei Angaben zum ersten Aufstehen, Trinken und Mekoniumabsatz gibt. Laut den Besitzern verlief die Trächtigkeit ohne Erkrankungen oder sonstige Besonderheiten. Aufgrund von einem ungenügenden IgG- Gehalt wurde dem Fohlen ein Liter Hyperimmunplasma (Hypermune) intravenös infundiert.

Das Fohlen zeigte eine geringgradig verminderte Interaktion mit der Mutter, eine mäßig verminderte Reaktion auf Reize und kein Saugen. Daher wurde das Fohlen beim Neurobehavioral scoring system bei der Geburt mit 9 und kurz vor dem squeeze mit 7 Punkten eingestuft. Die Thoraxkompression wurden am 25.04.2019 um 17:15 durchgeführt

An der Klinik wurde dann noch ein Blutbild gemacht, wo eine Lymphopenie und ein erhöhter SAA-Wert (525,0mg/L) auffällig waren. Daher bekam das Fohlen fünf Tage Penicillin, Gentamicin und Flunixin-Meglumin. Da SAA bei der Blutkontrolle schon gesunken ist, wurden die Medikamente abgesetzt und das Fohlen mit seiner Mutter nach Hause entlassen.

*Fohlen aus Gisa (T/2020/001391):* Die Norikerstute Gisa hat am 09.02.2020 gegen 00:30, ihr zweites Fohlen (Hengst) geboren. Gisa hat eine Woche vor der Geburt leichte Kolik-Symptome gezeigt, die vom Haustierarzt behandelt wurden. Abgesehen davon war die Trächtigkeit unauffällig. Die Geburt wurde von den Besitzern beobachtet und es musste leichte Zughilfe geleistet werden. Da das Fohlen erst nach drei Stunden aufstehen konnte, wurde eine Stunde post natum das Fohlen im Liegen mit der Flasche gefüttert. Gegen 17:00 wurde das Fohlen sehr schwach und in Seitenlage in die Klinik gebracht.

Das Blutbild zeigte ein Anzeichen einer Dehydratation, eine Monozytose, eine Neutro- und Lymphopenie. Das Verhältnis von neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten war 1:2,5 und somit ein Hinweis auf eine mögliche Prämaturität. Der IgG-Check mit dem Densimeter ergab 100mg/dL, daher bekam das Fohlen zwei Liter Hyperimmunplasma (Hypermune) intravenös infundiert sowie Penicillin, Gentamicin, Flunixin-Meglumin und Infusionen mit zusätzlicher Glukose. Es wurden Röntgenbilder angefertigt, bei welchen es keine Anzeichen für Prämaturität gab. Außerdem wurde ein rektaler Einlauf gemacht, da noch Mekonium im Enddarm vorhanden war und er vermehrt auf Mekonium gepresst hat. Es wurde mehrfach versucht ihm Milch mit der Flasche einzugeben, was aufgrund eines mangelnden Saugreflexes leider nicht erfolgreich war. Daher bekam er eine Nasenschlundsonde und über diese wurde Milch von der Stute eingegeben.

Das Fohlen konnte nur mit Unterstützung stehen, hat nicht gesaugt und ist planlos, nicht auf die Mutter reagierend durch die Box gewandert. Deshalb wurde, mittels Neurobehavioural scoring system mit 10 Punkten, das Neonatale Maladaptationssyndrom diagnostiziert. Am

10.02.2020 wurde dann eine kontrollierte Thoraxkompression durchgeführt, danach wirkte das Fohlen kurzzeitig wesentlich munterer.

Allerdings zeigte das Fohlen anschließend leider Kolik Symptome und verstarb einige Stunden danach. Im Institut für Pathologie der Vetmeduni wurde eine hochgradige akute hämorrhagisch bis fibrinös-eitrige Pneumonie, septische Polyarthritits und eine Mekoniumobstipation festgestellt.

## **2.4 Durchführung der Thoraxkompression**

Innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geburt wurde die Thoraxkompression durchgeführt. Dafür wurde ein gepolstertes Seil mit einem Durchmesser von einem Zentimeter in drei Schlingen um den Thorax des Fohlens gelegt. Die erste Schlinge wurde zwischen den Vorderbeinen hindurch und um den Brustkorb herumgeführt. Die beiden weiteren wurden lediglich um den Brustkorb gelegt (Toth et al., 2012). Dann erfolgte ein Zug am Seilende mit 8 kg, der mittels Federwaage kontrolliert wurde. Im Anschluss legte sich das Fohlen nieder und der leichte Zug von 1kg wurde 20 Minuten aufrechterhalten. Abschließend wurde das Seil entfernt, damit das Fohlen spontan aufstehen konnte.



*Abbildung 1: Durchführung einer Thoraxkompression bei einem Haflinger Fohlen*

## **2.5 Verhaltensanalyse**

Der Betrachtungszeitraum der Verhaltensanalyse erstreckte sich über 24 Stunden und startete eine Stunde vor der Thoraxkompression. Das Verhalten wurde anhand von Videoaufzeichnungen (ABUS Network Camera IPCB42515A; Netcam Studio X (x64) v.1.9.2.0) mittels qualitativer Inhaltsanalyse in vier Kategorien eingeordnet: Liegen, Stehen, Laufen und Trinken am Euter eingeordnet und anhand der oben genannten Gruppen ausgewertet und analysiert. Tabelle 2 beschreibt die vier Verhaltenskategorien. Die Zeitspannen, in denen das Fohlen manipuliert wurde, also beispielsweise klinisch untersucht wurde, wurden exkludiert. Die Frequenz und die Zeitspanne der einzelnen Kategorien wurden für die Verhaltensanalyse summiert und verglichen.

Tabelle 2: Definition der Kategorien der qualitativen Verhaltensanalyse (Sartori et al. 2016)

Kategorien	Beschreibung
Liegen	Brustbauchlage: Das Fohlen rastet oder schläft mit unter dem Körper angezogenen Beinen und aufgestützten Kopf. Die Ablege und Aufstehbewegung wird ebenfalls dazugezählt. Seitenlage: Das Fohlen rastet oder schläft auf einer Körperseite liegend mit ausgestreckten Beinen und Kopf. Wälzen: das Fohlen legt sich auf eine Körperseite, dreht sich über den Rücken auf die andere Seite.
Stehen	Das Fohlen steht inaktiv an einem Fleck. Es rastet oder schläft mit herabhängendem Kopf und halb oder komplett geschlossenen Augen. Das Fohlen steht und setzt Harn oder Kot ab. Das Fohlen steht, schleckt oder kratzt an sich selbst oder an der Mutter für Fellpflege.
Laufen	Jegliche Gangart (Schritt, Trab, Galopp) des Fohlens in der Box, inklusive Spielverhalten, buckeln und herumspringen
Trinken	Das Fohlen trinkt am Euter der Mutter

## 2.6 Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität

Zur Ermittlung der Herzfrequenz und der Herzfrequenzvariabilität wurde in der vorliegenden Studie ein mobiles Herzfrequenzmessgerät (S810i, POLAR, Kempele, Finnland) verwendet, welches das Herzschlag zu Herzschlag Intervall (RR) aufzeichnet. Mit diesen RR-Intervallen, die die Herzfrequenz und die Herzfrequenzvariabilität (HRV) bestimmen, wurde mit der Kubios HRV Software (Biomedical Signal Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finnland) die variable Standardabweichung des RR-Intervalls (SDRR) berechnet.

Das Herzfrequenzmessgerät besteht aus einer Elektrode und einem Deckengurt mit einer Tasche, in der eine Messuhr ihren Platz findet. Für eine bessere Ankopplung wurde das Fell, links am Thorax auf Höhe vom Tuber olecrani, an dieser Stelle wird die Elektrode montiert, zuerst mit Wasser befeuchtet. Anschließend wurde auf die Elektrode Ultraschallgel aufgetragen und sie an der gewünschten Stelle am Fohlen positioniert.

Die Auswertung erfolgte von einer Stunde vor der Thoraxkompression bis 3 Stunden danach. Dabei wurden immer 5 Minuten-Intervalle ausgewertet. Vor und nach der Kompression wurden im 15 Minuten-Intervallen die Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität ausgewertet und während der Kompression wurden sie durchgehend analysiert.

## **2.7 Hormonbestimmungen**

### **2.7.1 Progesteron**

Innerhalb der ersten zehn Stunden nach der Geburt wurde ein Mila-Katheter (Milacath-Extended Use, 14Ga x 9cm; Medical Instrumentation for Animals, Florence, KY, USA) unter aseptischen Bedingungen in die linke Jugularvene eingesetzt, um die Blutabnahmen in den folgenden 48 Stunden für Mensch und Tier zu erleichtern.

Eine Stunde vor bis zwei Stunden nach der Thoraxkompression wurde in 15-minütigen Intervallen, Blut in ein Heparin-haltiges Röhrchen entnommen (Vacurette, Greiner, Kremsmünster, Österreich). Nach zwei Stunden, wurde das Intervall für die restlichen 21 Stunden auf alle 4 Stunden verlängert. Nach der Abnahme wurde das Blut zentrifugiert (1200 x g für 10 min) und das Plasma wurde bei -20°C eingefroren.

Die Bestimmung von Progesteron erfolgte im endokrinologischen Labor der Abteilung Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Vetmeduni Wien mittels Enzymimmunoassay (Enzo Progesterone ELISA; Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, US) wie von Beyer et al. (2019) beschrieben. Der intra-assay Variationskoeffizient betrug 7.5%, der interassay Variationskoeffizient 15.3% und die untere Nachweisgrenze 4.9 pg/mL.

### **2.7.2 Cortisol**

Für die Cortisolmessung wurden gleichzeitig mit der Blutabnahme Speichelproben genommen. Dafür wurde ein Wattebausch mit einer chirurgischen Pinzette für 1 Minute in das Maul des Fohlens eingeführt, bis die Watte vollständig durchnässt war. Anschließend wurde der Wattebausch im dazugehörigen Behältnis zentrifugiert (1200 Umdrehungen für 10 min) und der gewonnene Speichel wurde ebenfalls bei -20°C eingefroren (Nagel et al., 2015).

Die Bestimmung von Cortisol erfolgte im endokrinologischen Labor der Abteilung Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Vetmeduni Wien mittels Enzymimmunoassay (Demeditec

Diagnostics, Kiel-Wellsee, Deutschland) wie von Kuhl et al. (2016) beschrieben. Der intra-assay Variationskoeffizient betrug 5.9%, der interassay Variationskoeffizient 13.6% und die untere Nachweisgrenze 0,3 ng/mL.

## **2.8 Statistische Auswertung**

Für die statistischen Berechnungen wurde das SPSS-Statistikprogramm (Version 26; SPSS IBM, Armonk, NY, USA) verwendet. Alle Daten waren normalverteilt, was mittels Kolmogorov-Smirnov-Tests überprüft wurde. Vergleiche zwischen den drei Tiergruppen und im zeitlichen Verlauf erfolgten mittels Varianzanalyse für wiederholte Messungen mit Gruppe als Zwischensubjektfaktor und Zeit als Innersubjektfaktor. Es wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ( $p < 0,05$ ) angenommen. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes (SEM).

### 3. Ergebnisse

Bei der grafischen Darstellung der Ergebnisse werden für alle bestimmten Parameter der Verlauf der Mittelwert der drei Untersuchungsgruppen und zusätzlich separat der Verlauf der Einzelkurven für die drei Fohlen mit neonatalem Maladaptationssyndrom dargestellt.

#### 3.1 Verhaltensanalyse

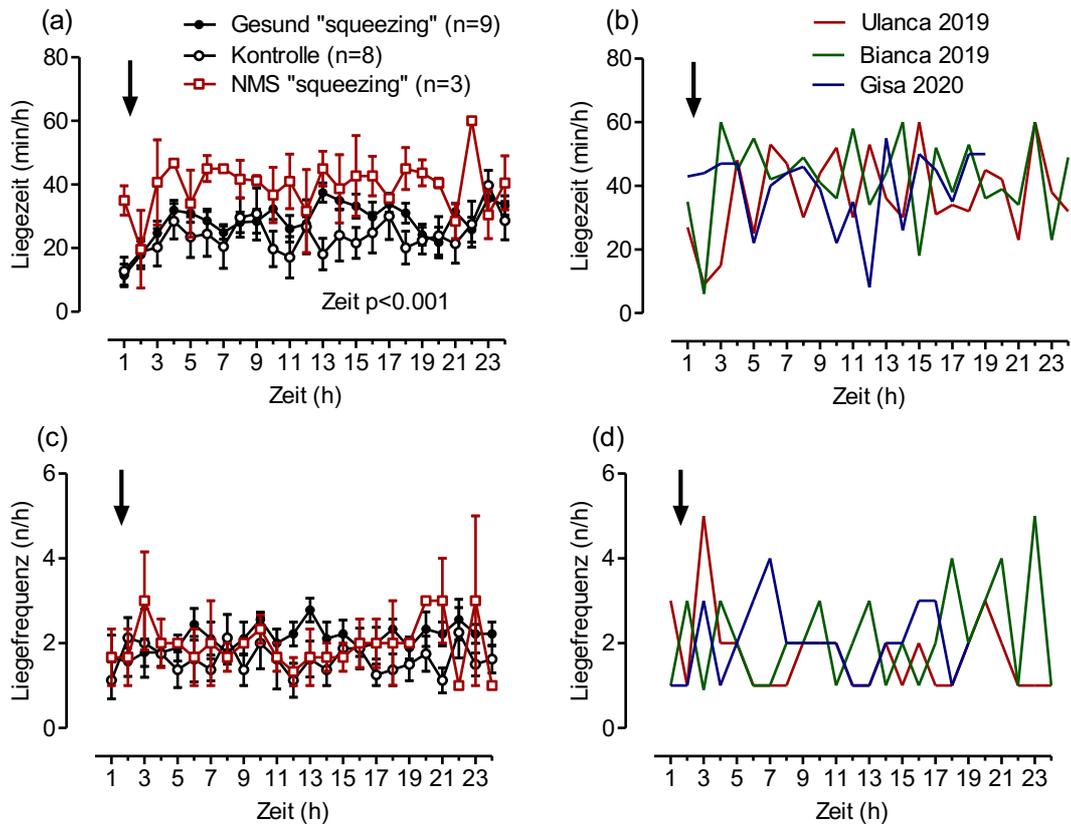


Abbildung 2: Verhaltenskategorie „Liegen“ von einer Stunde vor der Thoraxkompression bis 24 Stunden danach. Der schwarze Pfeil markiert den Beginn der Thoraxkompression. (a) Liegezeit für die drei Untersuchungsgruppen, (b) einzelne Liegezeit der drei Fohlen mit NMS, (c) Liegefrequenz für die drei Untersuchungsgruppen, (d) einzelne Liegefrequenz der drei Fohlen mit NMS.

Die Zeit, in der die Fohlen von einer Stunde vor bis 24 Stunden nach der Thoraxkompression („squeezing“) gelegen haben und die Häufigkeit der Liegephasen unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen, die Zeitdauer des Liegens nahm aber im Verlauf des Beobachtungszeitraums zu ( $p < 0,001$ ; Abb. 1a-d).

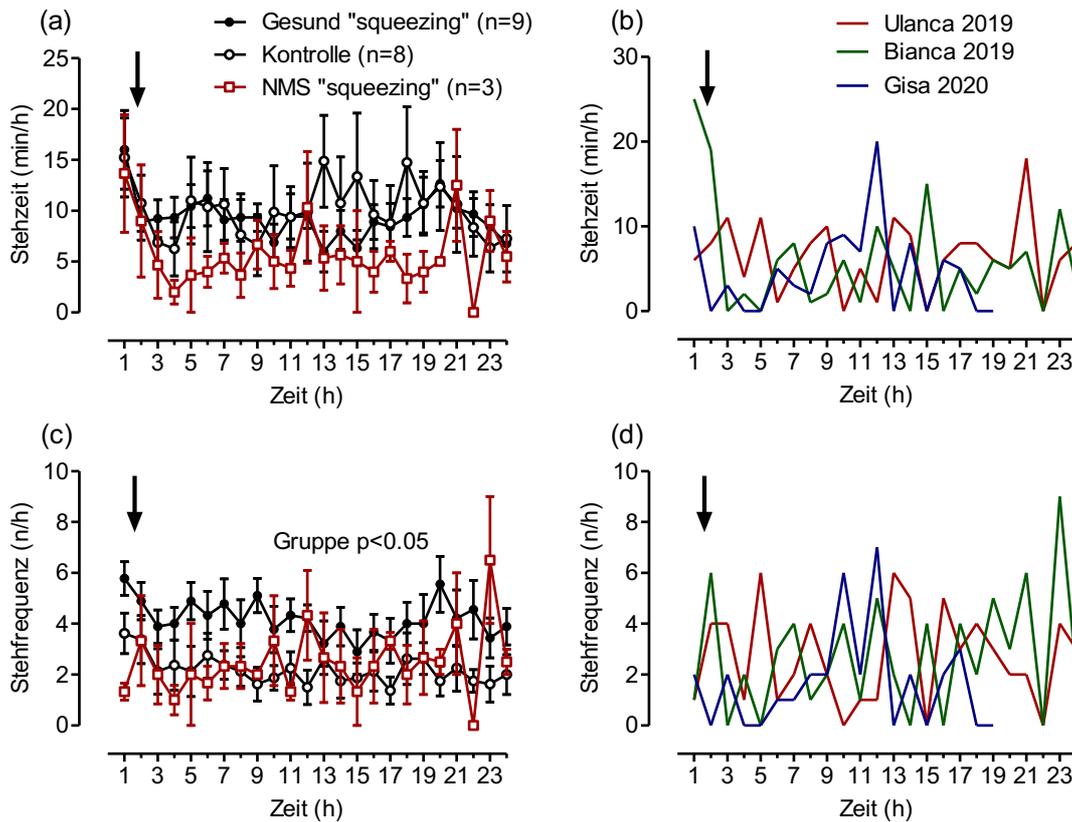


Abbildung 3: Verhaltenskategorie „Stehen“ von einer Stunde vor der Thoraxkompression bis 24 Stunden danach. Der schwarze Pfeil markiert den Beginn der Thoraxkompression. (a) Stehzeit für die drei Untersuchungsgruppen, (b) einzelne Stehzeit der drei Fohlen mit NMS, (c) Stehfrequenz für die drei Untersuchungsgruppen, (d) einzelne Stehfrequenz der drei Fohlen mit NMS.

In der Verhaltenskategorie „Stehen“ zeigte sich ein signifikanter Gruppenunterschied für die Stehfrequenz, die gesunden Fohlen, die eine Thoraxkompression („squeezing“) bekommen haben, stehen häufiger als die Fohlen der anderen Gruppen ( $p < 0,05$ ), in der gesamten Stehzeit gibt es jedoch keine signifikanten Gruppenunterschiede (Abb. 2a-d).

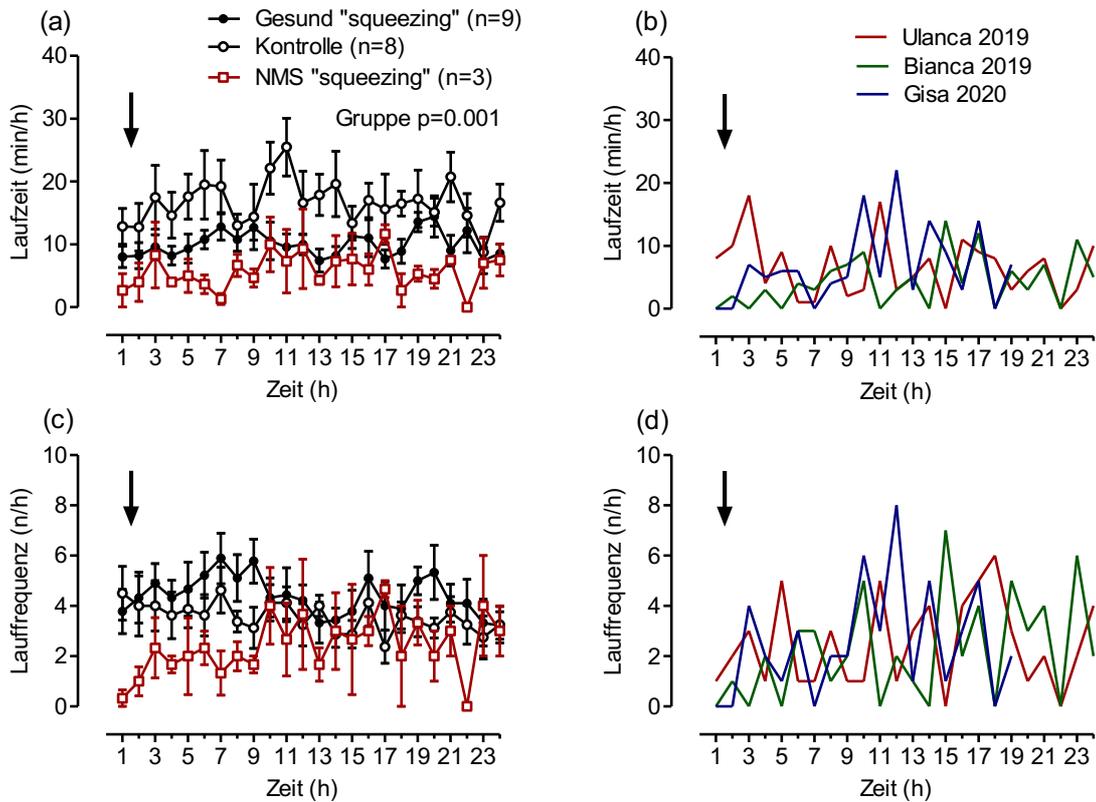


Abbildung 4: Verhaltenskategorie „Laufen“ von einer Stunde vor der Thoraxkompression bis 24 Stunden danach. Der schwarze Pfeil markiert den Beginn der Thoraxkompression. (a) Laufzeit für die drei Untersuchungsgruppen, (b) einzelne Laufzeit der drei Fohlen mit NMS, (c) Lauffrequenz für die drei Untersuchungsgruppen, (d) einzelne Lauffrequenz der drei Fohlen mit NMS.

Hinsichtlich der Verhaltenskategorie „Laufen“ gab es für die Laufzeit einen signifikanten Gruppenunterschied ( $p=0,001$ ). Die Fohlen der Kontrollgruppe bewegten sich im Beobachtungszeitraum am meisten und die mit neonatalem Maladaptationsyndrom am wenigstens (Abbildung 3a-d).

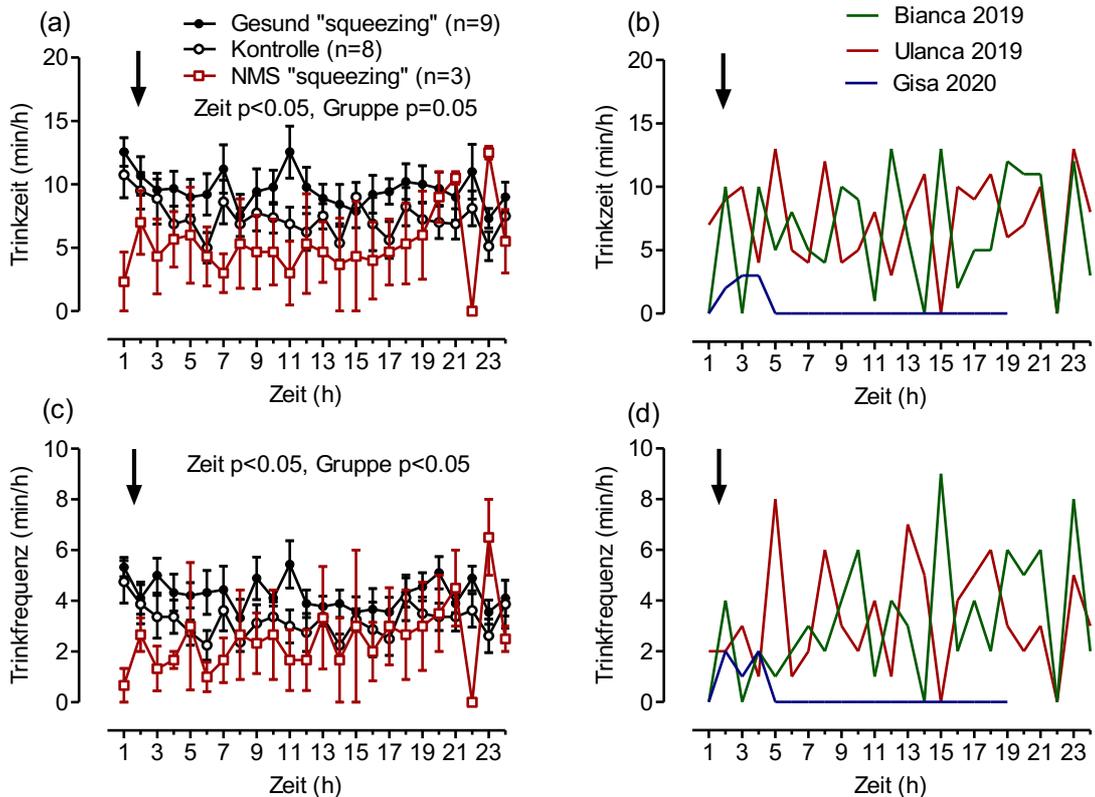


Abbildung 5: Verhaltenskategorie „Trinken“ von einer Stunde vor der Thoraxkompression bis 24 Stunden danach. Der schwarze Pfeil markiert den Beginn der Thoraxkompression. (a) Trinkzeit für die drei Untersuchungsgruppen, (b) einzelne Trinkzeit der drei Fohlen mit NMS, (c) Trinkfrequenz für die drei Untersuchungsgruppen, (d) einzelne Trinkfrequenz der drei Fohlen mit NMS.

Die Kategorie „Trinken am Euter“ weist die deutlichsten Unterschiede in der Verhaltensanalyse auf. Sowohl in der Trinkzeit ( $p=0,05$ ) als auch in der Trinkfrequenz ( $p<0,05$ ) gab es signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Die gesunden, gesqueezten Fohlen haben am meisten und die NMS-Fohlen am wenigsten am Euter der Mutter getrunken. In den Einzelkurven zeigt sich, dass das Fohlen aus Gisa ab der fünften Stunde nicht mehr ans Euter ging, da es über eine Nasenschlundsonde ernährt wurde und in der 19. Stunde des Beobachtungszeitraums verstorben ist (Abb. 4a-d).

### 3.2 Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität

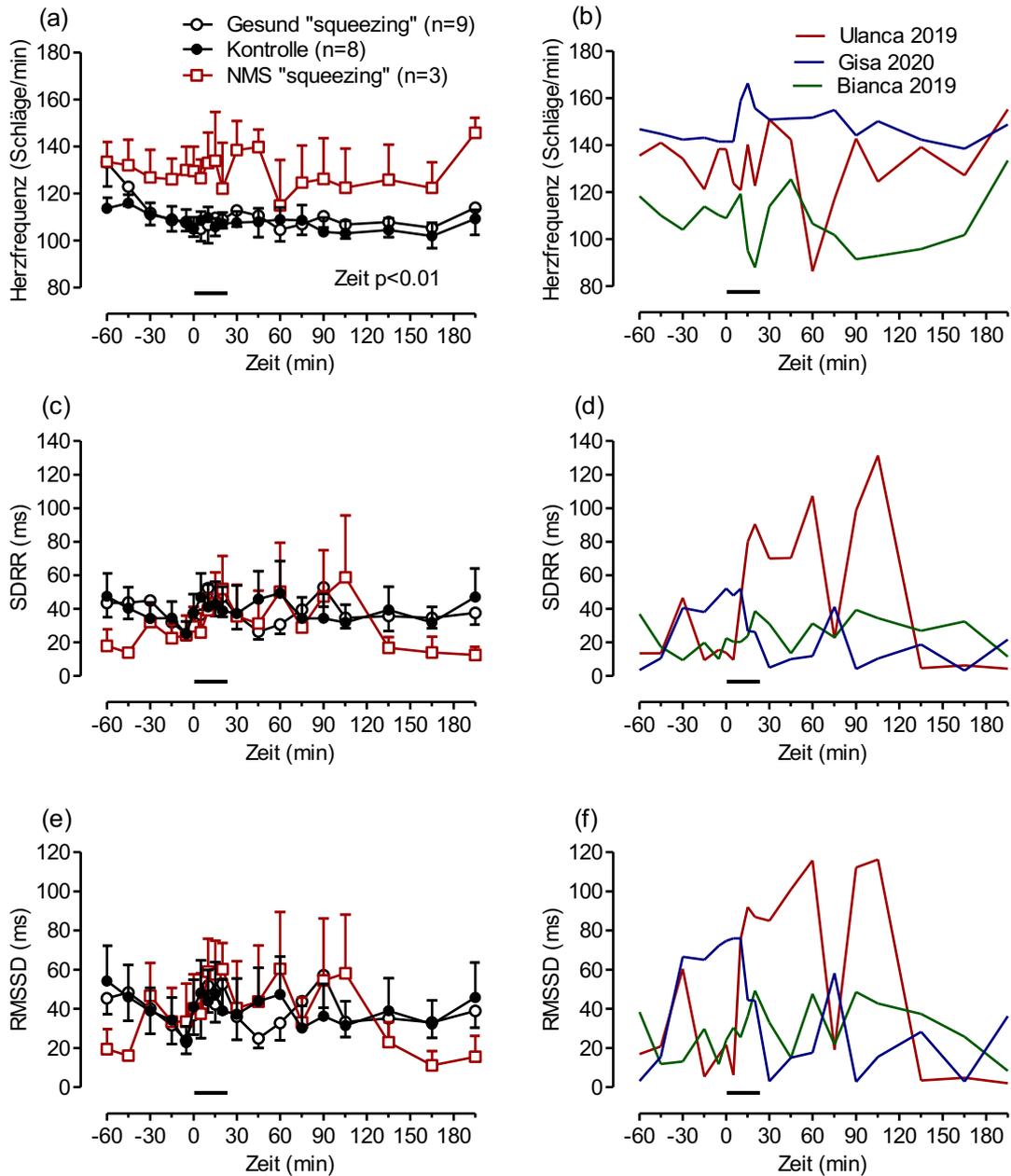


Abbildung 6: Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität von einer Stunde vor bis drei Stunden nach Thoraxkompression. Der schwarze Strich zwischen 0 und 20 min an der x-Achse markiert die Phase Thoraxkompression. (a) Herzfrequenz für die drei Untersuchungsgruppen, (b) Einzelkurven der Herzfrequenz der drei Fohlen mit NMS, (c) SDRR für die drei Untersuchungsgruppen, (d) SDRR-Einzelkurven der drei Fohlen mit NMS, (e) RMSSD für die drei Untersuchungsgruppen, (f) RMSSD-Einzelkurven der RMSSD der drei Fohlen mit NMS.

Die Herzfrequenz der Kontrollfohlen und der gesunden Fohlen bei denen eine Thoraxkompression (squeezing) erfolgte, nahm in der Stunde vor dem squeezing ab ( $p < 0,01$ ; Abb. 5a,b), es gab aber keine signifikanten Gruppenunterschiede. Für die HRV-Parameter SDRR und RMSSD lagen weder signifikante Mittelwertunterschiede zwischen den Gruppen noch im zeitlichen Verlauf vor (Abb. 5c-f).

### 3.3 Cortisol und Progesteron

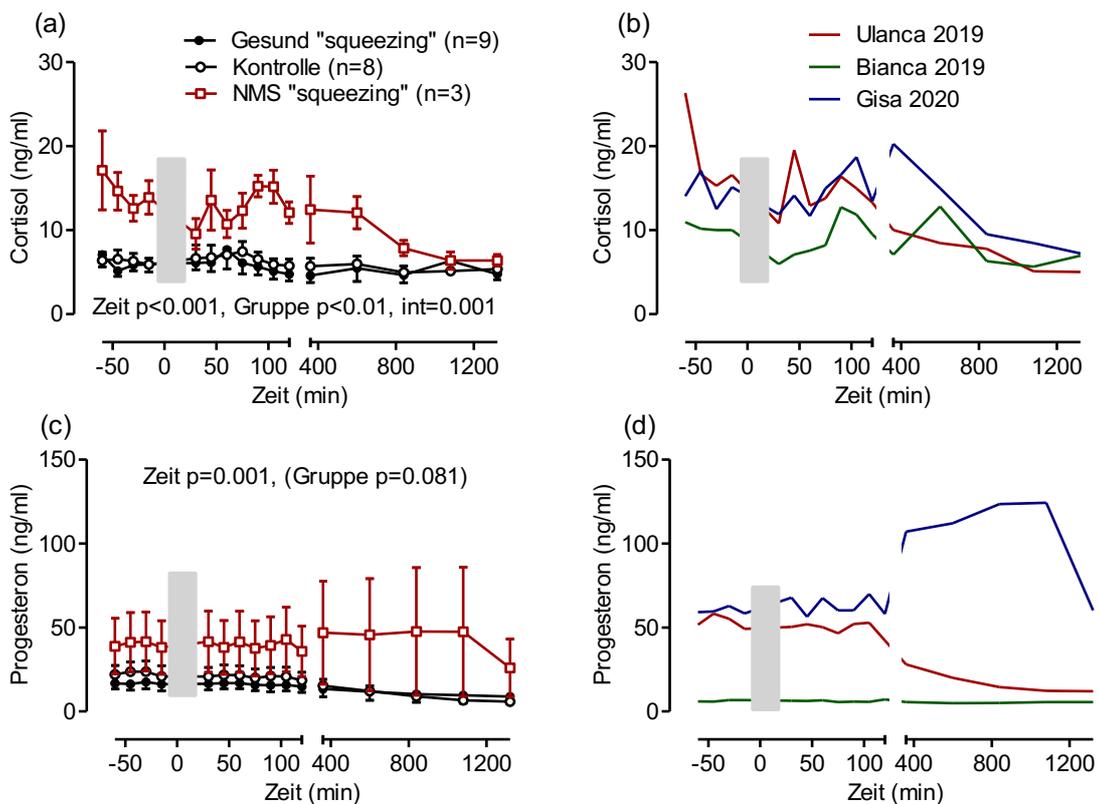


Abbildung 7: Cortisol- und Progesteronkonzentrationen von einer Stunde vor bis 24 Stunden nach Thoraxkompression. Der graue Balken zwischen 0 und 20 min an der x-Achse markiert die Phase der Thoraxkompression. (a) Cortisolkonzentration für die drei Untersuchungsgruppen, (b) Einzelkurven der Cortisolkonzentration der drei Fohlen mit NMS, (c) Progesteronkonzentration für die drei Untersuchungsgruppen, (d) Einzelkurven der Progesteronkonzentration der drei Fohlen mit NMS.

Die mittlere Cortisolkonzentration im Speichel der Fohlen mit NMS lag zu Beginn der Untersuchungszeitraum höher als bei den Fohlen der beiden anderen Gruppen und nahm bereits vor dem „squeezen“ beginnend ab. Ab 20 Stunden nach der Thoraxkompression lag die mittlere Cortisolkonzentration im Speichel der Fohlen aller Gruppen auf einem annähernd

gleichen Niveau (Gruppe  $p < 0,01$ , Zeit  $p < 0,001$ , Interaktion Gruppe x Zeit  $p = 0,001$ ; Abb. 6a). Aus Abb. 6b geht hervor, dass die beschriebene Entwicklung der Cortisolkonzentration bei den Fohlen mit NMS weitgehend durch zwei der drei Fohlen bedingt ist. Die Entwicklung im zeitlichen Verlauf war statistisch signifikant ( $p = 0,001$ ), für den Gruppenunterschied wurde aufgrund der starken Streuung der Werte in der Gruppe NMS und der geringen Gruppengröße eine statistische Signifikanz nicht erreicht ( $p = 0,081$ ; Abb. 6c,d).

## 4. Diskussion

Ziel dieser Studie war es die Auswirkungen einer kontrollierten Thoraxkompression („squeezing“) bei neugeborenen Fohlen zu analysieren. Hierfür wurde das Verhalten der Fohlen, die Herzfrequenz, Herzfrequenzvariabilität, Cortisol- und Progesteronkonzentration untersucht. Insgesamt konnten keine deutlichen Effekte der kontrollierten Thoraxkompression auf das Verhalten und auf die untersuchten cardialen und endokrinologischen Parameter nachgewiesen werden. Hierbei ist aber zu beachten, dass nur drei Fohlen mit klinisch diagnostiziertem NMS in die Untersuchung eingegangen sind. Für diese drei Tiere erfolgte zwar ebenso wie für die gesunden Fohlen mit Thoraxkompression und die Fohlen der unbehandelten Kontrollgruppe eine Mittelwertbestimmung und statistische Auswertung. Die Einzelverlaufskurven der drei NMS-Fohlen machen jedoch die Heterogenität der NMS-Gruppe hinsichtlich der untersuchten Parameter deutlich.

Während der Geburt kommt es bei Fohlen zunächst zu einem Abfall der Herzfrequenz, aber unmittelbar nach der Geburt erfolgen ein Anstieg der Herzfrequenz, Abfall der Herzfrequenzvariabilität und Anstieg der Cortisolkonzentration im Speichel (Nagel et al. 2015; Melchert et al., 2019). Insgesamt wurden durch die kontrollierten Thoraxkompression keine dieser Veränderungen ausgelöst und die eigenen Ergebnisse geben keine Hinweise darauf, dass mit der Thoraxkompression ein Zustand des Fohlens, wie er physiologischerweise während der Geburt auftritt, simuliert werden kann. Die Herzfrequenz der Fohlen nahm während des Beobachtungszeitraumes zwar geringgradig ab, jedoch unabhängig und bereits vor der Thoraxkompression. Dies ist vermutlich auf eine Gewöhnung an die Untersuchungssituation bedingt. Die Hypothese dieser Diplomarbeit, dass eine Thoraxkompression über Beeinflussung des vegetativen Nervensystems einen Abfall der Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität bewirkt, konnte damit nicht bestätigt werden.

Die Cortisolkonzentration im Speichel der Fohlen mit NMS lag zu Beginn des Untersuchungszeitraums höher als bei den Fohlen der beiden anderen Gruppen und nahm bereits vor dem „squeezing“ ab. Ab 20 Stunden nach der Thoraxkompression lag die mittlere Cortisolkonzentration im Speichel der Fohlen aller Gruppen auf einem annähernd gleichen Niveau. Dies stimmt mit Befunden bei septischen Fohlen überein, deren Cortisolkonzentration höher als bei gesunden Fohlen lag, mit Ausnahme von Fohlen in den ersten Lebensstunden, die die höchste Cortisolkonzentration aufwiesen (Hart et al., 2011; Nagel et al., 2015). Die

Hypothese, dass eine kontrollierte Thoraxkompression eine der Geburt und unmittelbaren Neugeborenenphase vergleichbare Cortisolfreisetzung stimuliert, wurde nicht bestätigt.

Bei neugeborenen Fohlen sind zunächst noch hohe Gestagenkonzentrationen im Blut nachweisbar, die aber innerhalb der ersten zwei Lebenstage schnell abfallen (Houghton et al., 1991; Scarlet et al., 2018). Bei Fohlen mit NMS wurden dagegen erhöhte Konzentrationen von Progesteron in den ersten 48 Lebensstunden sowie ein verzögerter Abfall der Konzentrationen und dadurch nachweisbare Gestagenkonzentrationen auch nach dem zweiten Lebenstag nachgewiesen (Rossdale et al. 1995; Aleman et al. 2013): Die sedierende Wirkung einer erhöhten Gestagenkonzentration bei Fohlen wird als eine Ursache des NMS diskutiert (Rossdale et al., 1995; Madigan et al., 2012; Aleman et al., 2013). Dafür sprechen Verhaltensänderungen von Fohlen nach Infusion des Gestagens Allopregnanolon (Madigan et al., 2012) und Adaptionsstörungen sowie eine verringerte Atemfrequenz innerhalb der ersten Lebensstunde bei neugeborenen Fohlen, deren Mütter vor der Geburt mit dem synthetischen Gestagen Altrenogest behandelt wurden (Neuhauser et al., 2008).

Zwei der drei Fohlen mit NMS in der eigenen Studie wiesen höhere Gestagenkonzentrationen als die gesunden Vergleichsfohlen auf. Damit bestätigen die eigenen Ergebnisse, dass Fohlen mit NMS persistierend erhöhte Gestagenkonzentrationen aufweisen können, allerdings kann ein NMS auch ohne das Vorliegen erhöhter Gestagenkonzentrationen auftreten. Die kontrollierte Thoraxkompression führte jedoch weder bei gesunden noch bei an NMS erkrankten Fohlen zu einer Veränderung der Gestagenkonzentration im Plasma.

Die drei Fohlen mit NMS standen seltener, bewegten sich weniger und tranken seltener und über kürzere Zeiträume als die gesunden Fohlen. Dieses Ergebnis ist nicht überraschend und entspricht dem schlechten klinischen Allgemeinzustand der NMS-Fohlen in der eigenen Untersuchung sowie in früheren Studien (Rossdale and Leadon, 1975; Bernard et al., 1995).

Alle Fohlen, bei denen eine Thoraxkompression erfolgte, legten sich unmittelbar nach Beginn des Eingriffs nieder. Nach entfernen der Seile standen die meisten Fohlen sofort auf, aber es gab auch welche die noch eine Zeit lang liegen blieben. Das sowohl gesunde als auch kranke Fohlen mittels Thoraxkompression abgelegt werden können (Toth et al., 2012), wird durch die eigenen Ergebnisse bestätigt. Die Zeitdauer des Liegens pro Stunde nahm aber im Verlauf des Beobachtungszeitraums zu. Dies könnte dadurch bedingt sein, dass die Fohlen zunächst

durch die anwesenden Personen und Probennahmen etwas beunruhigt waren und sich dann zunehmend entspannten. Ein über das Ablegen hinausgehender Effekt der kontrollierten Thoraxkompression auf das Verhalten konnte weder bei den gesunden noch bei den kranken Fohlen gezeigt werden. Eine postulierte (Aleman et al., 2017) deutliche Verbesserung der Verhaltensstörungen und eine Verbesserung des Krankheitsverlaufs bei Fohlen mit NMS konnte bei keinen der drei erkrankten eigenen Fohlen festgestellt werden

Zusammenfassend bestätigen die eigenen Untersuchungen frühere Studien zur Klinik des NMS bei Fohlen. Allerdings konnte für die Thoraxkompression weder ein therapeutischer Effekt bei kranken Fohlen noch eine Beeinflussung physiologischer Funktionen bei gesunden Fohlen gezeigt werden. Auch wenn keine negativen Effekte der kontrollierten Thoraxkompression auftraten, sollte der therapeutische Einsatz dieses Verfahrens bei Fohlen mit NMS kritisch hinterfragt werden.

## 5. Zusammenfassung

**Bernadette Koller (2021)**

**Kontrollierte Thoraxkompression bei neugeborenen Fohlen - Effekte auf Verhalten, Herzfrequenz, Herzfrequenzvariabilität, Gestagen- und Cortisolfreisetzung**

Die vorliegende Diplomarbeit befasst sich mit den Auswirkungen einer kontrollierten Thoraxkompression („squeezing“) bei neugeborenen Fohlen. In dieser Studie wurden die Daten von 20 Fohlen erhoben, die in drei Gruppen gegliedert wurden: gesunde Fohlen, die gesqueezezt wurden (n=9), Fohlen mit neonatalem Maladaptationssyndrom (NMS), die als Teil der Behandlung gesqueezezt wurden (n=3) und eine unbehandelte Kontrollgruppe (n=8). Dabei wurde das klinische Bild der drei Fohlen mit diagnostizierten Maladaptationssyndrom sowie die Durchführung der Thoraxkompression dargestellt. Es wurden die Herzfrequenz, Herzfrequenzvariabilität, die Cortisol- und Progesteronkonzentration, sowie das Verhalten dokumentiert und die Ergebnisse der Gruppen vergleichend analysiert.

Aus den theoretischen Grundlagen lassen sich drei Hypothesen ableiten, die in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. Die erste Hypothese lautet, dass eine Thoraxkompression einen Abfall der Herzfrequenz, der Herzfrequenzvariabilität und der Progesteronkonzentration bewirkt. Hypothese zwei besagt, dass die klinischen Symptome nach dem squeezezen verschwinden. Letztlich besagt die dritte Hypothese, dass die Thoraxkompression keinerlei Wirkung auf die gesunden Fohlen hat.

Unsere Ergebnisse belegen zwar, dass ein Abfall der Herzfrequenz stattfindet ( $p < 0,01$ ), dieser erfolgte allerdings bereits eine Stunde vor dem Squeezezen der gesunden Fohlen und auch bei den Fohlen der Kontrollgruppe. Es gab hier keinen signifikanten Gruppenunterschied. Die Progesteronkonzentration zeigte ebenfalls, dass die kontrollierte Thoraxkompression zu keinen signifikanten Veränderungen führte, weder bei gesunden noch bei an NMS erkrankten Fohlen.

Die Ergebnisse der Cortisolkonzentration verdeutlichen, dass die Werte der NMS-Fohlen zu Beginn des Beobachtungszeitraums höher waren als bei den anderen Gruppen. Die Werte nahmen aber bereits vor der Thoraxkompression stetig ab und ab 20 Stunden nach der Behandlung war die mittlere Cortisolkonzentration bei allen Gruppen annähernd gleich.

(Gruppe  $p < 0,01$ , Zeit  $p < 0,001$ , Interaktion Gruppe x Zeit  $p = 0,001$ ). Hinsichtlich der Verhaltensanalyse zeigten unsere Daten, dass die drei Fohlen mit NMS seltener standen ( $p < 0,05$ ), sich weniger bewegten ( $p = 0,001$ ) sowie seltener und über kürzere Zeiträume am Euter tranken ( $p = 0,05$ ;  $p < 0,05$ ) als die gesunden Fohlen. Bezüglich der Kategorie „Liegen“ stellten wir lediglich fest, dass die Zeitdauer des Liegens im Verlauf des Beobachtungszeitraums zunahm, aber es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Zusammenfassend widerlegen die Ergebnisse der eigenen Studie unsere ersten beiden Hypothesen. Für die Thoraxkompression konnte weder ein therapeutischer Effekt bei kranken Fohlen, noch eine Beeinflussung physiologischer Funktionen bei gesunden Fohlen gezeigt werden. Die Thoraxkompression hatte weder einen Einfluss auf die Herzfrequenz noch auf die Progesteron- und Cortisolkonzentration. Auch eine Verbesserung der Verhaltensstörungen der drei NMS-Fohlen konnte nicht bestätigt werden. Da weder bei den gesunden noch bei den kranken Fohlen ein Effekt der Thoraxkompression nachgewiesen wurde, sollte der therapeutische Einsatz dieses Verfahrens bei Fohlen mit NMS kritisch hinterfragt werden.

## 6. Summary

**Bernadette Koller (2021)**

**Madigan foal squeeze technique - effects on behaviour, heart rate, heart rate variability, progesterone and cortisol release in neonatal foals**

In this diploma thesis, effects of the Madigan thoracic squeeze technique on neonatal foals were studied. A total of 20 foals were divided into three groups: healthy foals exposed to the thoracic squeeze technique (n=9), foals with diagnosed neonatal maladjustment syndrome (NMS), exposed to thorax compression (n=3) and non-treated healthy foals acting as control group (n=8). Clinical findings in the three foals diagnosed with NMS and effects of thorax compression on heart rate, heart rate variability, cortisol and progesterone concentrations, the foals' behaviour and the clinical outcome were determined and compared among groups.

Based on current theoretical knowledge three hypotheses were formulated and tested as part of this diploma thesis. The first hypothesis claims that the squeeze procedure leads to a reduction in heart rate, increased heart variability and decreased plasma progesterone concentration. The second hypothesis claims that the clinical symptoms of NMS disappear or will be improved after thorax compression. The third hypothesis states that this treatment is without effects in healthy foals.

Heart rate decreased over time ( $p < 0.01$ ) but this decrease began already one hour before initiating the squeeze procedure in healthy and in NMS foals. A similar effect was noticed in control foals. Consequently, with regard to heart rate there was no significant differences among groups. Progesterone concentrations also showed that thorax compression did not lead to significant changes, neither in healthy nor in NMS foals.

Cortisol concentration was higher in NMS compared to healthy foals of the two other groups at the beginning of the observation period. Cortisol concentration, however, declined constantly in NMS foals and 20 hours after the squeeze procedure was close to identical in foals from all three groups (groups  $p < 0.01$ , time  $p < 0.001$ , interaction group x time  $p = 0.001$ ). Referring to behaviour analysis our findings showed that NMS foals stood ( $p < 0.05$ ) and moved ( $p = 0.001$ ) less often, as well as drank less often and for shorter periods of time than foals of the other two groups ( $p = 0.05$ ;  $p < 0.05$ ). Concerning resting times, we only discovered a time

increase during the observation period, but there was no significant difference among the groups.

In conclusion, our study results refute the first and the second hypothesis. Neither a therapeutic effect of thorax compression in sick foals nor an impact on physiological functions in healthy foals could be proven. The squeeze procedure also had no effect on heart rate, heart rate variability and on progesterone and cortisol concentrations. Similarly, there was no improvement in behavioural patterns after squeezing. Because neither in healthy nor in sick foals with NMS significant positive or negative effects of a thorax compression treatment could be demonstrated, the therapeutic use of the Madigan squeezing technique in foals suffering from NMS should be questioned.

## 7. Literaturverzeichnis

Aleman M, Pickles KJ, Conley AJ, Stanley S, Haggett E, Toth B, Madigan JE. 2013. Abnormal plasma neuroactive progestagen derivatives in ill, neonatal foals presented to the neonatal intensive care unit: Neurosteroids in neonatal maladjustment syndrome. *Equine Veterinary Journal*, 45(6):661–665.

Aleman M, Weich K, Madigan J. 2017. Survey of Veterinarians Using a Novel Physical Compression Squeeze Procedure in the Management of Neonatal Maladjustment Syndrome in Foals. *Animals*, 7(12):69.

Bernard WV, Reimer JM, Cudd T. 1995. Historical factors, clinicopathologic findings, clinical features, and outcome of equine neonates presenting with or developing signs of central nervous system disease. *Proc Am Ass Equine Pract* 41:222-224.

Beyer T, Rink B.E, Scarlet D, Walter I, Kunert S, Aurich C. 2019. Early luteal phase progestin concentration influences endometrial function in pregnant mares. *Theriogenology* 125:236-241

Diesch TJ, Mellor DJ. 2013. Birth transitions: Pathophysiology, the onset of consciousness and possible implications for neonatal maladjustment syndrome in the foal: Pathophysiology, onset of consciousness and neonatal maladjustment syndrome. *Equine Veterinary Journal*, 45(6):656–660.

Drummond WH. 1988: Neonatal maladjustment syndrome: its relationship to perinatal hypoxic-ischaemic insults. *Equine Vet J* 5:41-43.

Fowden AL, Silver M. 1995: Comparative development of the pituitary-adrenal axis in the fetal foal and lamb. *Reprod Domest Anim* 30:170 –177.

Houghton E, Holtan D, Grainger L, Voller BE, Rossdale PD, Ousey JC. 1991: Plasma progestagen concentrations in the normal and dysmature newborn foal. *J Reprod Fertil* 44:609-617.

- Hart, K.A., Barton, M.H., Ferguson, D.C., Berghaus, R., Slovis, N.M., Heusner, G.L., Hurley, D.J.. 2011. Serum free cortisol fraction in healthy and septic neonatal foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25, 345–355.
- Kuhl J, Nagel C, Ille N, Aurich JE, Aurich C. 2016: The PGF<sub>2</sub> $\alpha$  agonists luprostitol and d-cloprostenol reliably induce luteolysis in luteal phase mares without evoking clinical side effects or a stress response. *Anim Reprod Sci* 168:92-99.
- Madigan JE, Haggett EF, Pickles KJ, Conley AJ, Stanley S, Moeller B, Palmero J, Toth B, Aleman M. 2012: Allopregnanolone infusion induced neurobehavioral alterations in a neonatal foal: Is this a clue to the pathogenesis of neonatal maladjustment syndrome? *Equine Vet J* 44, Suppl 41:109-112.
- Melchert M, Aurich C, Aurich J, Gautier C, Nagel C. 2019. Controlled delay of the expulsive phase of foaling affects sympathoadrenal activity and acid base balance of foals in the immediate postnatal phase. *Theriogenology*, 139:8–15.
- Nagel C, Erber R, Bergmaier C, Wulf M, Aurich JE, Möstl E, Aurich C. 2012: Cortisol and progesterin release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology* 78:759-767.
- Nagel C, Erber R, Ille N, Wulf M, Aurich JE, Möstl E, Aurich C. 2015: Heart rate and salivary cortisol concentrations in foals at birth. *Vet J* 203:250-252.
- Neuhauser S, Palm F, Ambuehl F, Aurich C. 2008. Effects of Altrenigest treatment of mares in late pregnancy on parturition and on neonatal viability of their foals. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 116(7):423-428
- Palmer AC, Rossdale PD. 1976: Neuropathological changes associated with the neonatal maladjustment syndrome in the Thoroughbred foal. *Res Vet Sci* 20:267-275.
- Ringger NC, Giguère S, Morreseey PR, Yang C, Shaw G. 2011. Biomarkers of Brain Injury in Foals with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Markers of Brain Injury in Foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1):132–137.

- Rossdale PD. 1972: Modern concepts of neonatal disease in foals. *Equine Vet J* 4:117-128.
- Rossdale PD, Leadon DP. 1975: Equine neonatal disease: a review. *J Reprod Fertil* 23:658-661.
- Rossdale PD, Ousey JC, McGladdery AJ, Prandi S, Holdstock N, Grainger L, Houghton E. 1995: A retrospective study of increased plasma progestagen concentrations in compromised neonatal foals. *Reprod Fertil Dev* 7:567-575.
- Scarlet D, Wulf M, Kuhl J, Köhne M, Ille N, Conley AJ, Aurich C. 2018: Anti-Müllerian hormone profiling in prepubertal horses and its relationship with gonadal function. *Theriogenology* 117:72-77.
- Sartori C, Guzzo N, Normando S, Bailoni L, Mantovani R. 2016. Evaluation of behaviour in stabled draught horse foals fed diets with two protein levels. 9.
- Toth B, Aleman M, Brosnan RJ, Dickinson PJ, Conley AJ, Stanley SD, Nogradi N, Williams CD, Madigan JE. 2012: Evaluation of squeeze-induced somnolence in neonatal foals. *Amer J Vet Res* 73:1881-1889.