

**Graf Lehndorff Institut für Pferdewissenschaften**

Gemeinsame Einrichtung der Veterinärmedizinischen Universität Wien und des  
Brandenburgisches Haupt- und Landgestüt Neustadt (Dosse)

(Leitung: Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Christine Aurich Dipl.ECAR)

**Vibroakustische Stimulation von Pferdefeten mit  
Untersuchung von Herzfrequenz und  
Herzfrequenzvariabilität**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Sarah Louise Schneider

Wien, im Juni 2020

Betreuerin: Priv.-Doz. Dr.med.vet. Christina Nagel Dipl.ECAR

GutachterIn: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Jessika-Maximiliane Cavalleri  
Dipl.ECEIM

## Inhaltsverzeichnis

Inhalt	Seite
1. Einleitung	1-5
1.1 Ziele und Hypothesen	6
2. Material und Methoden	6-9
2.1 Tiere	6-7
2.2 Versuchsdurchführung	7
2.3 Fetomaternale Elektrokardiographie	7-8
2.4 Auswertung der fetalen Reaktion auf die vibroakustische Stimulation	8-9
2.5 Statistische Auswertung	9
3. Ergebnisse	10-11
4. Diskussion	12-15
5. Zusammenfassung	16
5.1 Summary	17
6. Literaturverzeichnis	18-21

## 1. Einleitung

Die Beurteilung der Gesundheit und des Wohlbefindens des Fetus stellt seit jeher einen grundlegenden Pfeiler der Pränataldiagnostik dar. Daher wurden im Laufe der Zeit verschiedene Methoden entwickelt, um die Größe, den Grad der Reifung, aber vor allem auch den Gesundheitszustand des Fetus beurteilen zu können. In der Humanmedizin wird ein breites Spektrum an diagnostischen Möglichkeiten in der pränatalen Diagnostik ausgeschöpft. Es wird grob in invasive und in nicht-invasive Techniken unterteilt. Zu den nicht-invasiven Techniken zählen beispielsweise der Ultraschall, wobei hier der 4D Ultraschall, der ein dreidimensionales Bild des Fetus mit Bewegung in Echtzeit liefert und eine moderne Neuerung darstellt. Auch die fetale Elektrokardiographie mit verschiedenen Möglichkeiten den Fetus zu stimulieren, gilt als nicht-invasiv. Auf der anderen Seite stehen invasive Techniken, wie zum Beispiel die Amniozentese und die Cordozentese.

Nicht nur in der Humanmedizin, sondern auch in der Veterinärmedizin hat die Einführung der Ultrasonographie in der Reproduktionsmedizin neben der Erforschung von detaillierten Strukturen und Funktionen der Reproduktionsorgane, zum Verständnis der embryonalen bzw. fetalen Entwicklung beigetragen (Kähn, 1992). Bei Pferd und Rind werden standardmäßig in der frühen Trächtigkeit Untersuchungen per Ultraschall durchgeführt, anhand derer nicht nur eine Trächtigkeit festgestellt werden kann, sondern auch der Entwicklungsstand und die Gesundheit der Frucht beurteilt werden (Ginther, 1992; Fitzgerald et al., 2015). Nicht nur in der frühen Trächtigkeit, sondern auch im weiteren Verlauf der Trächtigkeit ist die Evaluierung des fetalen Wohlbefindens möglich und vor allem bei Störungen der Trächtigkeit und bei Risikoträchtigkeiten indiziert. In der Praxis werden transrektale, in der späteren Trächtigkeit auch transabdominale, sonographische Untersuchungen des Fetus vorgenommen (Reef et al., 1996; Bucca et al., 2005). Bei diesen Untersuchungen wird besonderer Wert auf die Evaluierung der Beschaffenheit von Fruchtwasser und Plazenta sowie Lebenszeichen des Fetus, wie zum Beispiel Fruchtbewegungen oder Herzschlag gelegt. Bei der Untersuchung kann es jedoch aufgrund der Größe der Stute zu Einschränkungen in den diagnostischen Möglichkeiten kommen (Nagel et al.,

2011a). Ab einer gewissen Größe des Fetus bzw. des Muttertiers sind gewisse Abschnitte für die Ultraschalluntersuchung nicht mehr zugänglich und können so nicht mehr evaluiert werden. Unabhängig von der Größe des Muttertiers kann die transkutane fetomaternale Elektrokardiographie (EKG) sowohl beim Pferd (Nagel et al. 2010, 2011a, 2011b) als auch beim Rind (Trenk et al., 2015) im Lauf der Trächtigkeit eingesetzt werden, um das Wohlbefinden des Fetus und seinen Entwicklungsstand zu beurteilen. Dies geschieht durch die Detektion und Beurteilung von Herzfrequenz (HF) und Herzfrequenzvariabilität (HFV). Diese Technik erlaubt die gleichzeitige Beurteilung des Fetus und der Stute.

Im Gegensatz zur ultrasonographischen Untersuchung gibt es beim fetomaternalen EKG keine Einschränkung durch die Körpergröße der Stuten (Nagel et al., 2011b). Während die transrektale Ultraschalluntersuchung aufgrund ihrer kleinen Körpergröße bei Shetlandponys schwierig bis unmöglich ist, kann das EKG bei Mini- als auch Riesenrassen problemlos durchgeführt werden. Ein weiterer Vorteil des EKGs ist die Möglichkeit Langzeitaufnahmen anzufertigen. Je länger die Dauer der Untersuchungszeit ist, desto mehr Informationen können gewonnen werden. Im Gegensatz dazu stellt die Ultraschalluntersuchung immer nur eine kurze Momentaufnahme dar. Das EKG kann über mehrere Stunden aufgezeichnet werden und die Stute ist keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt (Nagel et al., 2011b). Für eine transrektale Untersuchung muss die Stute außerdem in einen Zwangsstand geführt werden. Besonders empfindliche oder nervöse Tiere müssen eventuell zusätzlich sediert werden, damit eine Untersuchung überhaupt möglich ist. Diese zusätzlichen Stressfaktoren entfallen bei der Anfertigung eines EKGs. Das tragbare EKG Gerät zur Anfertigung des fetomaternalen EKGs (Televet 100) ist nur ca. 10 x 15 cm groß und wird an einem Gurt direkt an der Stute angebracht. Der Untersucher kann in der Regel die Box nach dem Anlegen sofort wieder verlassen, während das fetomaternale EKG aufgezeichnet wird. Das fetomaternale EKG ist ab Tag 150 der Trächtigkeit bis zur Geburt durchführbar (Baska-Vincze et al., 2014; Nagel et al., 2014) und kann sogar intrapartum für die Überwachung von HF und HFV genutzt werden (Nagel et al., 2014). Anhand der gewonnenen Daten durch das fetomaternale EKG ist man in der Lage,

den Gesundheitsstatus und die fortschreitende Entwicklung des Fetus zu beurteilen, beziehungsweise Abweichungen von der Norm festzustellen.

Zur Beurteilung des fetalen Wohlbefindens ist vor allem die Herzfrequenz des Fetus von Bedeutung. Die HF des Fetus unterliegt im Laufe der Reifung physiologischen Änderungen. Beispielsweise nimmt die HF allgemein mit zunehmendem Reifegrad im Laufe der Trächtigkeit ab (Nagel et al., 2010). Während vom sechsten bis ungefähr achten Monat der Trächtigkeit eine durchschnittliche HF von 110 Schlägen pro Minute vorliegt, sind es gegen Ende der Trächtigkeit und in der präpartalen Phase nur noch durchschnittlich 80 Schläge pro Minute (Nagel et al., 2010). Da sich Schlafphasen und Phasen der Bewegung beim Pferdefetus abwechseln, kommt es immer wieder zu vorübergehenden Schwankungen und Anstiegen der fetalen Herzfrequenz, welche auf einen gesunden Fetus schließen lassen. Interessanterweise können die Herzfrequenzreferenzwerte der Feten von Warmblütern auf Ponys übertragen werden. Auch wenn die HF beim adulten Tier deutlich zwischen kleinen und großen Pferderassen variiert, ist die HF der beträchtlich kleineren Ponyfeten während der Trächtigkeit nicht höher als die von Warmblutfeten (Nagel et al., 2011a).

Einen zweiten wichtigen Parameter stellt die Herzfrequenzvariabilität des Fetus dar. Die Herzfrequenzvariabilität ist von der Stärke der Aktivierung von Parasympathikus und Sympathikus abhängig (Von Borell, 2007). Die fetale Herzfrequenz nimmt von der Mitte der Trächtigkeit bis zur Geburt ab, im Gegensatz dazu nimmt die HFV kontinuierlich zu (Nagel et al., 2010). Dies wurde ebenso bei menschlichen Feten beobachtet und ist ein Zeichen für die zunehmende und komplexere Regulation der kardialen Aktivität durch das autonome Nervensystem (Nagel et al., 2011a). Generell kann die Zunahme der HFV als Indikator für die fortschreitende Ausreifung des Fetus gesehen werden (Nagel et al., 2010). Andererseits kann eine verminderte HFV als Zeichen einer Gefährdung des Fetus gedeutet werden. Beim menschlichen Fetus konnten Abweichungen von der Norm bzw. Veränderungen von HF und HFV mit Hypoxämie und folglich mit Stress des Fetus in Verbindung gebracht werden (Houzé et al., 2019), so dass die Beurteilung von HF und HFV beispielsweise als diagnostisches Instrument bei dem Verdacht einer neonatalen Azidose eingesetzt

werden kann (Houzé et al., 2019). Viele Komplikationen während der Schwangerschaft beim Menschen oder der Trächtigkeit beim Tier gehen mit einer verminderten Sauerstoffversorgung des Fetus einher. Für den Fetus ergibt sich als einzige Möglichkeit das Sauerstoffdefizit in der Versorgung auszugleichen, eine Reduktion des Sauerstoffverbrauchs. Eine Reduktion des Sauerstoffverbrauchs kann nur durch eine verminderte Bewegungsaktivität und eine verminderte Herzaktivität erreicht werden (Manning, 2002; Bocking, 2003). Daher ist die erste Antwort auf eine Sauerstoffunterversorgung eine Reduktion der Herzfrequenz. Bleiben das grundlegende Problem und der Sauerstoffmangel jedoch bestehen, so folgt auf dieses Stadium die Dekompensation. Hier geht die Steuerung durch das zentrale Nervensystem verloren und es folgt eine Tachykardie, die letztendlich zur finalen Bradykardie und zum Herzstillstand führt (Manning, 2002; Bocking, 2003).

In der Humanmedizin wird ergänzend zur Ultrasonographie und Elektrokardiographie die vibroakustische Stimulation (VAS) des Fetus eingesetzt. Dabei wird ein Signal meist über die Bauchwand in Richtung Fetus gerichtet. Das Signal wird über Frequenz und Dauer definiert und die nachfolgenden Reaktionen des Fetus untersucht. Es wird angenommen, dass mit fortschreitendem Entwicklungsgrad des Fetus die Reaktion auf das Signal spezifischer und reproduzierbarer wird. Die Integration der vibroakustischen Stimulation in die Pränataldiagnostik ist auf Grund ihrer einfachen Durchführbarkeit von Vorteil. Außerdem handelt es sich um eine nicht invasive Untersuchungsmethode und stellt somit für den Fetus zu keiner Zeit ein Risiko dar (Petrović et al., 2009).

In der Humanmedizin konnte gezeigt werden, dass ein vibroakustischer Stimulus ab der 26. Schwangerschaftswoche die fetale Herzfrequenz und die Bewegungsmuster des Fetus beeinflussen kann. So folgt auf ein VAS eine Periode erhöhter fetaler Herzfrequenz (Makino et al., 2009). Die Untersuchung der fetalen Reaktion auf die VAS kann jedoch nicht nur durch die Evaluierung der Herzfrequenz erfolgen, sondern auch per Ultraschall dargestellt werden. Es wurde vorgeschlagen eine vibroakustische Stimulation mit direkter Beobachtung der Bewegungsreaktion über Ultraschall zur schnellen Evaluierung von bisher als gesund beurteilten Feten zu verwenden (Petrović

et al., 2009). Bei der Untersuchung von groben Körperbewegungen, Bewegungen der Extremitäten und Schreckreaktionen der Feten fünf Minuten vor und nach der vibroakustischen Stimulation, konnte festgestellt werden, dass die Bewegungsantwort ab der 19.-20. Schwangerschaftswoche reproduzierbar ist. Dies legt die Annahme nahe, dass sich der Gehörsinn des Fetus vor oder um die 19.-20. Gestationswoche ausbildet (Graven et al., 2008; Lopez-Teijon et al., 2015). In neueren Studien wurde der Gesichtsausdruck vor dem VAS, sowie die darauffolgenden Gesichtsausdrücke, wie zum Beispiel die Frequenz von Zwinkern, Mundbewegungen, Gähnen und Lächeln per 4D Ultraschall beurteilt (Ogo et al., 2019). Dies wurde zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft durchgeführt, mit dem Resultat, dass keine signifikante Reaktion vor der 36. Schwangerschaftswoche dokumentiert werden konnte. Jedoch nahmen die Reaktionen auf das Signal ab der 36. Schwangerschaftswoche signifikant zu, was den Rückschluss nahelegt, dass zu diesem Zeitpunkt die Ausreifung des Gehirns und des Nervensystems stark zunimmt (Ogo et al., 2019). Auch bei der Beurteilung von Hochrisikoschwangerschaften kann die vibroakustische Stimulation eingesetzt werden. Ein Vorteil der VAS ist, dass der menschliche Fetus ab der 30./32. Schwangerschaftswoche durch das Signal aktiv aufgeweckt werden kann. Daher ist die Untersuchung nicht auf spontane Bewegungen angewiesen, und es kommt vermutlich zu weniger falsch negativen Resultaten (Deshpande et al., 2012).

Da beim Pferd, im Gegensatz zu anderen Nutztieren, der materielle Wert und vor allem der emotionale Wert von Stute und ungeborenem Fohlen zum Teil sehr hoch ist, gehört die Evaluierung des fetalen Wohlbefindens vor allem bei Risikoträchtigkeiten zur tierärztlichen Routine. Da es genau wie in der Humanmedizin auch beim Pferd schwierig ist, die Reaktionsfähigkeit des Fetus zu beurteilen, würde die Verwendung der VAS für diagnostische Zwecke auch in der Reproduktionsmedizin des Pferdes einen großen Fortschritt bedeuten. Die nicht-invasive vibroakustische Stimulation würde die Möglichkeit eröffnen, gezielte Reaktionen des Fetus zu stimulieren, und so eine spezifische Reaktion des Fetus innerhalb kürzester Zeit beurteilen zu können.

## **Ziele und Hypothesen**

Ziel der vorliegenden Studie war die Evaluierung der vibroakustischen Stimulation zur Beurteilung der fetalen Gesundheit beim Pferd. Die Studie folgte der Hypothese, dass der Pferdefetus in den letzten drei Wochen vor der Geburt auf ein vibroakustisches Signal mit einem Anstieg der Herzfrequenz und einem Abfall der HRV reagiert. Des Weiteren wird angenommen, dass die Reaktion des Fetus auf das Signal mit Fortschreiten der Trächtigkeit zunimmt.

## **2. Material und Methoden**

Für die Durchführung von nicht-invasiven Untersuchungen, wie die Anfertigung eines fetomaternalen EKGs mit vibroakustischer Stimulation, ist nach Absprache mit dem Landesamt für Arbeitsschutz, Verbraucherschutz und Gesundheit des Landes Brandenburg keine Tierversuchsanzeige notwendig (allgem. Aktenzeichen: Tierschutz BB:2340-3-2020).

### **2.1. Tiere**

Es wurden insgesamt 13 Warmblut Zuchtstuten (*Equus caballus*) mit physiologischen Einlingsträchtigkeiten für die Studie untersucht. Die Stuten stammten aus dem brandenburgischen Haupt- und Landgestüt in Neustadt an der Dosse (Deutschland). Die Stuten waren zwischen vier und 18 Jahren alt (Durchschnittsalter  $8,4 \pm 4,1$  Jahre). Die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer dieser Stuten betrug  $341 \pm 7$  Tage. Die Stuten wurden in Gruppenhaltung mit Matratzenstreu im Laufstall gehalten und hatten täglich Zugang zu einem Sandpaddock im Freien. Alle Pferde wurden zwei Mal täglich mit Hafer und Heu nach individuellem Bedarf gefüttert. Für die Fütterung ihrer Haferration wurden die Stuten an ihrem Futterplatz fixiert. Die Stuten hatten zu jeder Zeit Zugang zu Wasser und Mineralstoffsupplementation. Ungefähr 14 Tage vor dem errechneten Geburtstermin wurden die Stuten aus den Gruppenlaufställen in Einzelboxen im Abfohlstall zur engmaschigen Überwachung verbracht. Ab diesem Zeitpunkt wurden

die Stuten 24 Stunden überwacht. Alle Stuten waren während der gesamten Studienzeit gesund und es traten keine Komplikationen während der Trächtigkeit oder der Geburt auf.

## *2.2. Versuchsdurchführung*

Bei allen 13 Stuten wurde in der späten Trächtigkeit einmal wöchentlich bis zur Geburt des Fohlens eine fetomaternal EKG Untersuchung durchgeführt. Zusätzlich wurde der Fetus mittels eines vibroakustischen Signals stimuliert.

Für die Untersuchung wurde die Stute auf der Stallgasse von einer Person an Halfter und Strick festgehalten. Das Televet 100 EKG-Gerät wurde angelegt und mit dem Computer via Bluetooth verbunden. Das fetale EKG wurde mindestens fünf Minuten vor dem Signal und fünf Minuten nach dem Signal aufgezeichnet. Das Signal für die vibroakustische Stimulation wurde über einen Lautsprecher (Maginon Bluetooth Minilautsprecher BS-5) über einen Zeitraum von 20 Sekunden ausgesandt. Dafür wurde der Lautsprecher von einer zweiten Person ca. eine Hand breit vor dem Euter der Stute auf die Bauchwand aufgesetzt. Das Signal wurde von einem „Tone Generator“ generiert und wies eine Frequenz von 160 Hz auf. Es wurden die Namen der Stuten, Datum der Messung, Uhrzeit von Start und Ende der Messung und des Signals dokumentiert. Weiters wurden mögliche Einflussfaktoren auf die Messung, wie zum Beispiel eine von außen sichtbare Aktivität des Fetus während der Messung, sowie Unruhe der Stute im Protokoll vermerkt. Die Messungen fanden immer im Zeitraum zwischen 9 und 16 Uhr statt.

## *2.3. Fetomaternal Elektrokardiographie*

Für die Durchführung des fetomaternalen EKGs wurde das Televet 100 ((Version 5.1.1; Engel Engineering, Heusenstamm, Deutschland) genutzt. Das Televet 100 verwendet einen Filter, der es ermöglicht, das fetale EKG von dem abdominalen EKG des Muttertieres zu extrahieren und durch Verstärkung das fetale Signal für die

Auswertung sichtbar zu machen. Maternale und fetale Herzaktivitäten scheinen beide auf und werden sowohl zusammen, als auch getrennt voneinander aufgezeichnet. Um das fetomaternale Signal abzuleiten, wurden vier Elektroden verwendet. Es wurden selbstklebende Pads direkt auf dem Fell der Stuten angebracht und nach dem in Europa gebräuchlichen Farbschema an folgenden Stellen platziert: Die grüne Elektrode lag auf der linken Halsseite, die gelbe Elektrode in der linken Flankenregion auf Höhe des Tuber Coxae und die schwarze Elektrode wurde auf der linken Kruppe der Stute fixiert. Die rote Elektrode wurde auf der rechten Seite des Abdomens auf Kniehöhe angebracht. Durch dieses System präsentiert das maternale EKG eine modifizierte Basis-Apex Ableitung. Das fetale Signal hängt von der Lage des Fetus im Uterus ab und repräsentiert daher keine standardisierte Aufzeichnung.

Die Elektroden wurden mit dem Televet 100 EKG-system verbunden. Das Gerät war circa 10x15 cm groß und wurde an einem elastischen Gurt, der um den Thorax der Stute gelegt wurde, befestigt. Die Daten konnten über Bluetooth über eine Distanz von bis zu 100 m an einen Laptop gesendet und direkt am Bildschirm abgespielt sowie auf einer SD-Karte abgespeichert werden.

#### *2.4. Auswertung der fetalen Reaktion auf die vibroakustische Stimulation*

Für die Auswertung der fetalen Reaktion auf die vibroakustische Stimulation wurden die fetalen EKGs gesichtet. Von den wöchentlich durchgeführten fetalen EKGs in der Spätträchtigkeit von 13 Stuten, wurden rückwirkend die letzten drei EKGs vor der Geburt ausgewertet. Aufgrund von schlechter Signalqualität vor oder nach dem VAS konnten drei Messungen nicht in die Auswertung mit einbezogen werden. So konnten zwölf Untersuchungen in Woche minus drei (im Durchschnitt 17 Tage vor der Geburt), elf Untersuchungen in Woche minus zwei (im Durchschnitt 9,3 Tage vor der Geburt) und 13 Untersuchungen in der letzten Woche vor der Geburt (im Durchschnitt 3,6 Tage vor der Geburt) ausgewertet werden.

Es wurden bei jedem EKG vier Minuten vor und vier Minuten nach dem VAS ausgewertet. Das VAS selbst dauerte 20 Sekunden und ist bei der Auswertung in den

zweiten vier Minuten integriert. Die zwei mal vier Minuten wurden in jeweils acht 30-Sekunden Intervalle geteilt und mit Hilfe der Kubios HRV Software (Biomedical Signal Analysis Group, Department of Applied Physics, University of Kuopio, Finland) ausgewertet.

Neben der Herzfrequenz der Feten wurden Parameter für die HFV erhoben. Zur Auswertung wurden die zeitbasierten HFV-Parameter Standardabweichung der aufeinander folgenden RR-Intervalle (SDRR) und die Quadratwurzel des quadratischen Mittelwertes der Summe aller Differenzen zwischen benachbarten RR-Intervallen (RMSSD) herangezogen.

### *2.5. Statistische Auswertung*

Für die Statistische Auswertung der Daten wurde das SPSS Statistik Paket verwendet (Version 25.0; SPSS-IBM, Armonck, NY, USA). Alle Daten waren normalverteilt (Kolmogorov-Smirnov Test). Die Daten der Herzfrequenz sowie Herzfrequenzvariabilität wurden mit einem generalisierten linearen Modell für wiederholte Messungen für die einzelnen Wochen vor der Geburt ausgewertet. Ein p-Wert von  $<0,05$  wurde als statistisch signifikant angenommen. Alle Werte sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler angegeben.

### 3. Ergebnisse

Aus den errechneten Werten kann entnommen werden, dass die Herzfrequenz der Feten während allen drei Messungen zwischen 70 und 80 Schlägen/min lag (Abb. 1a-c). Der Mittelwert der Herzfrequenz lag in der letzten Woche vor der Geburt bei  $75,7 \pm 0,4$ , zwei Wochen vor der Geburt bei  $73,5 \pm 3,5$  und drei Wochen vor der Geburt bei  $78,4 \pm 0,33$  Schlägen pro Minute. Es konnte weder eine Änderung der fetalen Herzfrequenz über die Zeit noch als Reaktion auf das VAS festgestellt werden.

Die beiden HFV Parameter SDRR und RMSSD, zeigten ebenfalls keine Veränderungen über die Zeit oder im Zusammenhang dem VSA (Abb. 2a-c; 3a-c), sie bewegten sich in allen drei Wochen und sowohl vor als auch während und nach dem Signal in einem Bereich zwischen zehn und 30 msec.

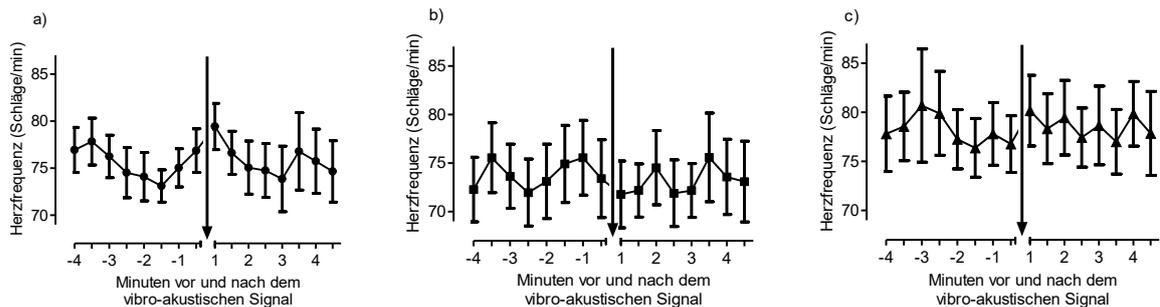


Abbildung 1:

Darstellung der fetalen Herzfrequenz (Schläge/min) von vier Minuten vor bis vier Minuten nach dem VAS bei Pferdefeten a) eine (●; n=11) b) zwei (■; n=10) und c) drei (▲; n=7) Wochen ante partum. Der schwarze Pfeil symbolisiert den Beginn des vibroakustischen Signals (Dauer 20 Sekunden) und ist in den Anfang der zweiten vier Minuten integriert.

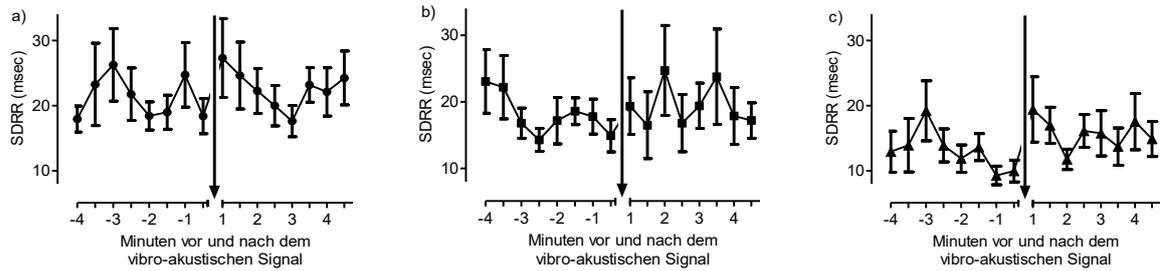


Abbildung 2:

Darstellung des fetalen Herzfrequenzvariabilitätsparameter SDRR (msec) von vier Minuten vor bis vier Minuten nach dem VAS bei Pferdefeten a) eine (●; n=11) b) zwei (■; n=10) und c) drei (▲; n=7) Woche ante partum. Der schwarze Pfeil symbolisiert den Beginn des vibroakustischen Signals (Dauer 20 Sekunden) und ist in den Anfang der zweiten vier Minuten integriert.

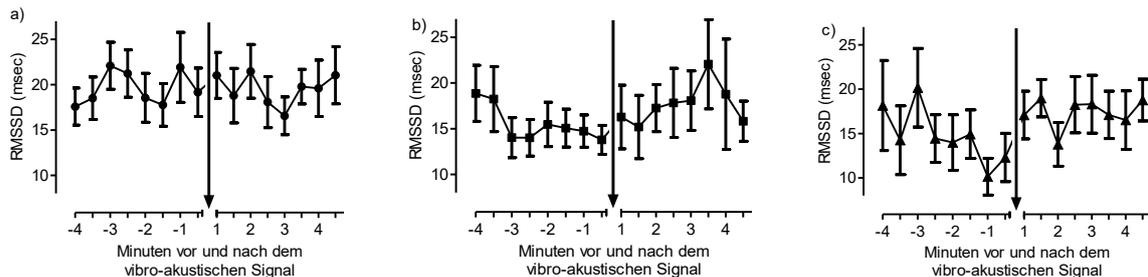


Abbildung 3:

Darstellung des fetalen Herzfrequenzvariabilitätsparameter RMSSD (msec) von vier Minuten vor bis vier Minuten nach dem VAS bei Pferdefeten a) (●; n=11) b) zwei (■; n=10) und c) drei (▲; n=7) Woche ante partum. Der schwarze Pfeil symbolisiert den Beginn des vibroakustischen Signals (Dauer 20 Sekunden) und ist in den Anfang der zweiten vier Minuten integriert.

#### 4. Diskussion

Im Zuge der vorliegenden Diplomarbeit wurde die Reaktionsfähigkeit von Pferdefeten auf vibroakustische Stimulation in den letzten drei Wochen vor der Geburt untersucht. Die Reaktion wurde anhand von Veränderungen von HF und HFV des Fetus analysiert. Es konnten keine signifikanten Effekte der vibroakustischen Stimulation auf die HF und die HFV des Fetus festgestellt werden.

Es können verschiedene Ursachen dafür in Betracht gezogen werden, dass keine signifikanten Ergebnisse erzielt werden konnten. Allem voran besteht die Möglichkeit, dass der Fetus Reaktionen auf das VAS zeigt, die sich nicht in einer Änderung der HF oder der HFV niederschlagen. Es wäre jedoch möglich, dass Reaktionen auf das VAS wie zum Beispiel eine Veränderung der Bewegungsmuster, nicht über das fetomaternalen EKG detektierbar sind. So müssen minimale Bewegungen, wie beispielsweise mimische Veränderungen nicht zwangsläufig von Änderungen der HF und HFV begleitet sein. Des Weiteren ist die mimische Muskulatur des Pferdes nicht annähernd so hoch entwickelt wie die des Menschen, wodurch man sich keine vergleichbare Antwort auf ein Signal, wie es beim menschlichen Fetus bereits untersucht wurde (Ogo et al., 2019), erwarten kann. Für die Detektion der Reaktion wäre in diesem Fall die Ultraschalluntersuchung das geeignetere Diagnostikum. In der Humanmedizin werden gleichzeitig mit der Aussendung des Signals Ultraschalluntersuchungen gemacht, die sowohl grobe als auch feine Bewegungen wie zum Beispiel die Mimik des Fetus erfassen können (Ogo et al., 2019). Dies ist beim Pferd nur sehr schwer in gleicher Qualität umsetzbar. Das Bild der sonographischen Untersuchung kann bei Pferden aufgrund der wesentlich größeren Körpergröße von Mutter und Fetus höchstens einen Ausschnitt zeigen. Dieser Ausschnitt kann aufgrund der Größe und der anatomischen Verhältnisse oft nicht sehr präzise ausgewählt werden und ist letztendlich nicht repräsentativ für die vorliegende Fragestellung. Es können aufgrund des fehlenden Überblickes jederzeit Bewegungen in nicht abgebildeten Arealen stattfinden und so die Aussagekraft der Untersuchung mindern.

Beim menschlichen Fetus ist relativ genau bekannt, dass die Strukturen des Hörapparates ab der 16. Schwangerschaftswoche ausgebildet sind (Graven et al., 2008; Lopez-Teijon et al., 2015). Der Fetus ist ungefähr ab der 19.-20. Schwangerschaftswoche fähig, auf Signale, die über die Amnionflüssigkeit übertragen werden, zu reagieren (Hepper et al., 1994; Sohmer et al., 2001). Es gibt beim Pferdefetus diesbezüglich noch keine genaueren Informationen. Dieses Wissen macht es beim Menschen möglich die Untersuchungszeiten und -intervalle sehr präzise zu wählen und somit die Wahrscheinlichkeit ein signifikantes Ergebnis zu erlangen, zu erhöhen. Das Wissen über den Zeitpunkt des Erlangens der Hörfähigkeit beim Fetus wäre also auch für diesen Versuch am Pferd von Vorteil.

Auch Art, Frequenz, Dauer und Intensität des Signals, das an den Fetus gesendet wird, sind Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis der Untersuchung nehmen. Die Dicke der Bauchwand des Pferdes, die aus Fell, Haut, Muskulatur und Fett besteht, stellt eine Barriere dar, die das Signal erst einmal durchdringen muss, damit es potenziell vom Fetus wahrgenommen werden kann. Nachdem das Signal diese Barriere überwunden hat, muss es nochmals mehrere Liter von Fruchtwasser durchdringen, um an den Fetus zu gelangen. Verglichen mit der Distanz, die das Signal bei einer Frau bis zu ihrem Fetus zurücklegen muss, ist diese beim Pferd sehr viel größer. Es ist beim Pferd wahrscheinlicher, dass das Signal auf dem Weg gedämpft wird. Folglich müssen anatomische Unterschiede zwischen Mensch und Pferd in Bezug auf die Intensität des Signals berücksichtigt werden. Es ist wahrscheinlich, dass akustische Signale bei schwangeren Frauen besser von den Feten wahrgenommen werden können, je kleiner die Distanz ist, die das Signal zurücklegen muss. Kleine Lautsprecher, welche bei der schwangeren Frau vaginal eingeführt werden und von dort Signale senden können, zeigen eine bessere Signaltransduktion (Lopez-Teijon et al., 2015), als beispielsweise Lautsprecher, die einfach auf der Bauchwand platziert werden. Diese sogenannten „Babypots“ wurden im Zuge einer Studie entwickelt und werden bereits kommerziell angeboten.

Die Positionierung des Signals spielt ebenfalls eine große Rolle. Selbst wenn das Signal ventral-caudal am Abdomen platziert wird, während sich das Fohlen in Vorderendlage und in unterer Stellung befindet, so ist die Distanz zwischen Lautsprecher und Ohren des Fetus mitunter sehr groß. Möglicherweise reicht diese Distanz bereits aus, um die Wahrnehmung des Signals durch den Fetus zu verhindern. Liegt der Fetus hingegen in Hinterendlage erhöht sich die Distanz um ein Vielfaches und die Wahrscheinlichkeit, dass eine Signalübertragung bis zum fetalen Gehör stattfindet, wird deutlich reduziert. In der vorliegenden Studie wurden alle Untersuchungen bei Feten in Vorderendlage unternommen.

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde ein vibroakustisches Signal an die Feten gesendet. Dieses beinhaltet neben der akustischen Komponente, die über den fetalen Gehörsinn verarbeitet wird, auch eine mechanische Komponente über die Vibration. Es hätten also durch Druckwellen in der Amnionflüssigkeit und über mechanische Rezeptoren des Fetus potenziell Vibrationen wahrgenommen werden können. Es wurde gezeigt, dass bei menschlichen Feten ab der 19./20. Woche reproduzierbare Bewegungsmuster auf akustische Signale detektiert werden konnten (Hepper et al., 1994; Sohmer et al., 2001), jedoch gibt es keine genauen Daten für den Zeitpunkt reproduzierbarer Reaktionen auf vibroakustische Signale. Unter der Annahme, dass die Vibration bereits in früheren Entwicklungsstadien als das akustische Signal wahrgenommen werden kann, gibt es multiple potenzielle Ursachen dafür, dass in dem vorliegenden Versuch keine Reaktion des Fetus auf das VAS festgestellt werden konnte. Wie bereits diskutiert wurde, wäre es möglich, dass die Intensität der Vibration zu gering gewählt wurde, um vom Fetus wahrgenommen zu werden. Wäre der Versuch in einem früheren Entwicklungsstadium durchgeführt worden, wäre es auch möglich, dass der Fetus aufgrund seiner weniger fortgeschrittenen Entwicklung noch nicht gleichermaßen auf die Vibration reagieren kann, wie es kurz vor der Geburt zu vermuten ist. In Bezug auf den menschlichen Fetus spielen Faktoren, wie die regelmäßige Konfrontation von Feten mit vibro(akustischen) Signalen eine Rolle. Frauen berichten laut subjektiver Wahrnehmung, dass ihre Feten vermehrte Bewegungen zeigen, während sie beispielsweise öffentliche Verkehrsmittel nutzen (Kromka-szydek et al., 2018). Das wirft die Frage auf, ob die Feten durch das „Signal“

aufgeweckt werden, oder ob hier andere Faktoren, wie zum Beispiel Stress der Mutter eine Rolle spielen.

Nach den Ergebnissen dieser ersten Pilotstudie sollte für die weitere Evaluierung der vibroakustische Stimulation beim Pferdefetus , die Intensität und Frequenz des Signals festgestellt werden, bei der sicher eine Reaktion des Fetus stattfindet, d.h. bei der das Signal alle Schichten der Bauchwand und das Fruchtwasser durchdringen und zum Fetus gelangen kann. Weiters wäre es von Vorteil, die Entwicklung der Hörfähigkeit des Pferdefetus im Laufe der Trächtigkeit zu untersuchen, um den optimalen Zeitpunkt für die vibroakustische Stimulation wählen bzw. den Fetus mit Ultraschall untersuchen zu können.

## 5. Zusammenfassung

Die Pränataldiagnostik entwickelt sich sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin stetig weiter. Angefangen von der Ultraschalldiagnostik bis hin zur Amniozentese stehen den Ärzten sowohl nicht-invasive als auch invasive Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Durch den immer größer werdenden emotionalen, aber auch finanziellen Wert von Haustieren, in diesem Fall insbesondere in Bezug auf das Pferd, strebt die Veterinärmedizin nach Untersuchungstechniken, welche möglichst früh in der Trächtigkeit signifikante Aussagen liefern. Dabei orientiert sie sich sehr stark an der Humanmedizin, wobei sie aber immer wieder auf anatomische Grenzen stößt. In dieser Diplomarbeit wurden Veränderungen in der Herzfrequenz und in der Herzfrequenzvariabilität des Pferdefetus vor und nach vibroakustischer Stimulation als nicht-invasive Untersuchungstechnik untersucht. Es wurden bei 13 Warmblutstuten mit physiologischen Einlingsträchtigkeiten in den letzten drei Wochen vor der Geburt einmal wöchentlich fetomaternalen EKGs aufgezeichnet und anschließend ausgewertet. Die Aufzeichnung des fetomaternalen EKGs erfolgte mittels Televet 100. Es wurden bei jedem EKG die vier Minuten vor dem Signal, und die vier Minuten nach dem Signal ausgewertet. Das VAS, welches 20 Sekunden betrug, wurde bei der Auswertung jeweils in die zweite Hälfte, also an den Beginn des zweiten vier-Minuten Intervall integriert. Die HF und die HFV zeigen keine signifikanten Veränderungen über die Untersuchungszeit und auch nicht in Bezug auf das VAS. Es kommen dafür unterschiedliche Ursachen in Frage. Möglicherweise gibt es Reaktionen des Fetus, die anhand der HF und HFV nicht detektierbar sind. Des Weiteren könnte das Signal nicht stark genug gewesen sein, um an den Fetus zu gelangen beziehungsweise könnte ein anderes Diagnostikum wie zum Beispiel eine sonographische Untersuchung im Anschluss an das Signal zielführender sein. Für weitere Studien zur Untersuchung der Reaktion von Pferdefeten auf vibroakustische Signale wären Stärke, Dauer und Frequenz so anzupassen, dass der Fetus diese mit Sicherheit wahrnehmen kann. Weiters wäre die Untersuchung des Zeitpunktes des Erlangens der Hörfähigkeit des Pferdefetus von Interesse.

## 5.1 Summary

In human medicine as well as in veterinary medicine, diagnostic tools for prenatal medicine are continually developing. Doctors are provided with non-invasive and invasive diagnostic tools including the whole range from ultrasound to amniocentesis. Considering the ever growing emotional and also financial value of pets, specifically regarding horses in this thesis, veterinary medicine is constantly searching for diagnostic tools to provide significant statements as early as possible during pregnancies. While orientating towards humane medicine, anatomical limitations have to be taken into consideration in horses. Possible variations in heart rate (HR) and heart rate variability (HRV) of horse fetuses before and after vibroacoustic stimulation as a non-invasive diagnostical tool were analysed in this experiment.

ECGs were performed in thirteen warmblood mares with physiological singleton pregnancies. They were conducted once a week, starting three weeks before parturition. The ECGs were generated by the Televet 100 ECG device and were connected to laptops. In each ECG the four minutes before the vibroacoustic signal (VAS), the 20 seconds during the VAS and the four minutes following the VAS were analyzed. The interval of the 20 seconds was integrated to the beginning of the second interval of the four Minutes. Heart rate and HRV did neither show any significant changes over time nor in response to the signal. Different causes can be taken into consideration for the missing significance of the results. It is possible that fetuses react in a way that does not affect HR and HRV and is not reflected by a change of HR and HRV. Furthermore, the signal might not have been selected adequately, in order to penetrate through tissues and fluids and to approach the fetus. Moreover, perhaps a different diagnostic tool, for example ultrasound, could be more helpful to detect possible reactions of the fetus. For further investigations concerning the reaction of horse fetuses to VAS, intensity, duration and frequency of the signal would have to be reevaluated and it would have to be ensured that the signal can physically approach the fetus. Additionally the timing of the gain of the hearing ability in horse fetuses would be of great interest.

## 6. Literaturverzeichnis

Baska-Vincz B, Baska F, Szeni O. Transabdominal ultrasonographic evaluation of fetal well-being in the late-term mare and cow. *Acta Vet Hung* 2014;62:439-451.

[https://doi: 10.1556/AVet.2014.018](https://doi.org/10.1556/AVet.2014.018).

Bocking AD. Assessment of fetal heart rate and fetal movements in detecting oxygen deprivation in-utero. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;110(Suppl 1):108-112.

[https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(03\)00180-5](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(03)00180-5).

Bucca S, Fogarty U, Collins A, Small V. Assessment of feto-placental well-being in the mare from mid-gestation to term: transrectal and transabdominal ultrasonographic features. *Theriogenology* 2005;64:542-557.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.011>.

Deshpande H, Madkar C, Dahiya P. A study of correlation of individual biophysical variables and vibroacoustic stimulation with perinatal outcome. *Int J Pharm Biomed Sci* 2012;3:233-237. <http://dx.doi.org/10.21088/ijog.2321.1636.4316.5>.

Fitzgerald AM, Ryan DP, Berry DP. Factors associated with the differential in actual gestational age and gestational age predicted from transrectal ultrasonography in pregnant dairy cows. *Theriogenology* 2015;84:358-364.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.023>.

Ginther O. *Reproductive Biology of the Mare - Basic and Applied Aspects*, 2nd edition, Cross Plains: Equiservices; 1992. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(80\)90119-3](https://doi.org/10.1016/0093-691x(80)90119-3).

Graven SN, Browne JV. Auditory development in the fetus and infant. *Newborn Inf Nursing Rev* 2008;8:187-193. <https://doi.org/10.1053/j.nainr.2008.10.010>.

Hepper PG, Shahidullah BS. Development of fetal hearing. *Arch Dis Child* 1994;71:8187. <https://doi.org/10.1136/fn.71.2.f81>.

Houzé de l'Aulnoit A, Génin M, Boudet S, Demailly R, Ternynck C, Babykina G, Houzé de l'Aulnoit D, Beuscart R. Use of automated fetal heart rate analysis to identify risk factors for umbilical cord acidosis at birth. *Comput Biol Med* 2019;115:103525. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2019.103525>.

Kähn W. Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction. *Anim Reprod Sci* 1992;28:1-10. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90085-R](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90085-R).

Kromka-szydek M, Dziechciowski Z, Tyrpin P. Preliminary assessment of vibration impacts generated by the public transport systems on pregnant women based on subjective reactions. *Acta Bioeng Biomech* 2018;20, <https://doi.org/10.5277/ABB-00974-2017-03>.

Lopez-Teijon M, Garcia-Faura A, Prats-Galino A. Fetal facial expression in response to intravaginal music emission. *Ultrasound* 2015;23:216-223. <https://doi.org/10.1177/1742271X15609367>.

Manning FA. Fetal biophysical profile: a critical appraisal. *Clin Obstet Gynecol* 2002;45:975-985. <https://doi.org/10.1097/00003081-200212000-00004>.

Makino I, Matsuda Y, Yoneyama M, Hirasawa K, Takagi K, Ohta H, Konishi Y. Effect of Maternal Stress on Fetal Heart Rate Assessed by Vibroacoustic Stimulation. *J Int Med Res* 2009;37:1780-1788. <https://doi.org/10.1177/147323000903700614>.

Nagel C, Aurich J, Aurich C. Determination of heart rate and heart rate variability in the equine fetus by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology* 2010;73:973-983. <https://doi:10.1016/j.theriogenology.2009.11.026>.

Nagel C, Aurich J, Aurich C. Heart rate and heart rate variability in the pregnant mare and its foetus. *Reprod Dom Anim* 2011a;46:990-993. <https://doi:10.1111/j.1439-0531.2011.01772.x>.

Nagel C, Aurich J, Palm F, Aurich C. Heart rate and heart rate variability in pregnant Warmblood and Shetland mares as well as their fetuses. *Anim Reprod Sci* 2011b;127:183-187. <https://doi:10.1016/j.anireprosci.2011.07.021>.

Nagel C, Erber R, Ille N, von Lewinskia M, Aurich J, Möstl E, Aurich C. Parturition in horses is dominated by parasympathetic activity of the autonomous nervous system. *Theriogenology* 2014;82:160-168. <https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.03.015>.

Ogo K, Kanenishi K, Mori N, AboEllail M, Hata T. Change in fetal behavior in response to vibroacoustic stimulation. *J Perinat Med* 2019;47:558-563. <https://doi.org/10.1515/jpm-2018-0344>.

Petrović O, Finderle A, Prodan M, Škunca E, Prpić I, Zaputović S. Combination of vibroacoustic stimulation and acute variables of mFBP as a simple assessment method of low-risk fetuses. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2009;22:152-156. <https://doi.org/10.1080/14767050802616960>.

Reef VB, Vaala WE, Worth LT, Sertich PA, Spencer PA. Ultrasonographic assessment of fetal well-being during late gestation: development of an equine biophysical profile. *Equine Vet J* 1996;28:200-208. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1996.tb03773.x>.

Sohmer H, Perez R, Sichel JY, Priner R, Freeman S. The pathway enabling external sounds to reach and excite the fetal inner ear. *Audiol Neurootol* 2001;6:109-116. <https://doi.org/10.1159/000046817>.

Trenk L, Kuhl J, Aurich J, Aurich C, Nagel C. Heart rate and heart rate variability in pregnant dairy cows and their fetuses determined by fetomaternal electrocardiography. *Theriogenology* 2015;84:1405-1410. <https://doi:10.1016/j.theriogenology.2015.07.027>.

Von Borell E, Langbein J, Despres G, Hansen S, Leterrier C, Marchand Forde J, Marchand-Fonde R, Minero M, Mohr E, Prunier A, Valance D, Veissier I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals—a review. *Physiol Behav* 2007;92:293-316. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.01.007>.