

Aus der
Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Sonographische Graustufenanalyse des Uterus vom Schwein im Verlauf des Zyklus und der
frühen Trächtigkeit

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Bent von dem Bussche-Hünnefeld
aus Hameln

Leipzig, 2007

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Karsten Fehlhaber

Betreuer: Prof. Dr. Axel Sobiraj
Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Gutachter: Prof. Dr. Axel Sobiraj
Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Werner Zimmermann
Departement für klinische Veterinärmedizin
Universität Bern

Dr. Wolfgang Zarembo
Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere
mit Tierärztlicher Ambulanz
Fachbereich Veterinärmedizin, Justus-Liebig-Universität Giessen

Tag der Verteidigung: 06.11.2007

Meinen Eltern

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1	Grundlagen des Ultraschalls.....	2
2.2	Die Graustufenanalyse (GSA).....	6
2.2.1	Grundlagen	6
2.2.2	Signalverarbeitung im Ultraschallgerät.....	8
2.2.3	Stand der Technik und Anwendungsbeispiele der Graustufenanalyse in der Sonographie.....	9
2.2.3.1	Humanmedizin	9
2.2.3.2	Veterinärmedizin	10
2.3	Estrogen- und Progesteronkonzentrationen im Plasma von Sauen.....	11
2.3.1	Estrogen- und Progesteronkonzentrationen im Zyklus	11
2.3.1.1	Estrogen.....	11
2.3.1.2	Progesteron.....	11
2.3.2	Estrogen- und Progesteronkonzentrationen während der frühen Trächtigkeit.....	12
2.3.2.1	Estrogen.....	12
2.3.2.2	Progesteron.....	12
2.4	Anatomischer und histologischer Aufbau des Uterus	13
2.4.1	Die makroskopische Anatomie des Uterus	13
2.4.2	Die mikroskopische Anatomie des Uterus	14
2.5	Veränderungen des Uterus während des Zyklus und in der frühen Trächtigkeit.....	15
2.5.1	Der uterine Zyklus.....	15
2.5.2	Der Uterus in der frühen Trächtigkeit.....	16
2.6	Die Darstellung des Uterus im sonographischen Bild	19
2.6.1	Sonographisches Bild des ingraviden Uterus beim Schwein.....	19
2.6.2	Sonographisches Bild des graviden Uterus beim Schwein	20
2.7	Verfahren zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein	20
2.7.1.1	Nachweis von Progesteron	22
2.7.1.2	Nachweis von Estronsulfat.....	22
2.7.1.3	Nachweis des „early pregnancy factors“ (EPF).....	23
2.7.2	Umrauscherkontrolle.....	23
2.7.3	Rektale Untersuchung	24
2.7.4	Ultraschallverfahren	24
2.7.4.1	A-Mode-Verfahren (Sonographie).....	24
2.7.4.2	Doppler-Verfahren (Sonographie)	25
2.7.4.3	B-Mode-Verfahren (Sonographie)	25
3	TIERE, MATERIAL UND METHODEN	27
3.1	Tiermaterial und Versuchsdurchgänge.....	27
3.1.1	Vorversuch zur Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse	27
3.1.2	Vorversuch zum Einfluss von wiederholt auf die Haut aufgetragenem Kontaktgel auf die Graustufenanalyse	27
3.1.3	Versuchsdurchgang 1	28
3.1.4	Versuchsdurchgang 2	30
3.1.5	Versuchsdurchgang 3	30
3.1.6	Versuchsdurchgang 4	31
3.1.7	Versuchsdurchgang 5	31
3.1.8	Trächtigkeitsuntersuchung der besamten Sauen aller Versuchsdurchgänge.....	31

3.2	Sonographische Untersuchung.....	32
3.2.1	Ultraschallgerät und verwendete Einstellungen.....	32
3.2.2	Untersuchungsprozedur.....	33
3.2.3	Auswertung der Uterusquerschnitte mittels geräteinterner Histogramm-Funktion (GSA-Einheit).....	35
3.2.4	Archivierung der B-Mode-Standbilder.....	37
3.2.5	Subjektive Beurteilung der Echogenität der Uterusquerschnitte.....	37
3.3	Bestimmung von Progesteron und Estradiol-17 β im Blutplasma.....	37
3.3.1	Bestimmung von Progesteron.....	37
3.3.2	Bestimmung von Estradiol-17 β	38
3.4	Statistische Auswertung.....	39
4	ERGEBNISSE.....	41
4.1	Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse und Einfluss des Kontaktgels auf die Graustufenanalyse.....	41
4.1.1	Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse.....	41
4.1.2	Einfluss von wiederholt auf die Haut aufgetragenem Kontaktgel auf die Graustufenanalyse.....	41
4.2	Ergebnisse des Versuchsdurchgangs 1.....	41
4.2.1	Ergebnisse der Graustufenanalyse während des Zyklus bei reinrassigen Jungsauen.....	41
4.2.2	Ergebnisse der Graustufenanalyse während der frühen Trächtigkeit bei reinrassigen Jungsauen.....	42
4.2.3	Ergebnisse der subjektiven Einschätzung der Echogenität.....	43
4.2.4	Ergebnisse der Flächenmessung der Uterusquerschnitte während des Zyklus und während der frühen Trächtigkeit bei Jungsauen.....	44
4.2.5	Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Graustufenanalyse, den Blutplasmakonzentrationen des Estradiol-17 β und Progesteron sowie der Flächenmessung.....	46
4.2.6	Sonderfälle.....	47
4.3	Ergebnisse der Versuchsdurchgänge 2-4.....	48
4.3.1	Ergebnisse der Graustufenanalyse bei gekreuzten und reinrassigen Jungsauen an ausgewählten Tagen des Sexualzyklus bzw. der Trächtigkeit.....	48
4.3.2	Ergebnisse der Graustufenanalyse bei reinrassigen Altsauen an ausgewählten Tagen der Trächtigkeit.....	49
4.4	Ergebnisse der Graustufenanalyse bei Jung- und Altsauen am Tag 12 der Trächtigkeit.....	50
4.5	Sonstige Anzeichen einer frühen Gravidität.....	52
5	DISKUSSION.....	54
5.1	Methodische Überlegungen.....	54
5.1.1	Einfluss der Untersuchungsprozedur auf die Darstellbarkeit des Uterus und Bemessung der Anzahl der ROI's.....	54
5.1.2	Einfluss des Untersuchers auf die Größe der ROI's und deren errechnete Echogenität.....	56
5.1.3	Vergleichbarkeit der Tiere, Ovulationszeitpunkt.....	56
5.2	Ergebnisse der sonographischen Untersuchung zyklischer und tragender Sauen.....	57
5.3	Subjektive Einschätzung der Echogenität.....	61
5.4	Einfluss verschiedener Faktoren auf die Ergebnisse der uterinen Graustufenanalyse.....	62
5.5	Möglichkeit einer Trächtigkeitsdiagnose an Tag 12 post ovulationem.....	62
5.6	Frühester Nachweis von Flüssigkeit im Uterus tragender Sauen.....	64
5.7	Schlussfolgerungen.....	65

6	ZUSAMMENFASSUNG	66
7	SUMMARY.....	68
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	70
9	ANHANG.....	86
10	DANKSAGUNG.....	89

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

\bar{x}	Mittelwert
λ	Wellenlänge
ρ	Dichte
μs	Mikrosekunde
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
A.	Arterie/Arteria
Abb.	Abbildung
AS	Altsau
AUC	Area Under the Curve
Bit	Binary digit
B-Mode	Brightness Mode
bzw.	beziehungsweise
ca.	cirka
cm	Zentimeter
dB	Dezibel
DE	Deutsches Edelschwein
DE/DL	Kreuzung DE/DL
DGC	Depth gain compensation
DL	Deutsches Landrasse
eCG	Equines Chorion-Gonadotropin
f	Frequenz
g	Erdanziehungskraft
GSA	Graustufenanalyse
h	Stunde
hCG	Human Chorion-Gonadotropin
Hz	Hertz
IE	Internationale Einheiten
i.m.	Intramuskulär
JS	Jungsau
KB ₁	Künstliche Besamung 1
KB ₂	Künstliche Besamung 2
kg	Kilogramm
nm	Nanometer

m	Meter
MHz	Megahertz
mm	Millimeter
n	Anzahl
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p. o.	post ovulationem
PI	Piétrain
PMSG	Pregnant mare serum gonadotropin
RF	Radio Frequenz
RIT	Rosetten-Inhibitionstest
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROI	Region of Interest
s	Sekunde
\bar{s}_x	Standardfehler
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung
t	Zeit
T	Periodendauer
Tab.	Tabelle
TGC	Time gain compensation
μ l	Mikroliter
UPM	Umdrehungen pro Minute
v	Schallgeschwindigkeit
v.	Vena
z	Akustische Impedanz

1 EINLEITUNG

Der bildgebende Ultraschall findet beim Schwein bis auf Ausnahmen nur in der gynäkologischen Diagnostik Anwendung (HEINRITZI und BEISL 1995). Quellen mit täglichen, während des gesamten Zyklus bzw. der frühen Trächtigkeit durchgeführten Untersuchungen, die etwas über Fläche und Echogenität des Uterus aussagen, fehlen. In Arbeiten, welche sich mit der Echogenität des Uterus befassen, wird die Echogenität des Uterus durch den Untersucher subjektiv beurteilt.

Sonographische Trächtigkeitsdiagnosen im B-Mode-Verfahren basierten bisher ausschließlich auf dem Nachweis von Fruchtwasser und/oder Fruchtschnitten (FRAUNHOLZ et al. 1989). Da im Endometrium des Schweines während des Zyklus (LIEBICH 1993) und während der frühen Trächtigkeit (SMOLLICH und MICHEL 1992) histologische Veränderungen auftreten und sich histologische Veränderungen eines Organs im Ultraschall darstellen lassen können (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993), liegt es nahe, eine objektivierbare sonographische Untersuchung des Uterus während des Zyklus und in der frühen Trächtigkeit durchzuführen. Das Verfahren der Graustufenanalyse wird schon in vielen Bereichen der Humanmedizin zur Objektivierung von sonographischen Befunden und als Hilfsmittel der Diagnosefindung herangezogen (BLECK et al. 2000). Auch in der Tiermedizin existieren schon erste Arbeiten. Speziell auf dem Gebiet der Gynäkologie konnten mittels Graustufenanalyse objektive sonographische Veränderungen der Echogenität des Endometriums bei Rind (SCHMAUDER 2003) und Pferd (LORBER 1999) während des Zyklus beobachtet werden. Ziel der Arbeit war es, in Verlaufsuntersuchungen erstmalig objektive sonographische Daten des Schweineuterus während des Zyklus und während der frühen Trächtigkeit zu sammeln, und zu überprüfen, ob sich diese Daten für eine sehr frühe Trächtigkeitsanalyse unter Verzicht des Nachweises von Fruchtwasser und Fruchtschnitten eignen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Grundlagen des Ultraschalls

Als Ultraschall werden mechanische Dichtewellen bezeichnet, deren Frequenzen sich oberhalb der menschlichen Hörschwelle von ca. 20.000 Hz (1 Hz = 1 Schwingung/s) befinden (SEIBT 1992, KIEFER und KIEFER 2003). Erzeugt werden diese Dichtewellen von Kristallen mit polarer Achse (Piezomaterialien), welche die Eigenschaft besitzen, sich in einem elektrischen Feld zu verformen (Elektrostriktion) bzw. ein elektrisches Feld zu erzeugen, wenn sie von Dichtewellen getroffen und mechanisch deformiert werden („piezoelektronischer Effekt“; GERTHSEN 1999). Die Fortleitung des Schalls, der sich in Form von Longitudinalwellen ausbreitet, ist an Materie gebunden. Die Geschwindigkeit, mit welcher sich der Schall im Medium ausbreitet (Geschwindigkeit, mit welcher die Echos ein Gewebe „durchlaufen“), hängt von dessen Dichte und Elastizität ab (FRITSCH und GERWING 1993). Jedes Gewebe lässt sich also durch seine akustischen Eigenschaften charakterisieren, die sich aus der Schallgeschwindigkeit (v) im Medium und Dichte (ρ) des Mediums ergeben. Das Produkt aus Dichte und Schallgeschwindigkeit ($\rho \times v = z$) ist als akustische Impedanz (z) definiert (GLADISCH 1992). Treten zwischen verschiedenen oder innerhalb von Geweben Impedanzunterschiede auf, so verhält sich die „Trennlinie“ dazwischen als akustische Grenzfläche, an welcher der Schall, je nach Größe des Impedanzunterschiedes, entweder vollständig oder teilweise reflektiert wird (GLADISCH 1993). Diagnostische Ultraschallgeräte arbeiten nach dem Impuls-Echo-Verfahren, wobei zunächst ein Ultraschallimpuls mit einer Dauer von ca. 0,8-1,5 μ s durch einen Piezokristall ausgesandt wird. Derselbe Kristall dient anschließend als Empfänger. Das Verhältnis von Sende- zu Empfangszeit beträgt dabei ca. 1:1000 (GLADISCH 1992). In einem Linear-Scanner, auch Parallel-Scanner genannt, liegen stets mehrere Kristalle nebeneinander (FRITSCH und GERWING 1993). Deren Anzahl beträgt in der Regel zwischen 64 und 256 (LORENZ und DELORME 2001). Bei einer angenommenen durchschnittlichen Schallgeschwindigkeit (v) von etwa 1.450 m/s können Ultraschallgeräte aus dem Zeitintervall (t) zwischen Aussendung und Rückkehr des Impulses berechnen, in welcher Entfernung (L) vom Kristall der Impuls reflektiert wurde ($t = 2 \times L / v$). Ferner kann anhand der Intensität des rückkehrenden Impulses auf die Größe des Impedanzunterschiedes im Gewebe und auf den Aufttrittswinkel der Schallwellen an der Reflexionsstelle geschlossen werden (GLADISCH 1993). Im sogenannten brightness-(B)-Mode-Verfahren wird aus dem Zeitintervall zwischen Aussendung und Empfang eines Impulses und der Stärke des rückkehrenden Impulses ein

Bild berechnet, das aus verschiedenen Pixeln (Picture Elements) besteht. Jedem Pixel auf dem Monitor des Ultraschallgerätes kann eine Koordinate (X/Y) und eine bestimmte Helligkeit zugeordnet werden. Stark vereinfacht ausgedrückt wird die Entfernung der akustischen Grenzfläche vom Schallkopf dabei auf der Y-Achse abgetragen. Die Zuordnung eines Echos zu einem bestimmten Kristall bzw. zu einer bestimmten Kristallgruppe erfolgt auf der X-Achse. Die Stärke des rückkehrenden Echos wird durch die Helligkeit, die so genannte Graustufe eines Bildpunktes wiedergegeben. Starke Echos werden durch ein helles Pixel, schwache durch ein dunkles Pixel dargestellt (STÜTZEL 1994). Beim B-Mode wird ein zweidimensionales Bild produziert. Die meisten Ultraschallgeräte arbeiten mit 8 bit/256 Graustufen, wobei dem Wert 0 die Graustufe Schwarz und dem Wert 255 die Graustufe Weiß zugeordnet wird (BADER et al. 1994). Besteht ein Bildausschnitt größtenteils aus Graustufen mit hohen Werten, bezeichnet man ihn als echoreich, umgekehrt als echoarm (STÜTZEL 1994). Da B-Mode-Ultraschallgeräte pro Sekunde mehrmals Ultraschallimpulse aussenden und empfangen (> 15 Bilder pro Sekunde), entsteht beim Bewegen des Schallkopfes ein bewegtes Bild, das als „real time ultrasonography“ bezeichnet wird (FRITSCH und GERWING 1993). Neben der schon beschriebenen Reflexion unterliegen die Ultraschallwellen wie in der Optik den Phänomenen der Absorption, Brechung und Streuung. Sie beeinflussen sich gegenseitig und sind wiederum von der Frequenz des Schalls abhängig (GERTHSEN 1999). Bei der internen Verarbeitung kalkulieren derzeitige Ultraschallgeräte mit einer konstanten Schallgeschwindigkeit von ca. 1.450 m/s, obwohl die Gewebe des menschlichen und tierischen Organismus in ihren akustischen Eigenschaften differieren (GLADISCH 1992; Tab. 1). Da sich der Schall in Form von Longitudinalwellen im Gewebe ausbreitet, entstehen vor dem Schallkopf bzw. dem Piezokristall Zonen mit höherer (Hochdruckzonen) und niedrigerer (Niederdruckzonen) molekularer Dichte. Die Schwingungsrichtung ist dabei immer parallel zur Ausbreitungsrichtung (GLADISCH 1993). Die Teilchen eines Stoffes leiten die Schwingungen weiter, so dass Schallwellen als Druckschwankungen in Materie ohne Materietransport zu betrachten sind (HARTEN 1997). Die Wellenlänge (λ) ist dabei als Abstand zwischen zwei Punkten einer Welle definiert, in dem der gleiche Schwingungszustand (d. h. die gleiche Phase) vorliegt. Der zeitliche Abstand zwischen diesen Punkten wird Periodendauer (T) genannt. Aus genannten Parametern und der Frequenz (f) lässt sich die Schallgeschwindigkeit errechnen ($v = \lambda / T = \lambda \times f$; GERTHSEN 1999). Die Schallgeschwindigkeit im Gewebe ist von dessen Struktur abhängig. Je dichter und unelastischer ein Gewebe ist, desto schneller breitet sich der Schall aus (GLADISCH 1992). Druck und Temperatur haben zwar ebenfalls einen Einfluss auf die

Schallgeschwindigkeit, sind für die medizinische Anwendung jedoch unerheblich und deshalb zu vernachlässigen (KIEFER und KIEFER 2003).

Tab. 1: Ausbreitungsgeschwindigkeit des Schalls in verschiedenen Medien (modifiziert nach GLADISCH 1992)

Medium	Schallgeschwindigkeit (m/s)
Luft	330
Wasser (20 °C)	1.480
Knochen	4.000
Fett	1.450
Muskel	1.580
Leber	1.550

Den Mindestabstand zwischen zwei Objekten, bei dem diese noch als separate Objekte zu erkennen sind, bestimmt das Auflösungsvermögen (KUCHLING 1972). Frequenz und Länge des Schallimpulses bestimmen die axiale Auflösung, d. h. den minimalen Abstand zweier Punkte, die in Richtung des Schallstrahles hintereinander liegen und gerade noch voneinander zu differenzieren sind (GLADISCH 1992). Die axiale Auflösung wird durch die Längenausdehnung des Ultraschallimpulses im Gewebe bestimmt: Je höher die Frequenz, desto schneller ist die Schwingung und kürzer der Ultraschallimpuls sowie die Längenausdehnung. Da ein ausgesandter Schallimpuls nur dann zwei aufeinanderfolgende Grenzflächen getrennt voneinander darstellen kann, wenn die reflektierten Echos zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt zum Schallkopf zurückkehren, darf die räumliche axiale Ausdehnung des Sendeimpulses im Gewebe also maximal doppelt so lang sein wie die Strecke zwischen den zu unterscheidenden Grenzflächen (LORENZ und DELORME 2001). Angaben zur axialen Auflösung in Abhängigkeit von der Frequenz sind Tabelle 2 zu entnehmen.

In Ultraschallgeräten werden in der Regel nicht einzelne Kristalle, sondern immer mehrere nebeneinanderliegende Kristalle, sogenannte Kristallgruppen gleichzeitig aktiviert. Eine durch das Gerät aktivierte Kristallgruppe bildet eine Schallkeule, die je nach Anzahl der gleichzeitig aktivierten Kristalle verschieden breit ist. Die Breite der Schallkeule beeinflusst das Auflösungsvermögen zweier Punkte, die im rechten Winkel zu der Longitudinalwelle liegen (laterales Auflösungsvermögen; siehe Tab. 2). Es ist umso größer, je geringer die Abstände

der gleichzeitig aktivierten Kristallgruppen und je größer die Überlappungen der nacheinander aktivierten Kristallgruppen sind (LORENZ und DELORME 2001). Das Auflösungsvermögen ist weiterhin von der Lage des Fokus (der geringsten lateralen Ausdehnung der Schallkeule) abhängig. Es nimmt mit der Entfernung vom Fokus ab. Letztlich ist auch der Schallkopf selbst nicht unbedeutend. Bei Linear-Scannern stehen die Kristalle senkrecht zur Schallausbreitung. Dadurch breiten sich die ausgesandten Impulse parallel zueinander aus, so dass das zu untersuchende Objekt unverzerrt wiedergegeben wird. Bei Konvex- oder Sektorschallköpfen breiten sich die Schallwellen divergierend aus, so dass Objekte verzerrt und schallkopffern mit geringerer lateraler Auflösung dargestellt werden (LORENZ und DELORME 2001).

Tab. 2: Auflösungsvermögen in Abhängigkeit zur Frequenz (STEIN und MARTIN 1994)

Frequenz (MHz)	Auflösung (mm)	
	axial ¹	lateral ²
3,5	1	2
5	0,6	1,2
7,5	0,4	0,8
10	0,3	0,6

¹in Richtung der Schallausbreitung; ²senkrecht zur Schallausbreitung

Neben dem Auflösungsvermögen beeinflusst die Dämpfung die Bildqualität. Als Dämpfung wird die kontinuierliche Abschwächung der Schallintensität bezeichnet, die bei der axialen Ausdehnung des Schalls im Medium auftritt. Je tiefer ein Gewebe im Körperinneren liegt, desto geringer ist das Echo, das vom Gewebe reflektiert wird. Die Dämpfung ist bei höheren Frequenzen größer als bei niedrigen. Die Dämpfung wird durch die Halbwertsschicht definiert. Letztere bezeichnet die Wegstrecke, auf der die Schallintensität auf die Hälfte ihres Ursprungswertes reduziert wird (GLADISCH 1992; Tab. 3).

Tab. 3: Dämpfung des Schalls und Halbwertsschicht in verschiedenen Medien (GLADISCH 1993)

Gewebe	Dämpfung bei 1 MHz (dB/cm)	Halbwertsschicht bei 1 MHz (cm)
Fett	0,35-0,7	ca. 3
Muskel	1,5-3	ca. 2
Leber	0,95	ca. 5
Niere	1,1	ca. 4
Knochen	12	ca. 0,2

Um vergleichbare Impedanzunterschiede aus verschiedenen Tiefen eines Gewebes identisch darstellen zu können, führt das Gerät eine laufzeitabhängige Signalverstärkung durch, die auch als „depth-/time gain compensation (DGC/TGC)“ bezeichnet wird. Je länger die Laufzeit des Echos ist, desto mehr wird es verstärkt. Die Dämpfung ist also der limitierende Faktor für die maximale Eindringtiefe, die wiederum von der Frequenz abhängig ist (LORENZ und DELORME 2001; Tab. 3).

2.2 Die Graustufenanalyse (GSA)

2.2.1 Grundlagen

Wie oben erläutert, diktiert die Struktur eines Gewebes seine akustischen Eigenschaften: Die Intensität eines Echos wird dabei von den Impedanzunterschieden im Gewebe bestimmt und durch Graustufen wiedergespiegelt (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993).

Die Wiedergabequalität von Sonographiebildern liegt heute in einem Bereich, den der menschliche Betrachter nicht mehr im Detail verarbeiten kann (GEBEL et al. 1984, LIEBACK-ZIMMERMANN 1993). Da das menschliche Auge nur 20-30 Graustufen voneinander unterscheiden kann, die meisten Ultraschallgeräte aber 256 Graustufen auf dem Monitor darstellen, entsteht ein Informationsverlust beim Betrachten der Ultraschallbilder (ZINK 1996). Die Betrachtung ein und desselben Ultraschallbildes durch verschiedene Personen unter dem Kriterium der Echogenität kann durch die unterschiedliche subjektive Wahrnehmung zu verschiedenen Diagnosen führen. Sie treten auch deshalb auf, weil die Echogenität bei verschiedenen Untersuchern einen sehr unterschiedlichen Stellenwert hat. Ursache dafür ist sicher, dass die Echogenität nur bedingt quantifizierbar ist (RÄTH et al. 1984). Partielle Abhilfe schafft die Graustufenanalyse, bei der zunächst ein Ultraschall-Standbild erzeugt wird. Das Bild wird dann durch eine im Gerät implementierte Software

analysiert (BLECK et al. 2000). Alternativ kann das Bild digitalisiert und auf einem externen Computer ausgewertet werden (ZUNA 1991). Da immer bestimmte (Teil-) Strukturen des Ultraschallbildes von Interesse sind, die zu analysieren sind, wird eine „Region Of Interest“ (ROI) markiert (ZIELKE et al. 1985). Prinzipiell kann die ROI mit verschiedenen Methoden ausgewertet werden. Bei Graustufenanalysen der ersten Ordnung wird die Häufigkeitsverteilung bestimmter Graustufen anhand von Tabellen und/oder eines Histogrammes als Grundlage der Grauwertstatistik erster Ordnung dargestellt. Das Histogramm ist eine Graphik, die auf der X-Achse die verschiedenen Graustufen und auf der Y-Achse die Häufigkeiten der Graustufen wiedergibt (BLECK et al. 2000). Anhand dieser Auswertung ist eine Aussage über die Verteilung der Häufigkeiten der verschiedenen Graustufen in der ROI möglich. Der räumliche Bezug zwischen den einzelnen Pixeln wird dabei nicht wiedergegeben. Zwei Ultraschallbilder mit identischen Histogrammen müssen also nicht zwingend ein gleiches Aussehen besitzen (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993, HERMES 1997; Abb. 1). Aus dem Histogramm lassen sich zudem Bildhelligkeit, Streuung, Schiefe, Wölbung und Spannweite des Grauwertspektrums sowie die Quantile extrahieren (BLECK et al. 2000). Die im Rahmen der Graustufenanalyse bestimmbaren Parameter sind nicht gleichermaßen aussagekräftig. Zur Beantwortung individueller Fragen sind die jeweils richtigen Parameter bzw. die richtige Kombination der Parameter zu wählen (ZUNA et al. 1984, ENG et al. 2002). Generell ist die Bildtextur eines Gewebes eine reichhaltige Quelle an Informationen und ein Schlüssel zum Verständnis von Bildern (TOURASSI 1999).

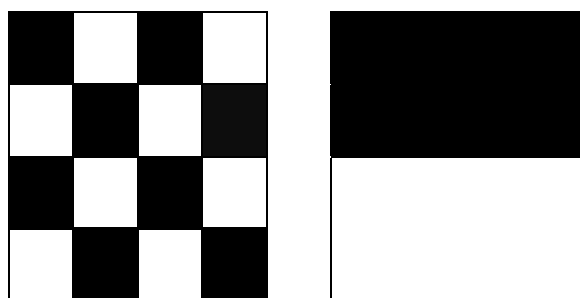


Abb. 1: Zwei unterschiedliche Schwarz-Weiß-Bilder mit identischem Histogramm (modifiziert nach LIEBACK-ZIMMERMANN 1993)

Neben der Grauwertstatistik der ersten Ordnung gibt es weitere Verfahrenen zur Bildanalyse. Dazu zählen die Gradientenstatistik der ersten Ordnung, Statistiken aus der Grauwertabhängigkeitsmatrix und Verlaufslängenstatistiken. Allen gemein ist, dass sie Informationen über die mikrostrukturelle Anordnung der Bildtextur, die Häufigkeitsverteilung

von Grauwertkombinationen in der Region und über die Mikro- sowie Makrostruktur liefern (ZUNA 1991).

2.2.2 Signalverarbeitung im Ultraschallgerät

Neben der Struktur des zu untersuchenden Gewebes hat die Signalverarbeitung im Ultraschallgerät einen entscheidenden Einfluss auf die Graustufenverteilung im Ultraschallbild. Durch die Veränderung nur einer Variablen bei der Bildentstehung können die Ergebnisse der Graustufenanalyse ein und desselben Gewebes variieren. Vor diesem Hintergrund erscheint es angebracht, die Signalverarbeitung im Gerät in wesentlichen Punkten zu besprechen: Die aus dem Gewebe zurückkehrenden Ultraschallechos werden von den Piezoelementen des Schallkopfes in elektrische Energie umgewandelt. Dabei entsteht ein primäres Radio-Frequenz-Signal (RF-Signal), das vom Gerät verstärkt wird. Um eine spätere Digitalisierung zu ermöglichen, muss dieses Signal zunächst logarithmisch komprimiert werden. Die logarithmische Kompression kann durch die Veränderung des Dynamikbereiches (angegeben in Dezibel) am Gerät beeinflusst werden. Dabei werden sowohl Minimal- als auch Maximalwerte der Signale festgelegt, die vom Ultraschallgerät zur Bildverarbeitung zu nutzen sind. Bei der logarithmischen Kompression werden stärkere Echos mehr als schwache komprimiert, so dass stärkere Echos später in weniger Grauwerte umgewandelt werden als schwache. Um die Abschwächung der Echos mit längerer Laufzeit auszugleichen, erfolgt die „Time Gain Compensation“ (siehe oben), deren Intensität am Gerät einstellbar ist. Bei einigen Geräten existiert zusätzlich eine „Swept Time Compensation“, die eine Verstärkung in Abhängigkeit von der Ortungstiefe (Abstand des Objektes vom Schallkopf) zulässt. Ferner gibt es die Möglichkeit der Enhancementeinstellung, womit der Kontrast, aber auch die Homogenität des späteren Bildes verändert werden können. Alle bisher genannten Möglichkeiten der Einflussnahme auf die Signalverarbeitung gehören zum „Pre-Processing“, also zur Signalvorverarbeitung vor der Digitalisierung der Daten. Ist das RF-Signal gleichgerichtet und durch einen Analog-Digital-Wandler digitalisiert, wird es am Bildschirm dargestellt. Alle weiteren Prozesse, die zu einer Veränderung des Bildes führen, werden als „Post-Processing“ bezeichnet. Dazu zählen die Reject-Einstellung und die Gammakorrektur. Die Reject-Einstellung bewirkt zum einen die Unterdrückung des Hintergrundrauschens, zum anderen die Auslöschung kleinster Echosignale. Mit Hilfe der Gammakorrektur kann man die Helligkeitswiedergabe des Bildschirms beeinflussen (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993). Wie resümiert, ist die Bildwiedergabe und -verarbeitung durch zahlreiche Variablen zu beeinflussen. Deshalb wird gefordert, zur fehlerfreien Durchführung einer Graustufenanalyse

eine standardisierte Geräteeinstellung (u. a. auch gleichbleibende Fokuszone) zu nutzen (GEBEL et al. 1984, WIESNER et al. 1984, ZIELKE et al. 1985, HESS et al. 1986, WILDGRUBE und DEHWALD 1990, ZUNA 1991, BADER et al. 1994, SCHIEMANN et al. 2003) und die ROI so zu wählen, dass sie sich in immer derselben Position befindet (GÄRTNER et al. 1998). Untersuchungen an Gewebephantomen bewiesen, dass die Bildwiedergabe ein und desselben Objektes allein durch Veränderung eines der oben genannten Parameter zu beeinflussen war (BLECK et al. 1997). Die Rejekt-Funktion war zu vernachlässigen (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993). Als eine der Konsequenzen ergibt sich, dass texturanalytische Daten, die mit verschiedenen Geräte- und Schallkopftypen generiert wurden, nicht kompromisslos zu vereinheitlichen sind (LORENZ et al. 1984, BLECK et al. 1997, BLECK et al. 2000). Derzeit sind Methoden in der Entwicklung, die das primäre RF-Signal nutzen, so dass auf fixe Geräteeinstellungen verzichtet werden kann und eine geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung zukünftig möglich erscheint (GÄRTNER et al. 1998). Als letztes soll darauf hingewiesen werden, dass auch die Güte der Ankopplung des Schallkopfes an die Haut und die Beschaffenheit des vor dem untersuchten Organ liegenden Gewebes Einfluss auf die Graustufenanalyse hat. Letzteres ist meist nicht hinreichend genau abzuschätzen (ZIELKE et al. 1985).

2.2.3 Stand der Technik und Anwendungsbeispiele der Graustufenanalyse in der Sonographie

2.2.3.1 Humanmedizin

In der Humanmedizin wird die Graustufenanalyse in vielen Bereichen der sonographischen Diagnostik als Hilfsmittel zur Diagnosefindung eingesetzt (BLECK et al. 2000). Die Analysemethoden reichen dabei von der Grauwertstatistik erster Ordnung bis zu aufwendigen und rechenintensivsten Verfahren. Im Folgenden sollen einige Anwendungsbeispiele der Graustufenanalyse in der Humanmedizin unter anderem auch deshalb dargestellt werden, um technische Aspekte dieses Verfahrens zu veranschaulichen. BECKER et al. (1989) wiesen signifikant niedrigere Graumittelwerte bei Autoimmunthyreopathien im Vergleich zu gesunden Schilddrüsen nach und führten dies auf lymphoplasmazelluläre Infiltrate zurück. Bei ihnen hatte die Größe der ROI keinen nennenswerten Einfluss auf den gemessenen Graumittelwert. Patienten mit einer Hashimoto-Thyreoiditis (ebenfalls einer Autoimmunthyreopathie) waren von Kontrollprobanden ohne derartige Erkrankung anhand des mittleren Grauwertes (1-30) zu differenzieren (SCHIEMANN et al. 2003).

In gastroenterologischen Studien wiesen Probanden unterschiedlichen Alters Bauchspeicheldrüsen mit unterschiedlicher Echogenität auf (KÖLBEL et al. 1987). Nach oraler Einnahme eines Medikamentes gegen Meteorismus veränderte sich die Echogenität des Pankreas (WILDGRUBE und DEHWALD 1990). Diffus geschädigtes Leberparenchym war von gesundem Lebergewebe mithilfe der Graustufenanalyse zu unterscheiden (RÄTH et al. 1984). GÄRTNER et al. (1998) konnten durch eine geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung die Befunde des sonographischen B-Bildes bei pathologischen Gewebeeränderungen an Hoden und Prostata objektivieren und die Aussagesicherheit des Ultraschalls erhöhen. Wurde die Graustufenanalyse im Rahmen der Mammographie verwendet, waren Karzinome von Adenomen und Mastopathien zu unterscheiden (BADER et al. 1994). Grauwertstatistiken der ersten Ordnung des Endometriums versagten bisher dabei, Fertilitätschancen vorherzusagen (PIERSON 2003). Da Entzündungen, bindegewebige Umbauprozesse und Proteinablagerungen an Gefäßen mithilfe der Graustufenanalyse quantitativ erfasst werden können, wurde diese Prozedur zur Beurteilung von Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantationen empfohlen (LIEBACK-ZIMMERMANN 1993).

2.2.3.2 Veterinärmedizin

In der Veterinärmedizin beschränkt sich der - momentan durchgehend nicht routinemäßige - Einsatz der Graustufenanalyse auf wenige Bereiche. Beispiele seien nachfolgend genannt: HERMES et al. (1997) konnten mit einer Graustufenanalyse erster Ordnung bei Rehen ab dem dritten Monat der embryonalen Diapause nachweisen, dass die Echogenität des Endometriums bei graviden Tieren signifikant niedriger war als bei nicht tragenden. Graustufenanalysen erster Ordnung wurden zur Untersuchung der Hoden von Rüden (HÖHNE 2002) und Bullen (GRAUE 2002) eingesetzt. So nahm die Echogenität des Hodengewebes von Bullenkälbern mit zunehmendem Alter zu, während die Graustufenanteile im Histogramm von Hoden maturer Bullen positiv mit deren geschlechtlicher Beanspruchung korrelierten. Grauwerte der Hoden von Rüden waren so variabel, dass keine Erarbeitung eines Grauwertes für bestimmte gewebliche Veränderungen am Hoden erfolgen konnte. SCHMAUDER (2003) wies mithilfe der Graustufenanalyse zyklus- und entzündungsbedingte Veränderungen am Endometrium des Rindes nach. Ähnliches gelang bei der Stute (LORBER 1999). SINGH et al. (1997) konnten in vitro durch quantitative Echotexturanalyse beobachten, dass sich der mittlere Grauwert von bovinen Gelbkörpern zyklusabhängig änderte. TOM et al. (1998) kamen zu gleichen Ergebnissen in vivo.

2.3 Estrogen- und Progesteronkonzentrationen im Plasma von Sauen

Die Architektur des Uterus unterliegt zyklischen Veränderungen, die hormonell gesteuert werden. Große Bedeutung kommt dabei den Steroiden Estradiol-17 β und Progesteron zu.

Estradiol-17 β ist das wirksamste natürliche Estrogen und steht mit Estron im chemischen Gleichgewicht, während Estriol vorwiegend während der Trächtigkeit gebildet wird. Die biologische Aktivität der Estrogene nimmt in der oben genannten Reihenfolge um jeweils etwa dem Faktor 3 ab (PSCHYREMBEL 1994).

2.3.1 Estrogen- und Progesteronkonzentrationen im Zyklus

2.3.1.1 Estrogen

Die zyklische Aktivität des Ovars beginnt bei den Haussäugetieren mit Eintritt der Geschlechtsreife. Sie ist gekennzeichnet durch das Heranwachsen von Primärfollikeln zu Tertiärfollikeln, die zu einem Teil über die präovulatorische Reifung die Ovulation erreichen oder aber degenerieren. Während des Proöstrus reifen ca. 15 bis 20 Tertiärfollikel zu präovulatorischen, so genannten Graaf'schen Follikeln heran. Die Follikelwand besteht u. a. aus einer zweischichtigen Theka folliculi, deren innere Schicht (Theka interna) die Fähigkeit zur Estrogenbildung aufweist (SCHNORR 1996).

Basale Plasmakonzentrationen von Estradiol-17 β sind von Tag 2 bis zu Tag 14 (dem letzten Tag der erhöhten Progesteronwerte, s. u.) zu messen (KNOX et al. 2003). Die Blutplasmakonzentrationen von Estradiol-17 β steigen im Verlauf des Proöstrus parallel zur Reifung der Tertiärfollikel (KAEOKET et al. 2001a) und erreichen um den 20. Zyklustag Maximalwerte (EDWARDS und FOXCROFT 1983, WILLIAMSON und HENNESY 1983, YAMADA et al. 1984), um noch während der Brunst abzufallen und im frühen Diöstrus basale Werte zu erreichen (KAEOKET et al. 2001a). Nach der Ovulation, die beim Schwein ca. 36-40 Stunden nach Einsetzen des Duldungsreflexes, also im letzten Drittel der Brunst erfolgt (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994), entsteht aus jedem ovulierten Follikel zunächst ein Corpus haemorrhagicum, dann der Gelbkörper (Corpus luteum). Er ist eine echte, temporär inkretorische Drüse und produziert Progesteron (SCHNORR 1996).

2.3.1.2 Progesteron

Anstieg und Abfall der Progesteronkonzentrationen im Blut sind morphologisch und funktionell mit der Gelbkörperbildung und -rückbildung korreliert (SCHNORR 1996), wobei die Gelbkörperphase beim Schwein am Zyklustag 3 beginnt, am Zyklustag 18 endet und sich

über die Zyklusphasen Metöstrus und Diöstrus erstreckt (ELZE 1985). Nach Abschluss der Ovulation sind aus den Graaf'schen Follikeln die Corpora haemorrhagica entstanden, wobei im Metöstrus die Luteinisierung der Wand der ovulierten Follikel beginnt (SCHNURRBUSCH et al. 1975) und sich die Corpora haemorrhagica bis zum 7. Zyklustag zu den Corpora lutea periodica profilerantia entwickeln (SCHNURRBUSCH et al. 1981). Die Progesteronkonzentration steigt im Blutplasma ab etwa dem dritten Zyklustag an, erreicht zwischen den Zyklustagen 11 und 14 Maximalwerte, um dann nach der Luteolyse innerhalb von 2 Tagen auf basale Werte abzufallen (KNOX et al. 2003), kann aber aufgrund von in Fettdepots gespeichertem und freigesetztem Progesteron noch 2 Tage länger aufrechterhalten werden (BAZER et al. 1984).

2.3.2 Estrogen- und Progesteronkonzentrationen während der frühen Trächtigkeit

2.3.2.1 Estrogen

Ab etwa dem 12. Tag der Trächtigkeit synthetisiert die Schweineblastozyste aus Progesteron die Estrogene Estron und Estradiol-17 β (FORD et al. 1982), welche beim Passieren der Uteruswand in Estronsulfat umgewandelt werden. Estronsulfat ist ab Tag 16 (ROBERTSON und KING 1974) im maternalen Blutplasma nachweisbar und steigt zwischen den Tagen 23 bzw. 24 und 30 vorübergehend auf Maximalwerte an (ROBERTSON und KING 1974, CHOI et al. 1986).

2.3.2.2 Progesteron

Kommt es zur Trächtigkeit, so bleiben die Gelbkörper als Corpora lutea graviditatis erhalten. Beim Schwein stellen die Gelbkörper die einzige Progesteronquelle während der Gravidität dar (SCHNORR 1996). BARATTA et al. (1997) konnten bei tragenden Sauen nach der Insemination einen Anstieg der Progesteronwerte beobachten, wobei maximale Konzentrationen an Progesteron während der Trächtigkeitstage 10-14 gemessen wurden. Ab dem 14. Trächtigkeitstag fallen die Progesteronwerte der Sauen ab, um ab Tag 21 einen Plateauwert zu erreichen, den sie bis Tag 28 halten. ROBERTSON und KING (1974) vermuteten, dass die Höhe des Progesteronwerte am 14. Trächtigkeitstag die Anzahl der Corpora lutea reflektiert, da in ihren Untersuchungen diejenige Sau mit der größten Anzahl lebend geborener Ferkel die höchsten Konzentrationen aufwies.

2.4 Anatomischer und histologischer Aufbau des Uterus

2.4.1 Die makroskopische Anatomie des Uterus

Der Uterus des Schweines kann in den Gebärmutterhals (Cervix uteri), den Uteruskörper (Corpus uteri) und die beiden Uterushörner (Cornua uteri) eingeteilt werden (LÖFFLER 1994; Abb. 2). Durch die Ausbildung von zwei Uterushörnern spricht man auch von einem Uterus bicornis (KÖNIG und LIEBICH 2002). Der Uterus des Schweines liegt fast vollständig in der Bauchhöhle und ist von dorsal den Schlingen des Darmkanales aufgelagert. Durch seine bewegliche Aufhängung kann er sich zwischen diese einschieben und die ventrale Bauchwand erreichen (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995). Die Uterushörner sind bei nichttragenden Tieren so beweglich, dass ihre Lage innerhalb der Bauchhöhle nicht exakt anzugeben ist (DYCE et al. 1997). Die Zervix uteri übernimmt die Aufgabe eines Schließmuskels und hat eine Länge von ca. 20 cm. Typisch für die Zervix des Schweines sind die als Pulvini cervicales bezeichneten starken Querwülste (SALOMON et al. 2004), die reißverschlussartig ineinander greifen und als Verschlussmechanismus anzusehen sind. Der Uteruskörper misst im Gegensatz zur Zervix nur etwa 5 cm. Ihm folgen kranial dünndarmschlingenähnlich gewundene, dickwandige, sehr lange Uterushörner, welche im ingravidem Zustand bei Altsauen eine Länge von bis zu 140 cm erreichen können. Durch seinen Aufhängeapparat, das Mesometrium (Ligamentum latum uteri), welches glatte Muskulatur enthält, wird der Uterus am dorsalen Teil der Seitenwand der Beckenhöhle bzw. der Lendengegend befestigt. Durch das Mesometrium finden Blutgefäße und Nerven Eintritt in das Organ. Die beiden Serosafalten des Mesometriums überziehen den Uterus als Perimetrium. Als Parametrium wird das subseröse Bindegewebe bezeichnet, welches die neben dem Uterus liegenden Blut- und Lymphgefäße sowie die Nerven einhüllt. Die Muskulatur des Mesometriums liefert die longitudinal verlaufende Uterusmuskulatur, das Stratum longitudinale (SCHUMMER und VOLLMERHAUS). Der Bau der Wandung des Uterus stellt sich von innen nach außen folgendermaßen dar: Das beim ruhenden Uterus zu engen Spalten zusammengefallene Lumen wird von der Uterusschleimhaut (Tunica mucosa, Endometrium) umgeben, welche der Muskelschicht (Tunica muscularis, Myometrium) direkt anliegt (Abb. 3). Diese glatte Muskulatur besteht aus einer sehr kräftigen zirkulären Lage, dem Stratum circulare und dem schon erwähnten, meist schwächeren Stratum longitudinale (MICHEL et al. 1986, SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995).

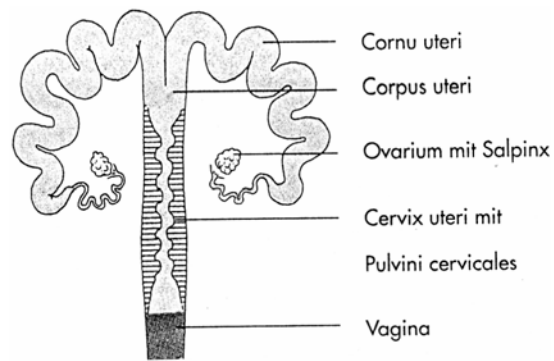


Abb. 2: Schematische Darstellung der weiblichen Geschlechtsorgane vom Schwein (NAJBRT und KAMAN 1982)

2.4.2 Die mikroskopische Anatomie des Uterus

Das Endometrium besteht aus dem Epithel und der darunterliegenden Lamina propria mucosae (Stroma endometrialis). Das Oberflächenepithel, dessen Zellen teilweise oberflächliche Kinozilien (Flimmerzellen), aber meist Mikrovilli (sezernierende Zellen) tragen, ist beim Schwein einschichtig hochprismatisch (Epithelium simplex columnare), stellenweise mehrreihig hochprismatisch (Epithelium pseudostratificatum columnare) (LEISER 1990, LIEBICH 1993). Die Lamina propria mucosae schließt im lymphoretikulären Bindegewebe, welches gut kapillarisiert ist, in großer Zahl tubulär verzweigte Einzeldrüsen (Glandulae uterinae) ein und weist einen hohen Grad an struktureller und funktioneller Anpassungsfähigkeit auf (SMOLLICH 1992). Die Tunica muscularis besteht aus glatten Muskelfasern mit einer zirkulär angeordneten inneren (Stratum musculare circulare) und einer longitudinal angeordneten äußeren Schicht (Stratum musculare longitudinale). Diesen ist eine Tela subserosa und eine Tunica serosa aufgelagert. Die Tunica serosa (Perimetrium) überzieht das Organ in Form eines einschichtigen Peritonealepithels (LIEBICH 1993; Abb. 3).

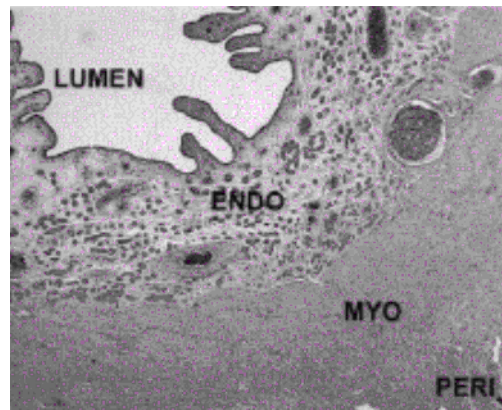


Abb. 3: Histologischer Querschnitt eines Uterus vom Schwein, 40-fache Vergrößerung, Hämatoxylin/Eosin Färbung (BLACKWELL et al. 2003); ENDO: Endometrium; MYO: Myometrium; PERI: Perimetrium

2.5 Veränderungen des Uterus während des Zyklus und in der frühen Trächtigkeit

Der Zyklus wird beim Schwein in die Phasen des Östrus, Metöstrus, Diöstrus I, Diöstrus II und den Proöstrus eingeteilt (SCHNURRBUSCH et al. 1975, SCHNURRBUSCH und ERICES 1979, ELZE 1985). Die Unterteilung des Diöstrus soll die unterschiedliche Funktionalität der Corpora lutea widerspiegeln, da man im Diöstrus I endokrin aktive und im Diöstrus II regressierende Gelbkörper auf dem Ovar findet. Die verschiedenen Phasen sind den Zyklustagen 1-2, 3-6, 7-12, 13-18 bzw. 19-21 zugeordnet (ELZE 1985). In den folgenden Kapiteln wird auf die physiologischen Veränderungen im Zyklus und in der Trächtigkeit nur insoweit eingegangen, wie es im Zusammenhang mit der hier bearbeiteten Fragestellung erforderlich erscheint.

2.5.1 Der uterine Zyklus

Sämtliche strukturellen Umbauvorgänge des Uterus, die unter dem Begriff des uterinen Zyklus zusammengefasst werden, unterliegen endokrinen Steuermechanismen. Phasen der Proliferation, Sekretion und der Involution reihen sich aneinander (LIEBICH 1993). Im Proöstrus unterliegt der Uterus unter Estrogeneinfluss Proliferationsvorgängen. Die Schleimhaut wird dicker und ödematisiert, das Oberflächenepithel wird höher. Zeitgleich beginnen die Uterindrüsen mit dem Wachstum (MICHEL et al. 1986, SCHNURRBUSCH et al. 1988, LEISER 1990, SCHNORR 1996). Die Schlauchdrüsen sind unter dem Einfluss von Estrogenen gestreckt (MEHLHORN et al. 1975, LIEBICH 1993) die Drüsenlumina verengt, die Anzahl der Epithelzellen vermehrt. Unter dem Einfluss von Estrogen schwillt das Gewebe durch die Aufnahme von Interzellularflüssigkeit vor der Ovulation an, die Schleimhaut nimmt

an Dicke zu (LIEBICH 1993). Während des Östrus zeigt das Oberflächenepithel eine holokrine Sekretion, die Uterusmuskulatur zeigt eine rege Motilität (SCHNORR 1996). Im Östrus und Diöstrus konnten KAEOKET et. al (2001a) die größte Oberfläche des Epithels nachweisen, die größte Anzahl von subepithelialen Kapillaren wurde von ihnen im Östrus gemessen. Durch das Zusammenspiel von Estrogenen und Progesteron wird die Uterusschleimhaut nach der Ovulation in die Sekretionsphase überführt (DÖCKE 1994). Dadurch wird die Uterusschleimhaut auf die Implantation der Embryonen sowie die nachfolgende Plazentation vorbereitet. Im Metöstrus vollzieht sich unter alleinigem Progesteroneinfluss an der Uterusschleimhaut der endgültige Übergang von der Proliferations- in die Sekretionsphase (SCHNORR 1996). Die Uterindrüsen weisen hier die stärkste Ausbildung, Schlängelung und Sekretion auf (SCHNURRBUSCH und ERICES 1979). Die Uteruskontraktionen werden eingestellt. Zum Zeitpunkt der Gelbkörperblüte (Diöstrus I) befindet sich die Uterusschleimhaut im Stadium der Sekretionsphase. Der Uterus ist zur Implantation der Blastozyste bereit (SCHNORR 1996). Findet keine Implantation statt, regressieren die Gelbkörper. Ein neuer Proöstrus beginnt. Der Uterus geht in die Proliferationsphase über (SMOLLICH 1992). KAEOKET et al. (2001a) fanden im zyklischen Geschehen des Uterus eine positive Korrelation des Plasmaprogesteronspiegels zur Höhe des Drüsenepithels und eine negative (Plasmaprogesteronspiegel) bzw. positive (Plasmaestradiol-17 β -Spiegel) Korrelation zur Anzahl der Kapillaren unter dem Oberflächenepithel. Die transversale Ausdehnung des Endometriums nimmt zwischen „mittlerem“ (Tag 12) und spätem Diöstrus (Tag 16) ab, während die des Myometriums zunimmt (BLACKWELL et al. 2003). Auch konnten signifikante Gewichtsunterschiede des Uterus im Verlaufe des Zyklus gefunden werden, wobei Maximalwerte im späten Diöstrus und Minimalwerte im frühen Diöstrus lagen. Das Gewicht nahm dann vom Proöstrus über den Östrus ab (KAEOKET et. al 2001a).

2.5.2 Der Uterus in der frühen Trächtigkeit

Die Gebärmutter dient der Embryonal- und Fetalentwicklung, wobei alle endometrialen Strukturkomponenten in die erforderlichen morphologischen Anpassungen während der Gravidität einbezogen sind. Erfolgt eine Konzeption, unterliegt der Uterus bis ca. zum 14. Tag post conceptionem gleichen strukturellen Veränderungen, wie die nichttragende Gebärmutter (SMOLLICH 1992).

Unter dem Einfluss des Progesterons verändert sich die Architektur des Endometriums (s. o.). Progesteron hemmt zudem die myometriale Motilität, da es wahrscheinlich zu einer

Verringerung des intrazellulären Calciums beiträgt. Durch die Verringerung des intrazellulären Calciums wird in der glatten Muskulatur die Bildung des Calcium-Calmodulin-Komplexes und dadurch die Phosphorylierung von Myosin und Actin unterbunden (WÄHNER 2003).

Nach der 46 bis 48 Stunden dauernden Eileiterpassage verlässt die Blastozyste den Eileiter und tritt in den Uterus ein (HUNTER 1974), wobei sich der Eintritt in den Uterus über einen Zeitraum von 24 Stunden erstrecken kann (OXENREIDER und DAY 1965).

An den Tagen 6-11 bzw. 7-12 post conceptionem wandert (migriert) die Blastozyste intrauterin (DHINSDA et al. 1967, POPE et al. 1982, DZUIK 1985), wobei die uterine Muskulatur dabei einen hohen Stellenwert zu haben scheint. Die Migration der Embryonen dient einer gleichmäßigen Verteilung der Embryonen über beide Uterushörner und stellt wahrscheinlich einen Sicherheitsmechanismus dar, der die Überfüllung eines Uterushornes vermeiden soll (LASLEY et al. 1963).

Zwischen den Trächtigkeitstagen 9 und 13 wächst der Embryo des Schweins dramatisch (PUSATERI et al. 1990). Voraussetzung für dieses Wachstum ist der „Schlupf“ der Blastozyste aus ihrer dickwandigen Membran, der Zona pellucida, um den 7. Graviditätstag (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Während der Embryo am 9. Trächtigkeitstag im Durchschnitt 1 mm misst, hat er am 13. Trächtigkeitstag bereits eine durchschnittliche Länge von 405 mm, wobei die größten Längendifferenzen an den Tagen 11 und 12, mit einer Länge von 1 mm bis 82 mm bzw. 1 mm bis 494 mm gefunden wurden (PUSATERI et al. 1996). Parallel zum Embryonenwachstum ändert sich dessen Gestalt von Tag 10 bis 12 von sphärisch über tubulär zu filamentös. Die Embryonen des Schweins implantieren ab dem 12. Graviditätstag mit ihren Eihüllen in beiden Uterushörnern in etwa gleichen Abständen voneinander (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994).

Der Embryo wächst nicht linear, sondern zeigt vielmehr unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeiten. Die sphärische Blastozyste z. B. wächst mit einer Geschwindigkeit von 0,25 mm/h, um ihren Durchmesser von 4 mm auf 9 mm zu vergrößern (GEISERT et al. 1982). Das Wachstum erfolgt wahrscheinlich vor allem durch Gewebshyperplasie (PUSATERI et al. 1996). Ab ca. Tag 12 der Trächtigkeit produziert der Embryo des Schweins Estradiol (PERY et al. 1976), das im maternalen Blutplasma nachzuweisen ist (ROBERTSON und KING 1974). Koinzident mit der Differenzierung und Expansion des extraembryonalen Mesoderms hat der Embryo eine Größe von 10 mm erreicht (GEISERT et al. 1982, GUPTA et al. 1996). Er wächst dann mit 30-45mm/h weiter. Das Wachstum des Embryos von 10 mm auf 150 mm erfolgt innerhalb von Stunden. Dabei streckt

sich der Embryo, wird also länger, während sein Durchmesser abnimmt. Die Längenzunahme (Elongation) ist vermutlich das Resultat einer Restrukturierung von Embryonalzellen, da eine derartige Größenzunahme in so kurzer Zeit nur durch Hypertrophie (PUSATERI et al. 1996) realisierbar ist und weder Mitosen (GEISERT et al. 1982) noch eine Zunahme des DNA-Gehaltes festgestellt werden konnten (PUSATERI et al. 1996).

Die Elongation, die mit einem Anstieg der Estrogensynthese korreliert (KA et al. 2001), wird deshalb als kritische Phase für das Überleben der Embryonen angesehen, da die dabei produzierten Estrogene das Signal für den Erhalt der Gelbkörper geben und damit deren andauernde Progesteronproduktion sichern (GEISERT und SCHMITT 2002). PUSATERI et al. (1996) fanden in diesem Zusammenhang heraus, dass eine intrauterine Infusion von Estradiol-17 β an den Tagen 12 und 13 in der Lage ist, eine kurze Scheinträchtigkeit hervorzurufen. Tag 13 stellt den ersten Trächtigkeitstag dar, an welchem Uterusspülungen, bei denen die Embryonen entfernt werden, das Intervall zum nächsten Östrus verlängern (FORD et al. 1982). Ein vollständiger Verlust der Embryonen in der sehr frühen Trächtigkeit führt zur Regression der funktionalen Corpora lutea nach dem Tag 15 (BAZER et al. 1984). Im Rahmen der Elongation okkupieren die Embryonen immer größere Bereiche der Uterushörner. Diese Elongation ist wichtig, da die Trächtigkeit nur dann fortgesetzt wird, wenn ein substantieller Anteil von jedem Uterushorn mit Konzepten belegt ist (GEISERT et al. 1982, DZUIK 1987).

Am Tag 14 der Trächtigkeit erfolgt die Adhäsion, die in der Region der Embryonalscheibe beginnt (DANZER 1985, KEYS und KING 1988) und als weiterer sensibler Prozess im Hinblick auf embryonale Verluste angesehen wird (POPE und FIRST 1985, GEISERT und SCHMITT 2002). Nach der schnellen Elongation kann das Wachstum wieder auf Mitosen zurückgeführt werden, da DNA-Gehalt und Länge wieder miteinander korrelieren (PUSATERI et al. 1996).

Am Tag 16 der Trächtigkeit weist der Trophoblast bereits eine Länge vom 100 cm auf (PERRY und ROWLANDS 1962). Bis zum 18. Tag der Trächtigkeit wachsen sie zu schlauchförmigen, ca. 150 cm langen Gebilden aus. Die Schläuche liegen aufgeknäult im Uterus und entwickeln sich ab dem 20. Tag durch Weitenzunahme und Rückbildung an den Enden zur typischen zweizipfeligen Form (SCHNORR 1996).

Vermutlich durch temporäre lokale Effekte von Estrogenen embryonalen Ursprungs ändert sich die uterine Blutversorgung, die am Tag 13 der Trächtigkeit deutlich höher als die bei zyklierenden Tieren ist (FORD et al. 1982). Andere Studien befassten sich mit der vaskulären Permeabilität im Zeitraum der Implantation. KEYS et al. (1986) konnten bei besamten Tieren

ab Tag 12 bis zum Versuchsende an Tag 19 eine erhöhte vaskuläre Permeabilität an den Implantationsstellen feststellen. In einem Folgeversuch konnten KEYS und KING (1988) an diesen Stellen mittels elektronenmikroskopischer Aufnahmen fenestrierte Kapillarsegmente im Uterusepithel nachweisen. LAFOREST und KING (1992) konnten die erhöhte Permeabilität und deren strukturelle Ursache mittels einer anderen Methodik nicht nachvollziehen, jedoch wiesen sie darauf hin, dass aufgrund ihrer Vorgehensweise eine größere Stichprobenanzahl notwendig gewesen wäre, um selbst große Unterschiede zwischen tragenden und nichttragenden Tieren nachzuweisen.

2.6 Die Darstellung des Uterus im sonographischen Bild

2.6.1 Sonographisches Bild des ingraviden Uterus beim Schwein

Die sonographische Beurteilung des Uterus beim Pferd stellt ein wichtiges Kriterium zur Zyklusdiagnostik dar, da deutliche Veränderungen der endometrialen Echotextur, insbesondere während des Östrus auftreten (GINTHER und PIERSON 1984, SQUIRES et al. 1988, PYCOCK et al. 1995). Die Zyklusansprache beim Schwein erfolgt bisher hauptsächlich anhand ovarieller Befunde (WEITZE et al. 1989, SOEDE et al. 1994, MORIYOSHI et al. 1996a). Offensichtlich ist jedoch, dass das sonographische Erscheinungsbild des ingraviden Uterus beim Schwein zyklischen Veränderungen unterliegt: TORIUMI et al. (2003) beschrieben subjektiv charakteristische Erscheinungsbilder sonographisch dargestellter Uterusquerschnitte im Östrus und in der lutealen Phase. Die Autoren zogen Transversalschnitte zur Beurteilung heran, da diese charakteristischer erschienen als Sagitalschnitte. Während des Östrus wies der Uterus eine klar abgegrenzte dicke Muskelschicht, die eine runde Struktur bildet, auf. MARTINAT-BOTTÉ et al. (2000) fanden im Proöstrus eine beginnende Kontrastierung der Uterusquerschnitte, die in den meisten Fällen mit einer besseren Abgrenzbarkeit einherging und bis zum Ende der Brunst erhalten blieb. Aufgrund der uterinen Sekretion kann bei manchen Sauen während des Östrus das Uteruslumen sichtbar werden (MARTINAT-BOTTÉ et al. 2000). In der lutealen Phase fanden TORIUMI et al. (2003) eine dünne echogene Muskelschicht, die eine relativ weite abgeflachte Struktur bildet. MARTINAT-BOTTÉ et al. (2000) beschrieben die Uterusquerschnitte in dieser Phase als schlecht abgrenzbar und homogen, wobei kein Lumen zu erkennen ist. KAUFFOLD et al. (2004c) fanden bei pubertalen Schweinen in der lutealen Phase Uteri mit homogenen Echotexturen, während KNOX und ALTHOUSE (1999) bei Tieren mit Follikeln heterogenere Echotexturen fanden. Zentrale Verschattungen, welche auf einem endometrialen Ödem basieren könnten, vermittelten den Eindruck der Heterogenität.

MARTINAT-BOTTÉ et al. (2003) beobachteten ähnliche Charakteristika des Uterus während der pubertalen Phase wie KAUFFOLD et al. (2004c) in der Follikelphase. Sie beschrieben die Uteri auch als kontrastreicher im Vergleich zu Uteri von präpubertalen Tieren.

2.6.2 Sonographisches Bild des graviden Uterus beim Schwein

DE RENSIS et al. (2000) beurteilten die Echotextur des Uterus auf einer Skala von 1-5 (1 = sehr homogen, 5 = sehr heterogen) im Östrus und ab dem 15. Tag der Trächtigkeit in Zweitagesabständen bis Tag 25. Im Östrus wurden die Uteri deutlich heterogener (4,3, SD: +/-0,2) als während der Trächtigkeit beurteilt. Hier lag der höchste Wert an Tag 17 (2,2 +/- 0,1). Daraus schlussfolgerten sie, dass eine Beurteilung der Echotextur bei der Trächtigkeitsdiagnostik hilfreich sein könnte. Auch MARTINAT-BOTTÉ et al. (2000) beschreiben den tragenden Uterus ab Tag 15 als homogen. Am Tag 16 erschien ihnen der Uterus teilweise „seltsam blumenkohlartig“, wobei die Uterusquerschnitte als kleine „Bälle“ aneinander lagen und meist noch keine Anschnitte mit Fruchtwasser sichtbar waren. Weitere Befunde werden im Kapitel 2.7.4.3 beschrieben.

2.7 Verfahren zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein

Die Tabelle 4 gibt mögliche Verfahren zur Trächtigkeitserkennung beim Schwein wieder (ohne B-Mode-Ultraschall-Verfahren). Nur wenige dieser Verfahren fanden Eingang in die Schweineproduktion bzw. sind derzeit gebräuchlich. Andere, vor allem ältere Prozeduren, wie diagnostische Hormoninjektionen, Vaginalschleimhautbiopsien oder Röntgenuntersuchungen seien als Verfahren zum Nachweis einer Trächtigkeit hier nur erwähnt. Es wird auf entsprechende Literatur verwiesen (DZUBIEK 1958, WILLIAMSON und HENNESSY 1975 KOCH und ELLENDORF 1982). Auf wenige bedeutungsvolle Methoden soll im Folgenden eingegangen werden.

Tab. 4: Ausgewählte Verfahren zur Trächtigkeitsuntersuchung beim Schwein (ohne B-Mode Ultrasonographie)

Verfahren	Substrat/Methode	Untersuchungszeitraum	Sensitivität %	Spezifität %	Autor
Progesteronbestimmung	Blut, RIA ⁴	19-23 ¹	91	100	ALMOND und DIAL 1986
		17-22 ²	98	80	CHADIO et al. 2002
	Kot, ELISA ⁵	26-32 ²	97	94	VOS et al. 1998
		Speichel, EIA ⁶	17-24 ²	91	100
Estrogenbestimmung (Estron oder unkonjugierte Estrogene)	Blut, RIA ⁴	19-23 ¹	93	88	ALMOND und DIAL 1986
		Kot, RIA ⁴	25-30 ²	92	SZENCI et al. 1993
	Kot, ELISA ⁵	26-32 ²	97	94	VOS et al. 1999
		Harn, k.A. ⁷	22-31 ³	92	85
Early pregnancy factor	Blut, Rosetteninhibitionstest	> 4 ²	72	97	KOCH und ELLENDORFF 1985
Rektale Untersuchung	—	> 90 ³	k.A. ⁷	k.A. ⁷	HUCHZERMAYER und PLONAIT 1960
Umrauscherkontrolle	—	täglich ¹	100	25-95	MEREDITH 1988
A-Mode-Ultraschall	—	28, 35, 42 ³	99	10	FLOWERS et al. 1999
Doppler-Ultraschall	—	14-? ³	87	k.A. ⁷	MEINHARDT et al. 1995

¹Tage nach Beginn Östrus (1. Tag des Östrus = Tag 1); ²Tage nach (letzter) Insemination (Tag der Insemination = Tag 0); ³Tag der Trächtigkeit; ⁴Radio-Immuno-Assay; ⁵Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay; ⁶Enzym-Immuno-Assay; ⁷keine Angaben; Grau hinterlegte Verfahren = mit Praxisrelevanz

2.7.1.1 Nachweis von Progesteron

Progesteron kann sowohl im Speichel (MORIYOSHI et al. 1996b), Kot (ALMOND 1998, VOS et al. 1998) als auch im Blutplasma (MEREDITH 1988) bestimmt werden. Erhöhte Progesteronwerte zum Zeitpunkt der erwarteten Umrausche signalisieren, dass entsprechende Tiere funktionstüchtige Gelbkörper aufweisen. Im Rahmen der Trächtigkeitsdiagnose wird angenommen, dass es sich dabei um Corpora lutea graviditates handelt. Beispiele für die Nutzung der Progesteronbestimmung zur Trächtigkeitsdiagnose seien im Folgenden genannt: CHADIO et al. (2002) stuften Sauen, die ab Tag 17 der Trächtigkeit Progesteronwerte im Blutplasma von über 7,5 ng/ml aufwiesen, als tragend ein. ALMOND und DIAL (1986) bewerteten Sauen mit Werten von über 5 ng/ml ab dem 19. Trächtigkeitstag als tragend. Falsch positive Ergebnisse können auftreten, wenn ingravide Sauen nicht oder verspätet umrauschen und zur Zeit der Progesteronanalyse noch aktive Gelbkörper aufweisen (ALMOND und DIAL 1986, CHADIO et al. 2002). Falsch negative Resultate sind selten, aber nicht auszuschließen und betreffen gravide Sauen, die nur wenige Gelbkörper und niedrige Progesteronkonzentrationen haben (MEREDITH 1988).

Für Sensitivität und Spezifität dieses Verfahrens werden unterschiedliche Angaben gemacht; beide sollen jedoch relativ hoch sein (siehe Tabelle 4). Dennoch ist dieses Verfahren in der Praxis unüblich.

2.7.1.2 Nachweis von Estronsulfat

Embryonen des Schweins produzieren ab Tag 11/12 post conceptionem Estrogene (Estron und Estradiol-17 β ; GEISERT et al. 1990), welche beim Passieren der Uteruswand sulfatiert werden, im Blut (ROBERTSON und KING 1974, ALMOND und DIAL 1986, VOS et al. 1998) des mütterlichen Organismus zirkulieren und über den Harn (CUPPS et al. 1966) sowie die Faezes (SZENCI et al. 1993, VOS et al. 1999) als Sulfate ausgeschieden werden. Estrogene embryonalen Ursprungs gelten als Indikator für die Präsenz vitaler Embryonen (ROBERTSON und KING 1974). Estronsulfat kann bei tragenden Sauen in Blut, Urin und Faeces nachgewiesen und zur Trächtigkeitsdiagnose genutzt werden. Sind die Sauen tragend, steigt die Konzentration an Estronsulfat in Blut und Exkreten ab Tag 16 post conceptionem an und erreicht an den Tagen 27 bis 29 maximale Werte (SZENCI et al. 1993). Dabei variieren die Trächtigkeitstage, an denen Estronsulfat in den jeweiligen Sekreten mit optimalen Ergebnissen für die Aussagen „tragend/nicht tragend“ bestimmt werden sollte. Im Kot zum Beispiel sollte Estronsulfat an den Tagen 25 bis 30 nach einer Belegung analysiert werden, da

vorher falsch negative Ergebnisse möglich sind (SZENCI et al. 1993). Im Blut sind Untersuchungen offensichtlich früher möglich: Wurden Sauen zwischen den Tagen 19 und 23 nach einer Belegung als tragend bzw. nicht tragend beurteilt, wenn deren Konzentrationen im Blut $> 4,2$ ng Estronsulfat je ml Serum bzw. $< 0,5$ ng/ml waren, wurden eine Sensitivität von 93 % und eine Spezifität von 88 % erreicht (ALMOND und DIAL 1986). Falsch ingravide Diagnosen sind dann möglich, wenn nur wenige Embryonen präsent sind und die Estronsulfatkonzentration niedrig ist (ALMOND und DIAL 1986). Die Bestimmung von Estronsulfat hat keinen Eingang in die Praxis gefunden.

2.7.1.3 Nachweis des „early pregnancy factors“ (EPF)

Von Schweineembryonen wird der „early pregnancy factor“ (EPF) synthetisiert, der schon wenige Tage post conceptionem mit dem Rosetten-Inhibitions-Test (RIT) nachgewiesen und zur Trächtigkeitsdiagnose genutzt werden kann. Der Test basiert auf der Fähigkeit des Blutsersums tragender Sauen, die Anlagerung von heterologen Erythrozyten (in der Regel vom Schaf) an Schweinelymphozyten zu vermindern (MORTON et al. 1983). In experimentellen Studien wies der Test eine Sensitivität von 71,9 % und eine Spezifität von 96,8 % auf (KOCH und ELLENDORF 1985). Fehlerquellen sind eher methodischer Art (falsche Lagerung der roten Blutkörperchen) und beim Donor der Lymphozyten (schlechter Gesundheitsstatus) zu suchen, erklären aber nicht das teilweise komplette Versagen der Methode (KOCH und ELLENDORF 1985). Der Test fand keinen Eingang in die Praxis.

2.7.2 Umrauscherkontrolle

Das gebräuchlichste Verfahren zur Trächtigkeitserkennung beim Schwein ist die Umrauscherkontrolle (BUSCH und PHILIPP 1970, MEREDITH 1988). In der Regel wird die Umrauscherkontrolle vom Stallpersonal durchgeführt; veterinärmedizinische Assistenz ist nicht notwendig. Umrauschende Sauen sind besamte oder gedeckte, aber ingravide Tiere, die nach einer Belegung zyklisch (18. – 25. Tag nach der Belegung) oder azyklisch (alle anderen Tage, KOKETSU et al. 1997) östrisch werden. Der Erfolg der Umrauscherkontrolle wird durch die Kompetenz des Stallpersonals bestimmt (ALMOND 1998) und durch Faktoren wie Aufstallungsform, Eberkontakt während der Kontrolle, Häufigkeit der Untersuchung (MEREDITH 1988), zeitgleich zur Untersuchung durchgeführte Stallarbeiten (KEIL und NOWAK 1983) u. a. beeinflusst. Umrauscherkontrollen sollten am 17. oder 18. Tag nach der Belegung beginnen und erst am 38. bis 45. Tag enden (KOKETSU et al. 1997). Fehldiagnosen sind aus biologischen Gründen häufig. Sie betreffen vor allem nicht tragende

Sauen, die stillbrünstig sind (TAVERNE 1989) oder aber aus anderen Gründen nicht umrauschen (z. B. pseudogravide Sauen infolge einer Zearalenon-Intoxikation; SPITSCHAK 1999). Falsch positive Diagnosen sind dann möglich, wenn tragende Sauen zum Zeitpunkt der zu erwartenden Umrausche brunstähnliche Symptome aufweisen (KAUFFOLD et al. 2003). Durch Umrauscherkontrollen sind tragende Sauen zu annähernd 100 %, nicht tragende dagegen nur zu 25 bis 95 % zu erkennen (MEREDITH 1988).

2.7.3 Rektale Untersuchung

Die rektale Untersuchung ist eine simple Methode zur Trächtigkeitserkennung bei der Sau (ALMOND 1998). Dennoch besitzt sie keine praktische Bedeutung. Sie ist in ihrer Praktikabilität allein aufgrund anatomischer Besonderheiten limitiert, da sich i. d. R. nur großbrahmige, pluripare Altsauen rektal untersuchen lassen (HUCHZERMEYER und PLONAIT 1960, SCHAETZ und BUSCH 1963). Tragende Tiere sollen ab dem 3. Trächtigkeitstages daran zu erkennen sein, dass die Arteria uterina media gleich- oder großkalibriger als die Arteria iliaca externa ist (HUCHZERMEYER und PLONAIT 1960, SCHAETZ und BUSCH 1963), und palpatorisch ein Schwirren der A. uterina gefühlt werden kann (SCHAETZ und BUSCH 1963). Fehler treten dann auf, wenn Arterien verwechselt werden oder die Arteria uterina media infolge Endometritis schwirrt (MEREDITH 1988).

2.7.4 Ultraschallverfahren

2.7.4.1 A-Mode-Verfahren (Sonographie)

Beim A-Mode-Verfahren werden flüssigkeitsgefüllte Strukturen (Uterus mit Fruchtwasser) nachgewiesen, an deren Grenzen hohe Impedanzunterschiede auftreten. Da ein Großteil des Schalls reflektiert wird, tritt eine hohe Amplitude („A“) auf. Sie kann vom Empfänger registriert werden. Ob ein Tier tragend ist, wird dem Untersucher durch ein akustisches oder optisches Signal mitgeteilt. Das A-Mode-Verfahren ist zwischen den Trächtigkeitstagen 25 und 70 anwendbar. Zu anderen Zeitpunkten fehlt Fruchtwasser in ausreichender Menge. Falsch positive Diagnosen sind dann möglich, wenn große Zysten oder die gefüllte Harnblase als flüssigkeitsgefüllte, „trächtigkeitsspezifische“ Struktur fehlinterpretiert werden (MEREDITH 1988). Bei Untersuchungen ab dem 28. Tag der Trächtigkeit konnte eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von 10 % erreicht werden (FLOWERS et al. 1999).

2.7.4.2 Doppler-Verfahren (Sonographie)

Das Doppler-Verfahren basiert darauf, dass sich die Schallfrequenz ändert, wenn zwischen Schallquelle und Schallempfänger eine Relativbewegung auftritt. Diese Frequenzänderung kann akustisch über Lautsprecher oder Kopfhörer signalisiert werden. Im Rahmen der Trächtigkeitserkennung werden mit dem Doppler-Verfahren sich bewegende, trächtigkeitsspezifische Strukturen (Herztätigkeit der Feten, Pulsation der Umbilikalvenen oder der A. uterina media) nachgewiesen (ALMOND und DIAL 1986, MEINHARDT et al. 1995). Doppler-Geräte können bei Sauen transrektal oder transkutan ab der zweiten (MEINHARDT et al. 1995) bzw. frühestens ab der dritten Trächtigkeitswoche (MEREDITH 1988) zur Graviditätsdiagnostik genutzt werden. Nach MEINHARDT et al. (1995) können erfahrene Untersucher bereits 14 Tage nach vorangegangener Belegung tragende Tiere mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 87 % diagnostizieren.

2.7.4.3 B-Mode-Verfahren (Sonographie)

Beim B-Mode-Verfahren wird ein zweidimensionales Bild erzeugt. Eine Trächtigkeit gilt dann als erwiesen, wenn sonographisch mindestens ein Konzeptus (Frucht, Fruchtblüssigkeit und Fruchthüllen) nachgewiesen werden kann (KAUFFOLD et al. 1997). Die Angaben zur Genauigkeit der Methode variieren u. a. mit dem Zeitpunkt ihrer Veröffentlichung und parallel zu technischen Neuerungen bzw. Verbesserung der Gerätequalität. Konsens besteht darin, dass die Ultrasonographie ein hervorragendes Verfahren zur frühen Trächtigkeitsuntersuchung der Sau ist.

Das Ergebnis der sonographischen Trächtigkeitsuntersuchung wird durch eine Vielzahl unterschiedlicher Faktoren beeinflusst, die im Folgenden kurz resümiert werden:

Die Anwendung kann sowohl transrektal als auch transkutan erfolgen (MILLER et al. 2003, KÄHN 2004). Die transrektale Methode soll genauere Ergebnisse liefern und früher nach einer Belegung anwendbar sein (FRAUNHOLZ 1988, FRAUNHOLZ et al. 1989, KÄHN et al. 1990). Der Schallkopftyp ist nicht ohne Einfluss. Linearschallköpfe gewährleisten z. B. eine größere Ankopplungsfläche als Sektorschallköpfe und bieten dadurch eine größere Diagnosesicherheit (TAVERNE 1989). Von nicht unerheblicher Bedeutung ist die Ultraschallfrequenz. Mit einer Frequenz von 5 MHz war die Genauigkeit der Diagnose höher als bei Verwendung von Schallköpfen mit 3,5 MHz (FRAUNHOLZ 1988, FRAUNHOLZ et al. 1989, FLOWERS et al. 1999).

Entscheidend ist der Zeitpunkt der Untersuchung. Die Trächtigkeit soll bereits 12 Tage nach der Belegung anhand kleinster Flüssigkeitsansammlungen im Uterus zu diagnostizieren sein.

Embryonale Strukturen sind zu diesem Zeitpunkt noch nicht zu erkennen (FRAUNHOLZ et al. 1989), können sonographisch aber ab ca. Tag 18 (MILLER et al. 2003) dargestellt werden. Am Tag 19 misst der Embryo ca. 6-7 mm (MARTINAT- BOTTÉ et al. 1998). Unabhängig von der Untersuchungsprozedur (d. h. transrektal oder transkutan), vom Schallkopftyp und der verwendeten Frequenz sind Sauen schon an den Tagen 20 bzw. 21 relativ sicher als gravid oder ingravid zu erkennen (INABA et. al 1983, KAUFFOLD et. al 1997, DE RENSIS et al. 2000, MILLER et. al 2003), so dass sich dieser Zeitpunkt für Untersuchungen in der Praxis bewährt hat.

Andere Faktoren mit Einfluss auf das Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung, wie die Routine des Untersuchers (ALMOND 1998), das Haltungssystem der Sauen (BOTERO et al. 1986, MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998) und die Anzahl vorangegangener Graviditäten (MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998) seien hier nur erwähnt.

Fehlinterpretationen (falsch positive Diagnosen) sind möglich, wenn Flüssigkeitsansammlungen im Uterus, wie Inseminat oder Eiter, als trächtigkeitsspezifisch missdeutet werden (MEREDITH 1988). Uteri östrischer Sauen weisen gelegentlich flüssigkeitsgefüllte Lumina auf, die in ihren Dimensionen denen frühtragender Sauen gleichen. Embryonen sind jedoch im Gegensatz zu intakt tragenden Tieren nicht nachzuweisen (KAUFFOLD et al. 1997). Falsch negative Diagnosen sind durch oberflächliches Arbeiten, vor allem in der sehr frühen Trächtigkeit (KAUFFOLD et al. 1997) und/oder eine geringe Anzahl von Feten (BOTERO et al. 1986, MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998) möglich.

3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN

3.1 Tiermaterial und Versuchsdurchgänge

Insgesamt wurden Daten von 106 Tieren in 5 Versuchsdurchgängen erfasst (siehe auch Tab. 5). Alle Tiere wurden zu Beginn der Versuche untersucht und waren klinisch gesund sowie gynäkologisch unauffällig.

3.1.1 Vorversuch zur Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse

Um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Graustufenanalysen aus den Versuchsdurchgängen 1-5 voraussetzen zu können, wurde bei einer Sau an 11 aufeinander folgenden Tagen dreimal täglich die mittlere Echogenität der Uterusquerschnitte bestimmt (zur Untersuchungsprozedur siehe Kapitel 3.2). Der Abstand zwischen der ersten und zweiten sowie der ersten und dritten Bestimmung betrug durchschnittlich 25 (20-38) bzw. 88 (76-100) Minuten. Auf die jeweils drei täglichen Bestimmungen, die jeweils aus mehreren Einzelmessungen bestanden, wurde der t-Test angewendet.

3.1.2 Vorversuch zum Einfluss von wiederholt auf die Haut aufgetragenem Kontaktgel auf die Graustufenanalyse

Um einen eventuellen Einfluss von täglich auf dieselbe Hautstelle aufgetragenem Kontaktgel auf die Echogenität darunter gelegener Gewebe zu überprüfen, wurde bei zwei Sauen täglich an 19 aufeinander folgenden Tagen Kontaktgel auf eine definierte Stelle des Rückens aufgetragen und die Echogenität des darunter gelegenen Musculus longissimus dorsi in einer festgelegten Entfernung zum Schallkopf bestimmt. Der Messpunkt war der Prozedur der Bestimmung der Rückenfettdicke entlehnt (entspricht dem Punkt der Stamboek Methode, dem kaudalsten Punkt der Dänischen Methode und den Punkten der P2-Methode (HESSE und HESSE 2002)) und befand sich auf Höhe der letzten Rippe, 6 cm lateral der Wirbelsäule. Pro Tag wurden je Sau 10 quadratische ROI's mit einer definierten Größe von 1.080 Pixeln analysiert. Vor den Messungen wurden die Borsten rasiert und der Umriss der Ankopplungsfläche des Schallkopfes mit einem wasserfesten Stift auf der Haut angezeichnet. Die Längsachse des Linearschallkopfes wurde im 90°-Winkel zur Wirbelsäule der Sau gehalten. Um einen eventuellen Einfluss des Durchblutungsgrades der Muskulatur auf die Messergebnisse weitgehend auszuschließen, wurden alle Untersuchungen am liegenden Tier durchgeführt. Mit den Messungen wurde erst begonnen, wenn das Tier mindestens 15 Minuten lang lag. Aus den jeweils 10 Messungen je Sau und Tag wurde das arithmetische Tagesmittel der Graustufen berechnet.

Für die Vorversuche wurden dieselben Einstellungen am Ultraschallgerät verwendet wie bei der Graustufenanalyse der Uterusquerschnitte (Kapitel 3.1.9).

3.1.3 Versuchsdurchgang 1

Im Versuchsdurchgang 1 wurden die Tiere sonographisch untersucht, um den Uterus während des Sexualzyklus und der frühen Trächtigkeit vergleichend zu charakterisieren. Zudem erfolgte die Entnahme von Blut zur Bestimmung von Estradiol und Progesteron.

Insgesamt 15 Jungsauen eines Nukleusbetriebes des Bundeshybridzuchtprogramms (BHZP) wurden in die Klinik für Kleine Klautiere und Forensische Medizin der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover transportiert und dort in Gruppen von 2 bis 3 Tieren auf Stroh gehalten. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt des Zukaufs (Zeitpunkt der ersten Behandlung s. u.) präpubertal (KAUFFOLD et al. 2004b, c).

Es wurden Reinzuchtsauen der Rassen Deutsche Landrasse (n = 8) und Piétrain (n = 7) verwendet, die zum Zeitpunkt der sonographischen Pubertätskontrolle im Durchschnitt 177,2 (165-185) Tage alt waren und durchschnittlich 110,9 (100-122) kg wogen. Die Jungsauen wurden im Herkunftsbetrieb und in der Tierklinik unter annähernd identischen Bedingungen gehalten. Sie erhielten pro Tag ca. 3 kg eines Standardfuttermittels mit einem Energiegehalt von 11 MJ/kg und hatten freien Zugang zu Wasser.

Um das Reproduktionsgeschehen der Jungsauen dieses Versuchsdurchgangs zu vereinheitlichen, wurden Brunst und Ovulation synchronisiert. Initial erhielten die Tiere noch im Herkunftsbestand simultan subkutan 500 IE eCG (PMSG) (Pregmagon[®], Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Rodleben, Deutschland) und intramuskulär (i.m.) 250 IE hCG (Ovogest[®] 1500, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland), um die Pubertät zu induzieren. Der Pubertätseintritt wurde durch den Nachweis lutealer ovarieller Strukturen verifiziert (KAUFFOLD et al. 2004b).

Dreizehn Tage später wurde mit einer 18-tägigen Behandlung mit Altrenogest (Regumate[®], Janssen Animal Health, Neuss, Deutschland) begonnen, das in einer Dosierung von 20 mg je Tier und Tag per os verabreicht wurde. Zur Stimulation des Follikelwachstums wurden den Tieren 24 Stunden nach letztmaliger Gabe von Altrenogest 1.000 IE eCG (Pregmagon[®]) s.c. verabreicht, dem sich die i.m. Injektion von 500 IE hCG (Ovogest[®]) 80 Stunden später zur Induktion der Ovulation anschloss.

Sieben der so synchronisierten Sauen wurden terminorientiert zweimal künstlich besamt (Gruppe 1.1 b). Um einen Rasseeffekt auszuschließen, wurden sowohl Tiere der Rasse

Deutsche Landrasse (n = 3) und Piétrain (n = 4) inseminiert. Die erste künstliche Besamung (KB₁) erfolgte 24 Stunden nach der Applikation von hCG, die zweite künstliche Besamung (KB₂) 16 Stunden nach der KB₁. Die übrigen 8 Jungsaugen (Deutsche Landrasse: n = 5, Piétrain: n = 3) wurden nicht besamt (Gruppe 1.1 z).

Um den Ovulationszeitpunkt zu erfassen, erfolgten sonographische Ovulationskontrollen. Dazu wurden die Sauen alle 12 Stunden untersucht. Die erste Untersuchung erfolgte 12 Stunden nach der hCG-Applikation. Die Beurteilung der Ovarbefunde inklusive Ermittlung des Ovulationszeitpunktes orientierte sich an den Angaben von KAUFFOLD et al. (2004c).

Mit den Ovulationskontrollen begannen die sonographischen Untersuchungen zur Charakterisierung des Uterus. Sie wurden immer nachmittags durchgeführt. Besamte Sauen wurden solange untersucht, bis die Darstellung solider Uterushornquerschnitte, d. h. Querschnitte ohne anechogene Bereiche (d. h. Fruchtwasser), erstmalig bei einer der Sauen misslang. Sauen, die nicht besamt wurden, sind bis zum Ovulationsende der nachfolgenden, spontanen Brunst untersucht worden. An allen Untersuchungstagen während des gesamten Versuchszeitraums wurden die Uteri in ihrer Größe und Echogenität beurteilt (Kap. 3.2.) und parallel dazu die ovariellen Funktionskörper erfasst.

Zur Bestimmung der Konzentrationen von Progesteron und Estradiol-17 β erhielten die Tiere des Versuchsdurchganges 1 einen Tag nach der eCG (PMSG)-Applikation einen Ohrvenenkatheter (Vygonflex pur Venenverweilkatheter, VYGON GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland).

Die Katheterisierung erfolgte in Anlehnung an NIIJAMA et al. (1985). Dazu wurden die Schweine mit einer Oberkieferschlinge fixiert und der Katheter über die Vena heliica caudalis in der Vena jugularis platziert. Blutentnahmen erfolgten täglich ohne Fixation der Tiere. Je Blutentnahme wurden ca. 9 ml Blut gewonnen (Lithium-Heparin S-MONOVETTEN[®]; Fa. Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland), die Katheter anschließend gespült und mit Heparin-Lösung (100 IE Heparin/ml) aufgefüllt.

Anschließend wurde das Blut bei 2.000 x g 15 Minuten lang zentrifugiert, Blutplasma in 1,5 ml Eppendorf Tubes (Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland) abpipettiert und bei -18 °C bis zur Analyse gelagert. Fiel der Ohrvenenkatheter aus, wurde ein neuer Katheter am selben oder am anderen Ohr gelegt (n = 8). Fiel auch der erneut verlegte aus, wurde den Tieren Blut aus der Vena jugularis externa entnommen (n = 6). Punktionen erfolgten durch dieselbe erfahrene Person. Die Tiere wurden nach Versuchsende

der regulären Schlachtung zugeführt oder verblieben zur studentischen Ausbildung in der Tierklinik.

3.1.4 Versuchsdurchgang 2

In einem zweiten Versuchsdurchgang wurden insgesamt 22 Jungsauen (Deutsche Landrasse: n = 4; Deutsche Landrasse x Deutsches Edelschwein: n = 18) einbezogen. Die Tiere standen in zwei Ferkelerzeugerbetrieben (Gruppe 2.1 für Betrieb X, n = 18; Gruppe 2.2 für Betrieb Y, n = 4). Sie wurden während des gesamten Versuches in Kastenständen gehalten.

Der Sexualzyklus der Jungsauen beider Ferkelerzeugerbetriebe wurde betriebsspezifisch synchronisiert. Die Synchronisationsverfahren unterschieden sich in wenigen Details.

Sauen der Gruppe 2.1 erhielten über 15 Tage 20 mg Altrenogest (Regumate[®]) je Tier und Tag per os. Sie wurden 24 Stunden nach letztmaliger Altrenogest-Applikation mit 1.000 IE eCG i.m. (Pregmagon[®]) behandelt, um 77 Stunden später 500 IE hCG (Ovogest[®] 1500) i.m. zu bekommen. Insgesamt 9 der 18 Saunen der Gruppe 2.1 wurden besamt (Gruppe 2.1b). Die KB₁ erfolgte 25 Stunden nach der Applikation von hCG. Die KB₂ wurde 17 Stunden nach der KB₁ durchgeführt. Neun Saunen der Gruppe 2.1 wurden nicht besamt (Gruppe 2.1z). Bei allen 22 Jungsauen beider Gruppen erfolgten sonographische Ovulationskontrollen. Sie fanden 26 und 46 Stunden nach der hCG-Gabe statt. Die Kriterien entsprachen denen unter 2.1.3 erwähnten.

Die 4 Jungsauen der Gruppe 2.2 wurden wie die der Gruppen 2.1 mit Altrenogest, eCG (PMSG) und hCG behandelt, um das Zyklusgeschehen zu synchronisieren. Im Unterschied zu Tieren der Gruppe 2.1 wurde eCG 28 Stunden nach letzter Regumate-Gabe und hCG 78 Stunden nach dem eCG verabreicht. Die KB₁ erfolgte 26 Stunden nach der hCG-Gabe, die KB₂ 12 Stunden später. Sonographische Ovulationskontrollen erfolgten wie in Gruppe 2.1.

Die Jungsauen aller Gruppen wurden täglich sonographisch untersucht, um den Uterus in der periimplantativen Phase zu charakterisieren. Die Untersuchungen begannen am 7. Tag (Gruppen 2.1z und 2.2b) bzw. am 8. Tag (Gruppe 2.1b) nach der Ovulation (Tag 0) und endeten uniform bei allen Saunen an dem Tag, an dem es erstmalig misslang, bei einer der besamten Saunen solide Uterushornquerschnitte, d. h. solche ohne Fruchtwasser, darzustellen.

3.1.5 Versuchsdurchgang 3

Im Versuchsdurchgang 3 wurden die Uteri von pluriparen Altsauen (Deutsche Landrasse: n = 6) in der periimplantativen Phase sonographisch charakterisiert (Gruppe 3b). Die Tiere befanden sich im Ferkelerzeugerbetrieb Y und wurden in Kastenständen gehalten. Die Saunen hatten bis zur Untersuchung 2 bis 10 Würfe gebracht. Sie wurden mit 1.000 IE eCG

(Pregmagon[®]) 24 Stunden nach dem Absetzen i.m. behandelt, um die Brunst zu induzieren. Brunstkontrollen erfolgten im Beisein eines fertilen Ebers. Die KB₁ wurde duldsorientiert 12 Stunden nach Feststellung des Duldungsreflexes (dies entsprach durchschnittlich 104 Stunden nach eCG-Gabe), die KB₂ 12 Stunden nach der KB₁ durchgeführt. Der Ovulationsverlauf wurde durch sonographische Untersuchungen zur KB₁ und KB₂ dokumentiert. Tägliche sonographische Untersuchungen zur Charakterisierung des Uterus begannen am Tag 7 nach der Ovulation und endeten an dem Tag, an dem bei der ersten Sau keine soliden Uterushornquerschnitte mehr darstellbar waren.

3.1.6 Versuchsdurchgang 4

Zehn primipare Sauen der Rasse Deutsche Landrasse (Gruppe 4b) wurden im Versuchsdurchgang 4 untersucht. Sie wurden im Ferkelerzeugerbetrieb Y in Kastenständen gehalten, wie für Gruppe 3 beschrieben synchronisiert sowie besamt und wie für Sauen der Gruppe 3b beschrieben ultrasonographisch untersucht.

3.1.7 Versuchsdurchgang 5

Ausgehend von den Ergebnissen der Versuchsdurchgänge 1 bis 4 (Uteri gravider Sauen wiesen am Tag 12 post ovulationem eine geringere Echogenität als die ingravider Tiere auf) wurden im Versuchsdurchgang 5 insgesamt 53 Sauen (Betrieb X: n = 48; Betrieb Y: n = 5) am Tag 12 post ovulationem sonographisch untersucht und die Uteri charakterisiert. Ziel war es, zu eruieren, ob gravide bzw. ingravide Sauen anhand der uterinen Echogenität am Tag 12 post ovulationem zu diagnostizieren sind.

3.1.8 Trächtigkeitsuntersuchung der besamten Sauen aller Versuchsdurchgänge

Besamte Sauen aller Versuchsdurchgänge wurden am 21. Tag nach der Ovulation ultrasonographisch auf Trächtigkeit kontrolliert. Die Trächtigkeit galt als erwiesen, wenn Fruchtwasser und mindestens eine Frucht sonographisch nachweisbar waren. Tiere mit fraglichem Befund wurden an nachfolgenden Tagen wiederholt bis zur eindeutigen Diagnose untersucht. Ab Tag 18 wurden durch das Betriebspersonal Brunstkontrollen im Beisein eines fertilen Ebers durchgeführt. Sauen, die 18 – 25 Tage nach einer Besamung östrisch wurden, sind als zyklische Umrauscher betrachtet worden. Besamte Sauen, die sonographisch als ingravid befundet wurden und bis zum 26. Tag post ovulationem keine Brunstsymptome aufwiesen, wurden als azyklische Umrauscher definiert.

Tab. 5: Übersicht der Versuchsdurchgänge 1 – 5

Versuchsdurchgang	Gruppe	Alter	Anzahl Sauen	Rasse	gesamt	Untersuchungstage ¹
1	1.1b	Jungsauen	7	DL und PI	ja	-2 - 16
	1.1z		8		nein	-2 - 22
2	2.1b	Jungsauen	9	DL/DE	ja	8 - 16
	2.1z		9		nein	7 - 16
	2.2.b		4	DL	ja	7 - 16
3	3b	pluripare Altsauen	6	DL	ja	7 - 16
4	4b	primipare Altsauen	10	DL	ja	7 - 16
5	5.1b	Jungsauen	48	DL/DE	ja	12
	5.2b	pluripare Altsauen	5	DL	ja	12

Die Buchstaben b und z geben wieder, ob die Tiere einer Gruppe gesamt (b) wurden oder normal zyklierten (z). DL= Deutsche Landrasse; DE= Deutsches Edelschwein; PI = Piétrain;¹Tag 0 ist der Tag der Ovulation

3.2 Sonographische Untersuchung

3.2.1 Ultraschallgerät und verwendete Einstellungen

Alle sonographischen Untersuchungen wurden mit dem Ultraschallgerät HS-2000 (Honda Electronics, Tokio, Japan; Vertrieb im deutschsprachigen Raum: Physia GmbH, Neu-Isenburg, Deutschland), welches mit einem Multifrequenz-Linearschallkopf (HLS-475M) ausgestattet war, durchgeführt. Zur Charakterisierung des Uterus wurden immer dieselben Einstellungen am Gerät verwendet und vor Untersuchungsbeginn jeweils überprüft. Das Leistungsniveau des Gerätes und die in diesen Untersuchungen verwendete Einstellungen sind in der Tabelle 6 zusammengestellt. Von den Messfunktionen des Gerätes wurde die Histogramm-Funktion genutzt.

Tab. 6: Leistungsniveau und verwendete Einstellungen des Ultraschallgerätes HS-2000

Parameter	Leistungsniveau	verwendete Einstellung
Dynamikbereich	36-100 dB	75 dB
Gesamtverstärkung	36-100	100
ortungstiefeabhängige Signalverstärkung (STC)	6 stufenlos regelbare Schieberegler	auf Mittelposition arretiert
Fokusebenen	1-4	1
Fokusposition	1-8	2-3
Dynamischer Fokus	ein/aus	aus
Reject-Funktion	hoch/niedrig/aus	niedrig
Bildverschiebung	0 bis 110 in 10er Schritten	10
Darstellungsmaßstab	0,75/1/1,2/1,5/2/3	2
γ -Korrektur	1-8	1
MHz Schallkopf	5/7,5/10	5

STC: Swept Time Compensation

3.2.2 Untersuchungsprozedur

Alle sonographischen Untersuchungen zur Charakterisierung der Uteri wurden transkutan auf immer gleiche Art und Weise durchgeführt. Sie erfolgten an stehenden Tieren, die sich in mobilen oder stationären Kastenständen befanden. Zur Untersuchung wurde der Ultraschallkopf nach Auftragung von Ultraschallgel (Ultraschall-Gel Bernburg[®], Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) im haarlosen Bereich der rechten Inguinalgegend an die Bauchwand gepresst. Die Richtung des eintretenden Schalles variierte in Abhängigkeit vom Individuum und orientierte sich an der Lage der Uterusschlingen. Für die Analyse der Echogenität wurden Standbilder im B-Mode erzeugt. Ziel war, einen von angrenzenden Strukturen eindeutig abzugrenzenden Uterusquerschnitt in einer definierten Fokusposition abzubilden (Abb. 4). Es wurden nur solide Uterushornquerschnitte, d. h. solche ohne Fruchtwasser, für die Echogenitätsanalyse verwendet. Insgesamt wurden 5210 ROI's ausgewertet, was durchschnittlich $6,4 \pm 2,1$ ($\bar{x} \pm SD$) Bildern je Sau und Tag entspricht.

Zur Beurteilung ovarieller Funktionskörper wurde analog, d. h. transkutan in der Inguinalgegend untersucht.

Die ovariellen Funktionskörper (Follikel, Corpora haemorrhagica, Corpora lutea) wurden anhand der bei KAUFFOLD et al. (2004b,c) beschriebenen Kriterien erfasst und dokumentiert.

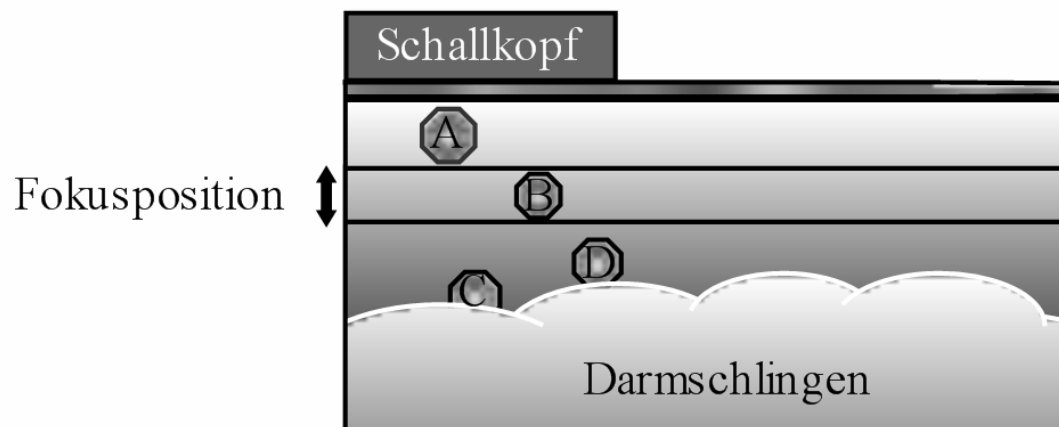


Abb. 4: Schema zur Position ausgewählter Abdominalorgane relativ zum Schallkopf; A – D: Querschnitte der Uterushöner.

3.2.3 Auswertung der Uterusquerschnitte mittels geräteinterner Histogramm-Funktion (GSA-Einheit)

Nach Erzeugung eines Standbildes wurde die „Region of Interest“ (ROI) mit einem Caliper, der durch einen Trackball zu steuern war, definiert. Die ROI umfasste dabei den gesamten Uterusquerschnitt (Abb. 5).

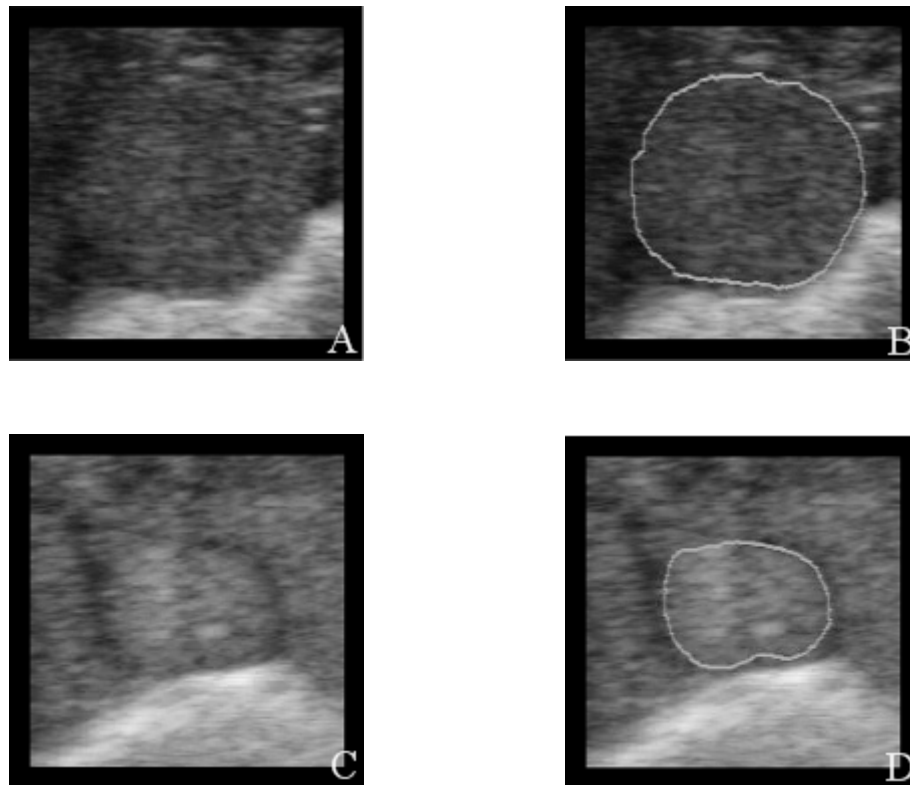


Abb. 5: B-Mode-Standbilder mit Uterusquerschnitten einer Sau an verschiedenen Zyklustagen. A, B: Uterusquerschnitt am Tag 2 ohne (A) und mit (B) ROI. (Gruppe 1.1z); C, D: Uterusquerschnitt am Tag 13 ohne (C) und mit (D) ROI. (Gruppe 1.1z)

Für die jeweils definierte ROI wurde deren Flächeninhalt (A) und der Mittelwert der Graustufen (Lmean) berechnet (Tab. 7). Die für jede ROI ermittelten Daten wurden zeitgleich auf dem Bildschirm abgebildet (Abb. 6).

Tab. 7: Charakterisierung der verwendeten Parameter

Parameter	Charakterisierung
A	Fläche der ROI in cm^2 . Dieser Wert entsprach der Querschnittsfläche der Uterusquerschnitte.
Lmean	Mittelwert der Graustufen (Histogramm –Funktion) Bei der Berechnung des Mittelwertes der Graustufen wurden die 256 (8bit) durch das Gerät dargestellten Graustufen auf einer Skala von 0-31 dargestellt.

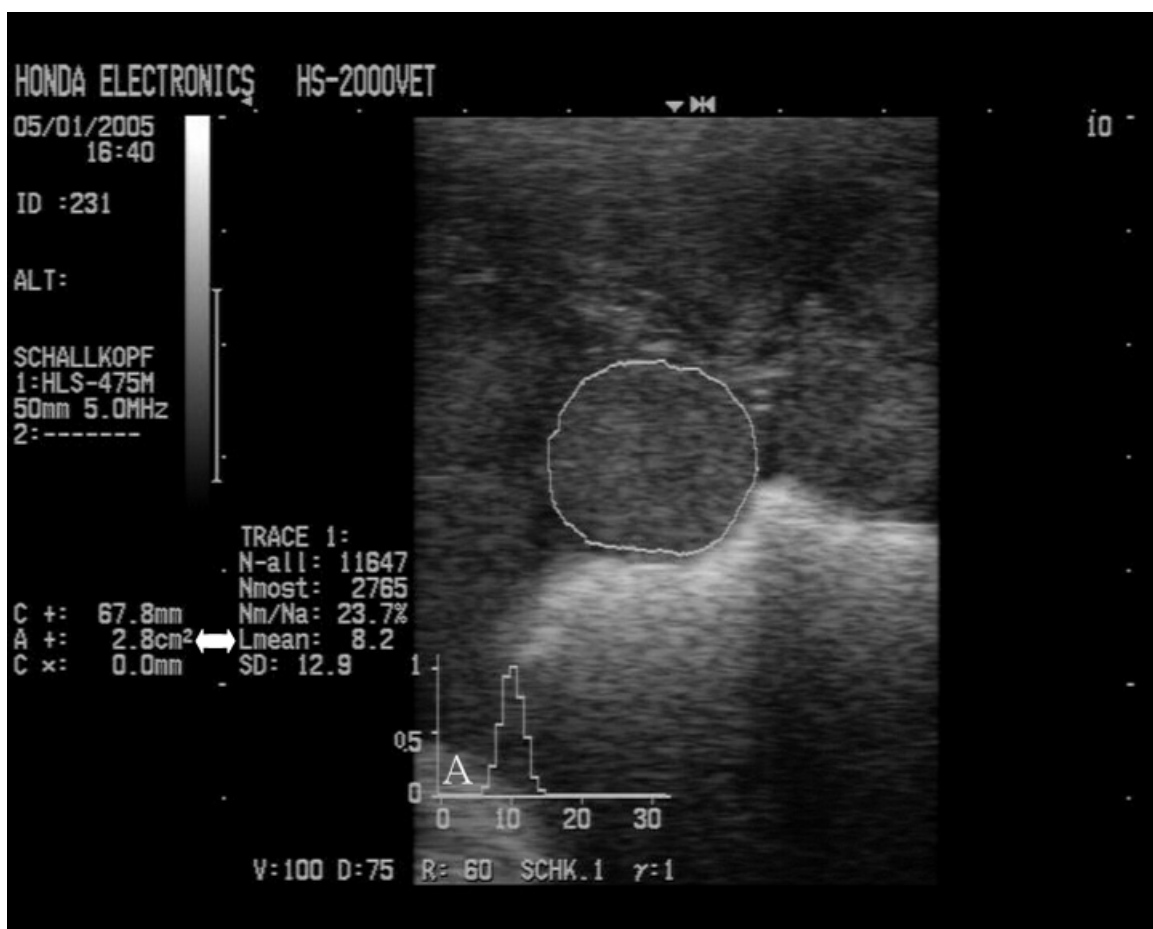


Abb. 6: B-Mode-Standbild mit Uterusquerschnitt. ROI ist definiert. Das Ergebnis der Graustufenanalyse ist abgebildet (A: Histogramm; Lmean und die Fläche sind durch einen Pfeil markiert)

Aus den Einzelmessungen wurde für jede Sau und jeden Tag das arithmetische (Tages-) Mittel von Lmean und die Uterusquerschnittsfläche berechnet.

3.2.4 Archivierung der B-Mode-Standbilder

Jedes B-Mode-Standbild wurde digital archiviert. Dazu diente ein an das Ultraschallgerät angeschlossener Computer. Das analoge Videosignal wurde durch einen Framegrabber abgegriffen und ohne Umwege digitalisiert. Die Archivierung und Dokumentation der Befunde erfolgte mit dem Programm SonoWIN[®] 2000 light (Version: 4.1.6, meso international GmbH, Mittweida, Deutschland). Die Standbilder wurden im bmp-Format gespeichert und am Ende jedes Untersuchungstages ausgewertet.

3.2.5 Subjektive Beurteilung der Echogenität der Uterusquerschnitte

Bei den Sauen des Versuchsdurchganges 1 wurde die uterine Echogenität vor der Graustufenanalyse subjektiv in Anlehnung an BÖNHOF (1987) erfasst und als „Stärke des Echomusters“ ausgewiesen. Es standen 6 Ausprägungsgrade zu Verfügung (Tab. 8).

Tab. 8: Einschätzung der Echogenität in Anlehnung an BÖNHOF (1987)

Merkmal	1	2	3	4	5	6
Stärke des Echomusters	echofrei	schwach	schwach bis mittelstark	mittelstark	mittelstark bis stark	stark

Wie bei der Bestimmung von Lmean und der Uterusquerschnittsfläche wurde auch bei der subjektiven Beurteilung der Echogenität der Uterusquerschnitte für jede Sau und jeden Tag das arithmetische (Tages-) Mittel errechnet.

3.3 Bestimmung von Progesteron und Estradiol-17 β im Blutplasma

Progesteron und Estradiol-17 β wurden im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig bestimmt.

3.3.1 Bestimmung von Progesteron

Die Progesteronbestimmung erfolgte durch einen laboreigenen Enzymimmunoassay (EIA). Zur Extraktion des Progesterons aus den einzelnen Proben wurden 250 μ l Blutplasma mit 2,5 ml Petrolether (Fa. Merck KG, Darmstadt, Deutschland) versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt. Der Lösungsmittelüberstand wurde nach dem Ausfrieren der wässrigen Phase abgegossen und über Nacht bei 37 °C eingedampft, anschließend mit 1,25 ml Assaypuffer aufgenommen und 30 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt. Von jedem

Extrakt wurden für den EIA 50 µl auf eine beschichtete Mikrotiterplatte (Beschichtung mit einem Anti-Kaninchen-IgG vom Schaf, Fa. SIGMA, Deisenhofen, Deutschland) pipettiert und pro Well 100 µl verdünnte Antikörperlösung (hormonspezifisches polyklonales Antiserum vom Kaninchen, eigene Immunisierung) zugesetzt. Unmarkiertes Progesteron (Fa. Serva GmbH & Co., Heidelberg, Deutschland) diente zur Erstellung der Eichreihe. Nach der Vorinkubation (2,5 Stunden auf einem Plattenschüttler bei 5 °C) wurden jeweils 100 µl Enzymverdünnung (Progesteron-POD, Fa. Fitzgerald Industries International Inc, Concord, USA) zugesetzt. Nach 18-stündiger Inkubation (auf dem Plattenschüttler bei 5 °C) wurde die Mikrotestplatte geleert, mit Tween 80-Lösung gewaschen und zur Farbreaktion 150 µl Substratlösung (enthält Tetramethylbenzidin als Chromogen, Fa. SIGMA) zugesetzt. Als Stoppreagenz wurden nach 50 Minuten 50 µl 2 molare Schwefelsäure zugesetzt. Die photometrische Messung erfolgte am Multilabel-Counter Victor 1420 (Fa. Perkin Elmer, Boston, USA) bei 450 nm. Zur Auswertung diente die Software "Workout" (gleiche Fa.).

In Voruntersuchungen wurden Proben, die nach der oben beschriebenen Extraktion im EIA bestimmt wurden, in verschiedenen Konzentrationsbereichen mit einer validierten Methode (GOTTSCHALK 1999) unter Einsatz eines ³H-Radioimmunoassays verglichen.

Aus den Progesteronwerten der Sauen des Versuchsdurchganges 1 wurde für die Gruppen 1.1b und 1.1z das jeweilige arithmetische Tagesmittel errechnet.

Die Intra-Assay-Variation des EIA's betrug 10,4 %, die Inter-Assay-Variation 13,0 %.

3.3.2 Bestimmung von Estradiol-17β

Die Bestimmung erfolgte durch einen nach ABRAHAM (1969) bzw. GOTTSCHALK (1999) modifizierten ³H-Radioimmunoassay (RIA). Zur Estradiolextraktion aus dem Blutplasma wurden jeweils 0,5 ml Probe mit 5 ml Diethylether (Fa. Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) versetzt und das Gemisch 30 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt. Der Etherüberstand wurde nach dem Ausfrieren der wässrigen Phase abgegossen und über Nacht bei 37 °C eingedampft, mit 300 µl Assaypuffer aufgenommen und 30 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt. Den aufgenommenen Extrakten wurden 100 µl verdünnte Tracerlösung (³H-markiertes Estradiol-17β, Fa. Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig) zugegeben. Danach erfolgte die Zugabe von 100 µl verdünnter Antiserumlösung (Anti-Estradiol-17β-CMO-BSA vom Kaninchen, „Estradiol-Antiserum Jena[®]“, Fa. Jenapharm, Jena, Deutschland). Für die Erstellung der Eichreihe diente

unmarkiertes Estradiol-17 β (Fa. Serva GmbH & Co.). Der Ansatz wurde 50 Minuten bei 37 °C und anschließend 1,5 Stunden in einem Eisbad im Kühlschrank inkubiert. Die anschließende Trennung von freiem und antikörpergebundenem Hormon erfolgte durch Zugabe von 0,5 ml einer Dextran-Aktivkohle-Suspension, die freie Steroide bindet. Nach 10-minütigem Stehen im Eisbad und Zentrifugation (10 Minuten bei 4 °C und 4000 U/Minuten) wurde der Überstand abgegossen und mit 3 ml Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint Mini, Fa. Carl Roth GmbH) versetzt. Die Messung der gebundenen Aktivität erfolgte im Flüssigszintillationszähler 1409 der Fa. Perkin Elmer, zur Ermittlung der Hormonkonzentration in den Proben diente die Software „Multicalc“ (gleiche Fa.). Wie für die Progesteronwerte, so wurde auch für die Estradiol-17 β -Werte der Sauen des Versuchsdurchganges 1 das jeweilige arithmetische Tagesmittel für die Gruppen 1.1b und 1.1z errechnet.

Die Intra-Assay-Variation des RIA's betrug 6,45 %, die Inter-Assay-Variation 9,90 %.

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte mithilfe von Microsoft[®] Office Excel 2003 (Microsoft[®] Corporation) und SPSS Version 11.0.1. (SPSS GmbH Software, München/Deutschland).

Die Prüfung auf Normalverteilung der Werte wurde mit dem Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Aus den arithmetischen Mitteln (\bar{x}) der Parameter Echogenität (Versuchsdurchgänge 1-5), subjektiv wahrgenommene Echogenität und Uterusquerschnittsfläche (Versuchsdurchgang 1), die für jede Sau und jeden Tag aus den Einzelwerten bestimmt wurden, ist wiederum für jede Versuchsgruppe und jeden Tag das jeweilige Mittel bestimmt und der dazugehörige Standardfehler ($s\bar{x}$) berechnet worden.

Die Echogenität der Uterusquerschnitte der Versuchsgruppen an den verschiedenen Tagen wurde mit dem t-Test verglichen.

Die Korrelationsanalyse nach Pearson fand Verwendung, um Zusammenhänge zwischen verschiedenen Parametern zu erkennen.

Bei der Auswertung mittels t-Test und Korrelationsanalyse wurden Ergebnisse als signifikant angesehen, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit (p) kleiner als 5 % ($p < 0,05$) war.

Für die Überprüfung des Einflusses von wiederholt auf die Haut aufgetragenem Kontaktgel auf die Graustufenanalyse wurde zusätzlich das 95 %-Konfidenzintervall (entspricht dem doppelten Standardfehler) der Messwerte berechnet.

Es erfolgte eine ROC-Analyse (Receiver Operating Characteristic) mit den für jede Sau an Tag 12 errechneten arithmetischen Mitteln des Parameters Echogenität.

Dabei wurde eine ROC-Kurve erstellt, die es ermöglicht, zwei verschiedene Untersuchungsverfahren miteinander zu vergleichen. Hier wurde das (neue) Untersuchungsverfahren auf Trächtigkeit mittels Graustufenanalyse an Tag 12 mit der Trächtigkeitsuntersuchung im B-Mode ab Tag 21 der Trächtigkeit durch den Nachweis von Fruchtwasser und Konzepten (hier der Goldstandard) verglichen. In den verwendeten Darstellungen ist auf der X-Achse die Sensitivität abgebildet, auf der Y-Achse die Spezifität. Die eingezeichnete Kurve beschreibt dabei die Sensitivität und Spezifität dieses Tests bei einem bestimmten Schwellenwert (hier die Echogenität der Uterusquerschnitte einer Sau), welcher die zwei verschiedenen Gruppen (hier tragende und nicht tragende Tiere) diskriminieren soll. Korreliert dieser Test perfekt mit dem Goldstandard, so ist die AUC (Area Under the Curve) gleich 1, da die Sensitivität und Spezifität, gemessen am Goldstandard, 100 % beträgt. Umgekehrt folgt daraus: Je kleiner die AUC ist, desto weniger stimmen die Tests in ihren Ergebnissen überein, desto ungeeigneter ist in diesem Fall die Graustufenanalyse zur Trächtigkeitsanalyse zu diesem Zeitpunkt.

4 ERGEBNISSE

4.1 Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse und Einfluss des Kontaktgels auf die Graustufenanalyse

4.1.1 Reproduzierbarkeit der Graustufenanalyse

An 10 von 11 Tagen bestanden zwischen den drei täglichen Bestimmungen der mittleren Echogenität, die jeweils 6-10 Graustufenanalysen der Uterusquerschnitte einer Sau umfassten, keine Unterschiede ($p > 0,05$). Am 6. Tag nach Beginn der dreimaligen täglichen Messungen wurde ein Unterschied zwischen den drei Bestimmungen festgestellt ($p = 0,009$). Aufgrund des sehr homogenen Bildes der drei täglichen Messungen an jeweils 10 Tagen wird im Folgenden trotz der Abweichung an Tag 6 von einer Reproduzierbarkeit ausgegangen.

4.1.2 Einfluss von wiederholt auf die Haut aufgetragenem Kontaktgel auf die Graustufenanalyse

Um einen eventuellen Einfluss des wiederholt auf dieselbe Hautstelle aufgetragenen Kontaktgels zu erkennen, wurden zwei Sauen über 19 aufeinander folgende Tage 10 mal hintereinander je Tag ultrasonographisch untersucht und der Grauwert des M. longissimus ermittelt, der Mittelwert der Einzelwerte gebildet und das entsprechende 95%-Konfidenzintervall bestimmt. Als mittlerer Grauwert wurde 4,6 ermittelt. Das 95%-Konfidenzintervall war sehr eng (Unter- bzw. Obergrenze: 4,4 bzw. 4,7). Es ist zu schlussfolgern, dass die tägliche kutane Anwendung von Kontaktgel keinen Einfluss auf die Graustufenanalyse tiefer gelegener Gewebe hat.

4.2 Ergebnisse des Versuchsdurchgangs 1

4.2.1 Ergebnisse der Graustufenanalyse während des Zyklus bei reinrassigen Jungsaunen

Da der Gruppe 1.1z Tiere der Rassen DL ($n = 5$) und PI ($n = 3$) angehörten, wurde zunächst geprüft, ob zwischen den beiden Rassen Unterschiede im mittleren Grauwert bestanden. Außer am Tag 4 post ovulationem ($p = 0,014$) konnten zwischen beiden Rassen keine Unterschiede beobachtet werden ($p > 0,05$). Deshalb wurden die Ergebnisse für zyklierende reinrassige Jungsaunen zusammengefasst. Sie sind der Abbildung 7 zu entnehmen. Wie dort ersichtlich, veränderten sich die mittleren Grauwerte zyklusabhängig. Niedrige Grauwerte wurden am Tag 3 ($7,8 \pm 0,3$) und im darauf folgenden Zyklus am Tag 22 ($8,0 \pm 0,2$) beobachtet. Die höchsten Grauwerte wurden am Tag 13 ($10,4 \pm 0,1$) gemessen.

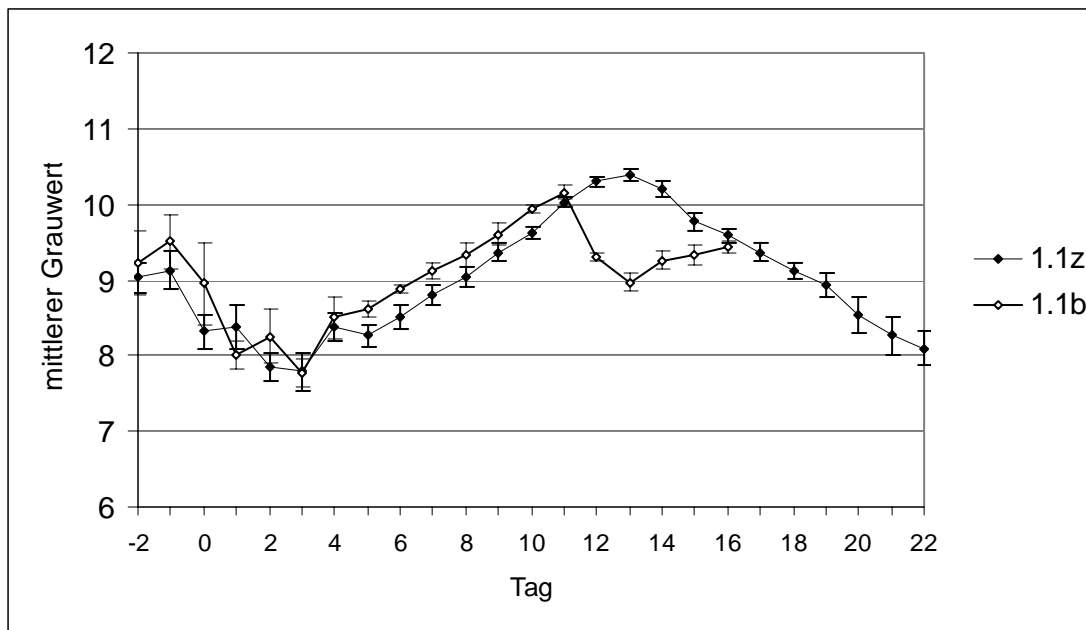


Abb. 7: Mittlere Grauwerte ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) von Uterusquerschnitten bei Jungsauen während des Zyklus (1.1z, n = 8, Tag -2 bis Tag 22) und der frühen Trächtigkeit (1.1b, n = 4, Tag -2 bis 16); Tag 0 = Tag der Ovulation; Ergebnisse des Signifikanztests (t-Test) siehe Anhang

4.2.2 Ergebnisse der Graustufenanalyse während der frühen Trächtigkeit bei reinrassigen Jungsauen

Während von ursprünglich vier besamten Schweinen der Rasse Piétrain nur eine Jungsau tragend wurde, konnten alle drei Sauen der Rasse Deutsche Landrasse erfolgreich besamt werden. Diese Konstellation ließ es nicht zu, einen t-Test auf (Rassen-)Unterschiede im täglichen mittleren Grauwert durchzuführen. Stattdessen wurde die mittlere Differenz der Tagesmittelwerte der zwei „Untergruppen“ berechnet: Die täglichen Differenzen zwischen der mittleren Echogenität der Uterusquerschnitte der drei DL-Sauen und der Piétrain-Sau wurden addiert und durch die Anzahl der Untersuchungstage geteilt. Sie betrug über den Versuchszeitraum 0,42 Einheiten. Die Ergebnisse der drei erfolglos besamten Piétrain-Jungsauen werden im Kapitel 4.2.6 einzeln beschrieben.

In der Abbildung 7 ist der mittlere Grauwert der vier tragenden Jungsauen der Gruppe 1.1b von Tag -2 bis Tag 16 (Tag 0 ist der Tag der Ovulation) abgebildet. Ausgenommen Tag 10 ($p = 0,01$) konnten bis zum Tag 11 keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$) zwischen tragenden und nichttragenden Sauen festgestellt werden. Im Unterschied zu zyklierenden Jungsauen sank der mittlere Grauwert ab Tag 11, um am Tag 13 ein Minimum von $8,9 \pm 0,1$ zu erreichen und bis zum Tag 16 sukzessive anzusteigen. Im Zeitraum von Tag 12-15 zeigten beide Gruppen höchst signifikante Unterschiede ($p < 0,001$), während am Tag 16 wiederum

keine Unterschiede mehr zu erkennen waren ($p > 0,05$). Signifikante Unterschiede zwischen den verglichenen Gruppen sind im Anhang in Form einer Tabelle ausgewiesen.

4.2.3 Ergebnisse der subjektiven Einschätzung der Echogenität

Uteri sowohl tragender wie auch zyklischer Jungsaue wiesen am Tag 3 post ovulationem eine vergleichbare, niedrige mittlere Echogenität auf ($3,3 \pm 0,1$ vs. $3,5 \pm 0,2$). Während bei den Uteri tragender Jungsaue die höchste durchschnittliche Echogenität ($4,5 \pm 0,1$) am Tag 11 zu beobachten war, wurde dies bei zyklischen Tieren am Tag 13 diagnostiziert ($4,9 \pm 0,1$). Wie durch die GSA ermittelt, verringerte sich die Echogenität der Uteri tragender Jungsaue auch bei der subjektiven Beurteilung ab Tag 11, erreichte im Gegensatz zur GSA aber erst am Tag 14 und damit einen Tag später minimale Werte ($4,0 \pm 0,1$). Bei den zyklischen Saue sank die Echogenität wie bei der GSA ab Tag 13. Insgesamt harmonisierten die subjektive Einschätzung der Echogenität und die Ergebnisse der Graustufenanalyse (Abb. 8 und Abb. 9). Die Parameter korrelierten mit $r = 0,65$ ($p < 0,01$) bei tragenden und $r = 0,72$ ($p < 0,01$) bei zyklischen Saue mittelstark bzw. stark.

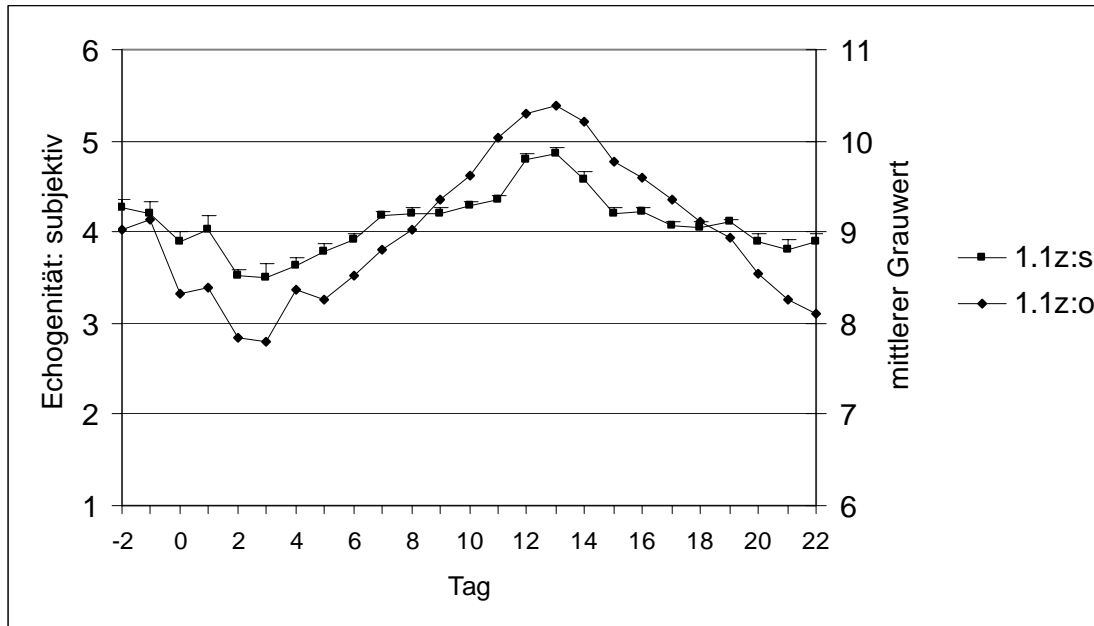


Abb. 8: Mittlere subjektive Echogenität ($1.1z:s, \bar{x} + s \bar{x}$) und mittlere Grauwerte ($1.1z:o, \bar{x}$) bei Jungsaue während des Zyklus ($n = 8$, Tag -2 bis 22) ; Tag 0 = Tag der Ovulation

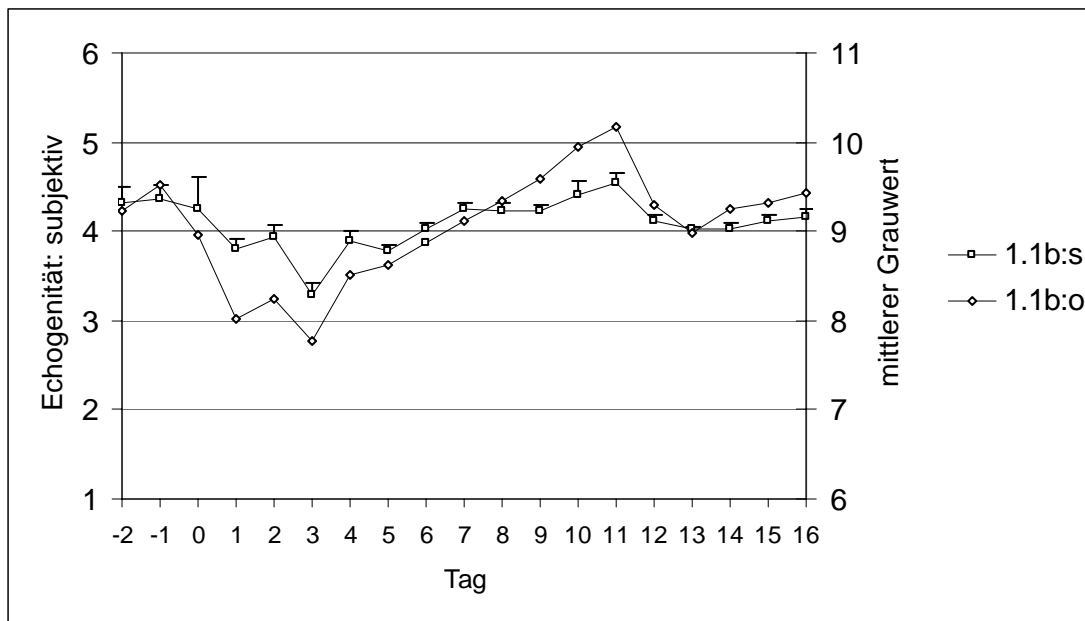


Abb. 9: Mittlere subjektive Echogenität (1.1b:s, $\bar{x} + s\bar{x}$) und mittlere Grauwerte (1.1b:o, \bar{x}) bei Jungsaugen während der frühen Trächtigkeit (n= 4, Tag -2 bis 16); Tag 0 = Tag der Ovulation

4.2.4 Ergebnisse der Flächenmessung der Uterusquerschnitte während des Zyklus und während der frühen Trächtigkeit bei Jungsaugen

Die Mittelwerte der Flächen der Uterusquerschnitte, die mit den Mittelwerten der Flächen der ROI identisch sind, zeigten bei zyklierenden Saugen während des Untersuchungszeitraums deutliche Fluktuationen (Abb. 10). Kleine Flächen wurden an den Tagen 4 ($0,8 \text{ cm}^2 \pm 0,1$; Tag 0 = Tag der Ovulation) und 12 ($1,1 \text{ cm}^2 \pm 0,1$) gemessen, während die Uteri an den Tagen 11 ($1,6 \text{ cm}^2 \pm 0,1$), 15 ($1,9 \text{ cm}^2 \pm 0,3$) und 17 ($1,9 \text{ cm}^2 \pm 0,4$) signifikant größere Flächen aufwiesen. Ab Tag 17 nahm die Querschnittsfläche dann wieder bis Tag 22 ab.

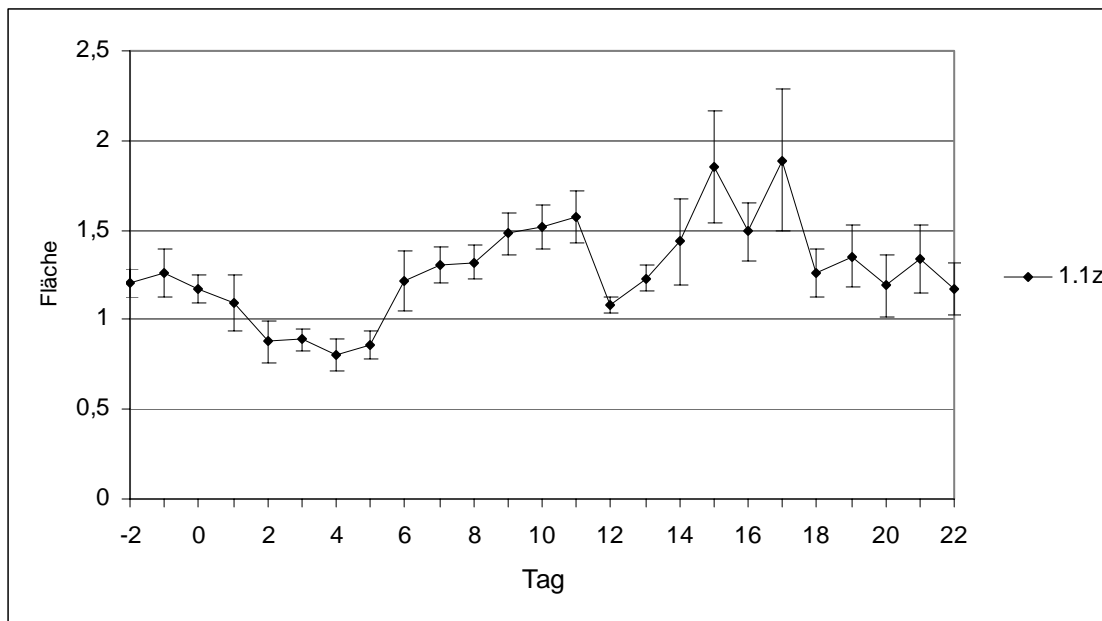


Abb. 10: Mittlere Fläche ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) von Uterusquerschnitten bei Jungsaunen während des Zyklus (1.1z, n = 8, Tag -2 bis 22); Tag 0 = Tag der Ovulation

Ähnlich wie bei zyklisierenden Jungsaunen wiesen auch die Uteri tragender Jungsaunen während des Untersuchungszeitraums unterschiedlich große Uterusflächen auf (Abb. 11). So wurden die Uterusquerschnitte tragender Jungsaunen ab Tag -1 ($1,3 \text{ cm}^2 \pm 0,2$) kleiner und erreichten am Tag 3 ihr Minimum ($0,8 \text{ cm}^2 \pm 0,1$). Anschließend expandierten die Uteri offensichtlich, wiesen am Tag 11 maximale Flächen auf ($2 \text{ cm}^2 \pm 0,2$), um an Tag 15 ($1,1 \text{ cm}^2 \pm 0,1$) ihr zweites Minimum zu erreichen und dann wieder anzusteigen.

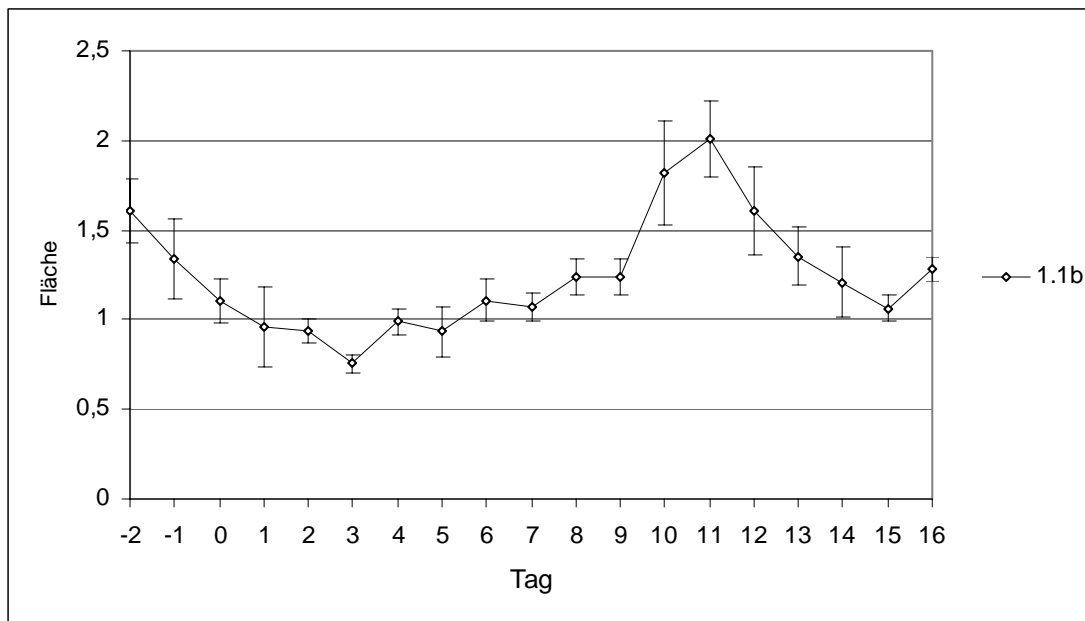


Abb. 11: Mittlere Fläche ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) von Uterusquerschnitten bei Jungsaunen während der frühen Trächtigkeit (1.1b, n = 4, Tag -2 bis 16); Tag 0 = Tag der Ovulation

4.2.5 Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Graustufenanalyse, den Blutplasmakonzentrationen des Estradiol-17 β und Progesteron sowie der Flächenmessung

Zwischen den Grauwerten zyklischer und gravider Jungsaunen und den Estradiol- sowie Progesteronkonzentrationen bestanden nur partiell Korrelationen (Tab. 9). Schwache bzw. sehr schwache, signifikante Korrelationen wurden zwischen den mittleren Grauwerten sowohl zyklischer, als auch tragender Saunen mit den Progesteronkonzentrationen beobachtet. Während die mittleren Grauwerte zyklischer Saunen auch mit den Estradiolkonzentrationen korrelierten, war ein derartiger Zusammenhang für tragende Jungsaunen nicht festzustellen. In keiner der beiden Gruppen bestanden Zusammenhänge zwischen den Blutplasmakonzentrationen des Progesterons sowie Estradiol-17 β und den jeweils ermittelten mittleren Flächen der ROI.

Tab. 9: Ergebnisse der Korrelationsanalyse (Pearson-Korrelation) zwischen den mittleren Grauwerten zyklischer (n = 8) bzw. tragender (n = 4) Sauen und den jeweiligen Blutplasmakonzentrationen an Progesteron und Estradiol-17 β .

Parameter	Progesteron		Estradiol-17 β	
	r	p	r	p
Mittlere Grauwerte zyklischer Sauen ¹	0,40	0,01	0,17	0,05
Mittlere Grauwerte tragender Sauen ²	0,27	0,05	0	n.s.

r = Korrelationskoeffizient, p = Niveau der Signifikanz., ¹ Ermittelt an den Tagen -2 bis 22, ² Ermittelt an den Tagen -2 bis 16; Tag 0 = Tag der Ovulation

Die Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Graustufenanalyse und der Flächenmessung sind in Tabelle 10 dokumentiert. Zwischen der mittleren Fläche der Uterusquerschnitte (die der mittleren Fläche der ROI entspricht) und den mittleren Grauwerten zyklischer Jungsauen bestand ein schwacher, bei tragenden Jungsauen ein mittelstarker signifikanter Zusammenhang.

Tab. 10: Ergebnisse der Korrelationsanalyse (Pearson-Korrelation) zwischen den mittleren Grauwerten zyklischer (n = 8) bzw. tragender (n = 4) Sauen und den jeweiligen mittleren Flächen der Uterusquerschnitte ROI-Flächen

Parameter	Mittlerer Grauwert	
	r	p
Mittlere ROI-Fläche zyklischer Sauen ¹	0,40	0,01
Mittlere ROI-Fläche tragender Sauen ²	0,55	0,01

r = Korrelationskoeffizient, p = Niveau der Signifikanz., ¹ Ermittelt an den Tagen -2 bis 22, ² Ermittelt an den Tagen -2 bis 16; Tag 0 = Tag der Ovulation

4.2.6 Sonderfälle

Alle drei erfolglos besamten Jungsauen wurden als Sonderfälle bewertet. Die Grauwerte dieser Sauen, die denen der graviden bzw. denen der zyklischen Jungsauen ähnelten, sollen in ihren Besonderheiten im Folgenden für jede Sau separat skizziert werden (Abb. 12): Grauwerte, Flächenmessungen und Hormonwerte dieser Sauen wurden nicht in die Gesamtanalyse einbezogen.

Sonderfall 1: Am Tag 1 konnten keine Standbilder erzeugt und Grauwerte ermittelt werden. Auffällig war, dass der Grauwert dieser Sau zwischen den Tagen 10 und 11, wie bei den bisher besprochenen tragenden Sauen zwischen den Tagen 11 und 12, abfiel, um aber am Tag 13, wie bei zyklischen Sauen, ein Maximum zu erreichen. Am Tag 15 wiesen alle darstellbaren Uterusbereiche kleinere Lumina auf, die eine nicht gänzlich anechogene

Flüssigkeit enthielten. Wie in den Versuchsbedingungen festgelegt, erfolgte keine Graustufenanalyse, so dass der entsprechende Grauwert fehlt. Im Gegensatz dazu konnte der Grauwert am darauf folgenden Tag ermittelt werden, da neben flüssigkeitsgefüllten auch solide Uterusbereiche sichtbar waren. Diese Sau rauschte azyklisch um.

Sonderfall 2: Die ermittelten Grauwerte ähnelten denen zyklisierender Jungsauen. Ein Maximum wurde an Tag 14 erreicht. Am Tag 15 konnte keine Grauwertanalyse durchgeführt werden, da die Jungsau nicht ausreichend zu immobilisieren war. Von Tag 14 auf Tag 16 fielen die Grauwerte ab. Diese Sau rauschte zyklisch um.

Sonderfall 3: Bei dieser Sau war auffallend, dass am Tag 11 niedrigere Grauwerte als am Vortag ermittelt wurden, die dann sofort innerhalb der nächsten 2 Tagen wieder anstiegen. Diese Jungsau ähnelt damit Sonderfall 1, ohne dass jedoch deren Ausmaß in der Schwankung der Absolutwerte erreicht wurde. Die Sau rauschte zyklisch um.

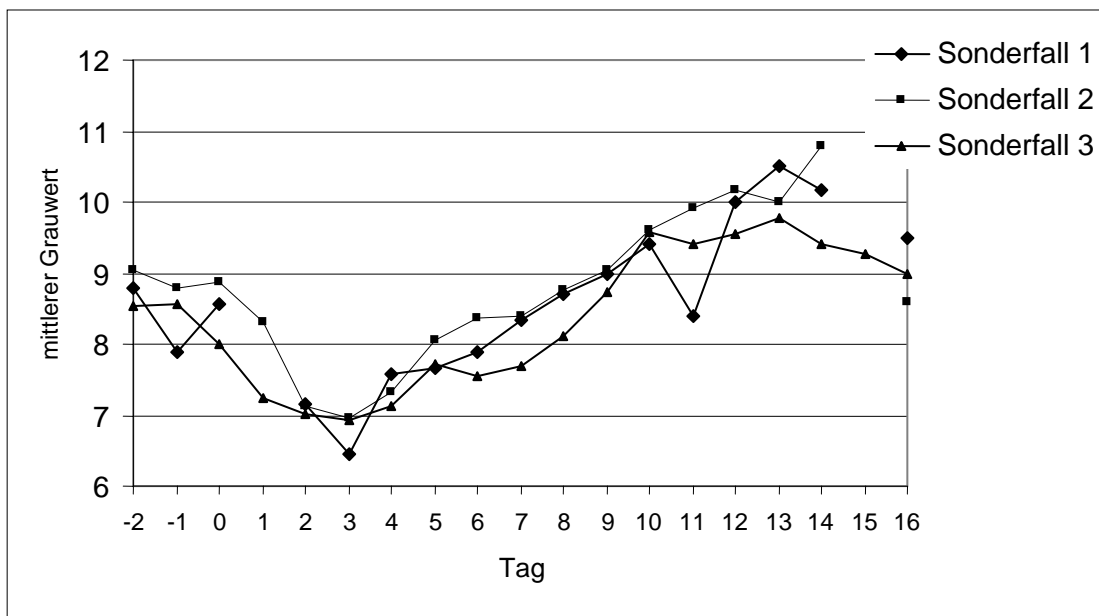


Abb. 12: Mittlere Grauwerte (\bar{x}) von Uterusquerschnitten bei erfolglos besamten Jungsauen (1.1b, n = 3, Tag -2 bis 16); Tag 0 = Tag der Ovulation

4.3 Ergebnisse der Versuchsdurchgänge 2-4

4.3.1 Ergebnisse der Graustufenanalyse bei gekreuzten und reinrassigen Jungsauen an ausgewählten Tagen des Sexualzyklus bzw. der Trächtigkeit

Wie die zyklisierenden Jungsauen der Gruppe 1.1z wiesen auch die neun Jungsauen der Gruppe 2.1z, die Kreuzungstiere waren (DE/DL) und an den Zyklustagen 7 bis 16 (Tag 0 = Tag der

Ovulation) untersucht wurden, einen mittleren Grauwert auf, der beginnend am Tag 7 stetig anstieg, sein Maximum an Tag 13 erreichte und anschließend wieder sank (Abb. 13).

Neun tragende Jungsaugen gleicher Kreuzung wurden an den Tagen 8 bis 16 (Gruppe 2.1b), vier weitere, allerdings reinrassige Tiere (DL; Gruppe 2.2b) zwischen den Tagen 7 bis 16 der Trächtigkeit untersucht: Die Grauwerte der beiden Populationen (2.1b, 2.2b) verhielten sich identisch: Bis zum Tag 11 stiegen die Grauwerte wie bei den zyklierenden Jungsaugen der Gruppen 1.1z und 2.1z an, sanken dann allerdings bis Tag 13, um anschließend wieder anzusteigen. Gleiche Dynamik wiesen die Grauwerte der tragenden Jungsaugen der Gruppe 1.1b auf. Vergleicht man die Grauwerte der tragenden Jungsaugen aller 3 Gruppen (1.1b, 2.1.b und 2.2b), ist auffällig, dass die mittleren Grauwerte der Jungsaugen der Gruppe 2.1b an fast allen Tagen niedriger als die der beiden anderen Gruppen waren.

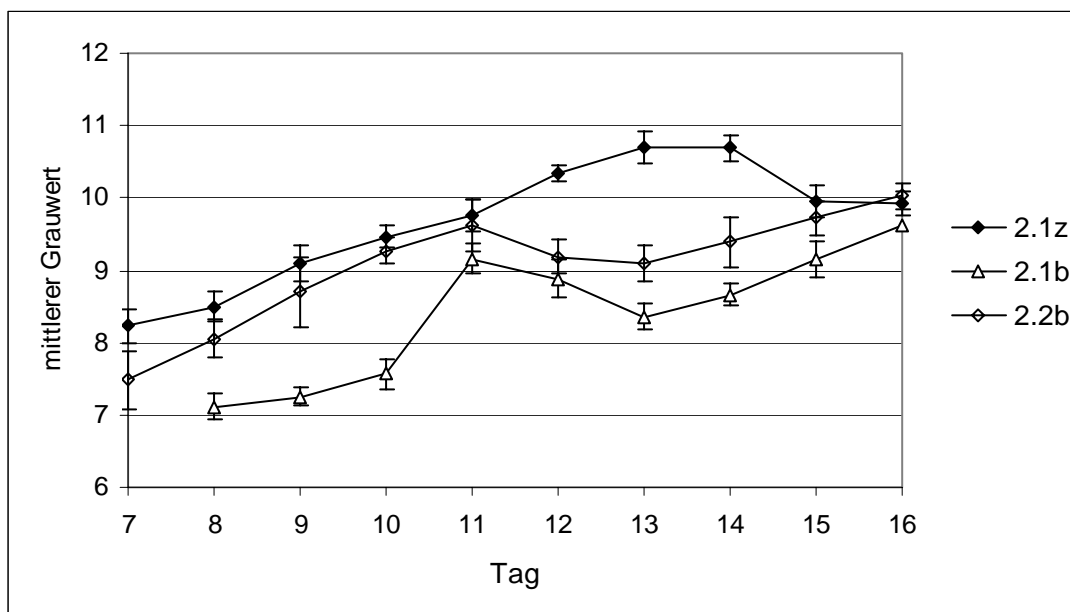


Abb. 13: Mittlere Grauwerte ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) von Uterusquerschnitten bei gekreuzten Jungsaugen an ausgewählten Tagen des Zyklus (2.1z, n = 9, Tag 7 bis 16) bzw. reinrassigen (2.2b, n = 4, Tag 7 bis 16) und gekreuzten (2.1b, n = 9, Tag 8 bis 16) Jungsaugen an ausgewählten Tagen der frühen Trächtigkeit; Tag 0 = Tag der Ovulation; Ergebnisse des Signifikanztests (t-Test) siehe Anhang

4.3.2 Ergebnisse der Graustufenanalyse bei reinrassigen Altsauen an ausgewählten Tagen der Trächtigkeit

Alle sechs untersuchten pluriparen (Gruppe 3b) und zehn primiparen (Gruppe 4b) Altsauen gehörten der Rasse Deutsche Landrasse an und wurden zwischen den Tagen 7 und 16 der Trächtigkeit untersucht (Abb. 14). Die Dynamik ihrer mittleren Grauwerte war ähnlich: Die

mittleren Grauwerte stiegen bis zum Tag 11, sanken bis zum 12. Trächtigkeitstag stark (Gruppe 4b) bzw. moderat (Gruppe 3b), um bereits am 13. (Gruppe 4b) oder erst am 14. Tag (Gruppe 3b) wiederholt bis zum Tag 16 anzusteigen. Während sich die mittleren Grauwerte tragender Altsauen der Gruppe 3b und die tragender Jungsaunen (Gruppen 1.1b, 2.1b, 2.2b) nur punktuell unterschieden, waren die meisten der für die Altsauen der Gruppe 4b ermittelten Grauwerte niedriger als die jeweils korrespondierenden Werte aller anderen graviden Tiere (Gruppen 1.1b, 2.1b, 2.2b, 3b).

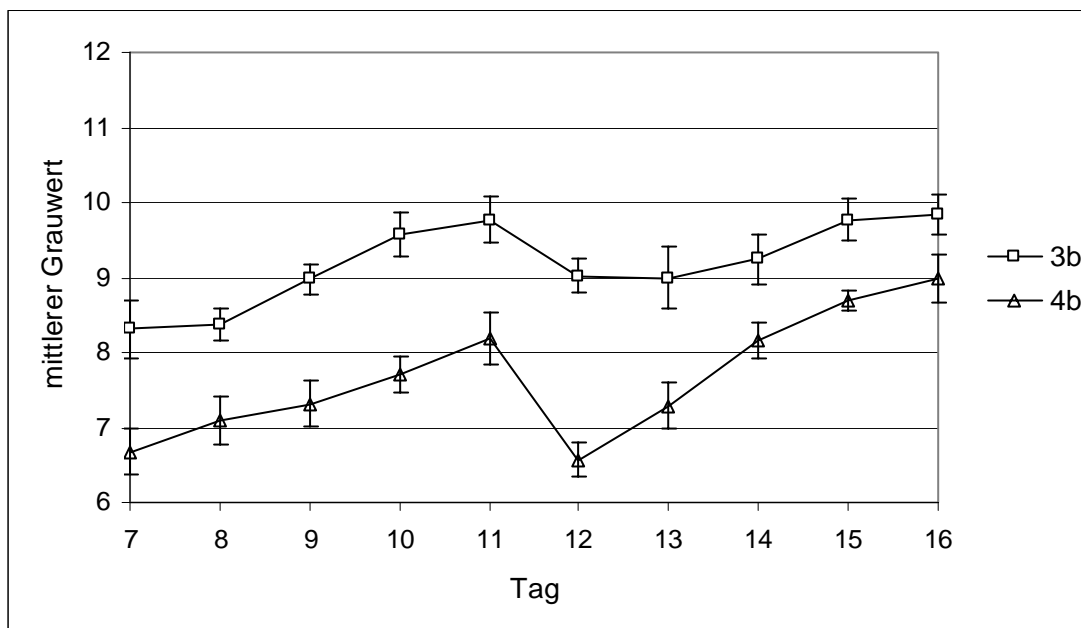


Abb. 14: Mittlere Grauwerte ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) von Uterusquerschnitten bei reinrassigen Altsauen an ausgewählten Tagen der frühen Trächtigkeit (3b: n = 6; 4b: n = 10; Tiere beider Gruppen wurden zwischen den Tagen 7 und 16 untersucht); Tag 0 = Tag der Ovulation; Ergebnisse des Signifikanztests (t-Test) siehe Anhang

4.4 Ergebnisse der Graustufenanalyse bei Jung- und Altsauen am Tag 12 der Trächtigkeit

Basierend auf den Resultaten der Trächtigkeitsuntersuchungen ab Tag 21 durch den ultrasonographischen Nachweis von Fruchtwasser und Konzepten (als „Goldstandard“ definiert), wurde mit einer ROC-Analyse (Abb. 15) geprüft, ob sich die Graustufenanalyse von Uterusquerschnitten an Tag 12 (Tag 0 = Tag der Ovulation) zur Erkennung tragender bzw. nicht tragender Sauen eignet. In die Analyse wurden die Ergebnisse von 51 Sauen der Versuchsgruppen 1 bis 4 und die von 53 eigens zu diesem Zweck untersuchten Tieren (Gruppe 5) einbezogen. Es wurden die mittleren individuellen Grauwerte am Tag 12 berücksichtigt (Gruppen 1 bis 4) bzw. ermittelt (Gruppe 5). Die Wahl des Zeitpunktes ergibt

sich aus der Tatsache, dass tragende und nicht tragende Gruppen ab Tag 11 verschiedene Kurvenverläufe in ihren Grauwerten zeigen und sich die Absolutwerte an Tag 12 auffallend unterscheiden.

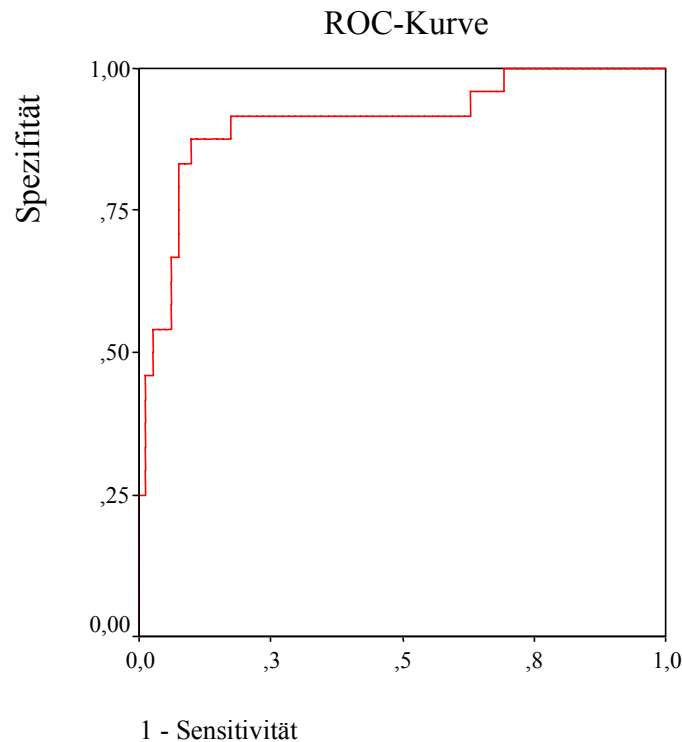


Abb. 15: ROC Analyse der Mittelwerte der Graustufen von 104 Sauen an Tag 12

Aus den Quelldaten der Kurve (Anhang: Tabelle 2) können die Sensitivität und die Spezifität der Methode bei einem bestimmten Schwellenwert abgelesen werden. Bei einem Schwellenwert von 9,55 erreichen Spezifität und Sensitivität ihre in Kombination höchsten Werte von 0,917 bzw. 0,827. Die Fläche der AUC beträgt 0,909. Der positive Ist-Zustand ist tragend.

In der nun folgenden ROC-Analyse (Abb. 16), es wurden wiederum die Mittelwerte der Graustufenanalyse der Einzeltiere an Tag 12 analysiert, wurden azyklische Umrauscher nicht mit in die Berechnung einbezogen. Es zeigte sich eine Vergrößerung der AUC um 0,053 auf 0,962, was gleichbedeutend ist mit einer Erhöhung der Sensitivität und Spezifität. Hier wurde bei gleichem Schwellenwert von 9,55 eine Spezifität von 1 und eine Sensitivität von 0,827 erreicht (Koordinaten siehe Anhang: Tabelle 3). Das Ansteigen der Spezifität auf 1 ergab sich daraus, dass die Anzahl der Sauen, die als „richtig negativ“ eingestuft wurden (der positive Ist-Zustand ist tragend), sich nicht verändert hatte und die Anzahl der „falsch positiven“

Sauen, also derjenigen Sauen, welche fälschlicherweise als tragend beurteilt wurden, sich verringerte.

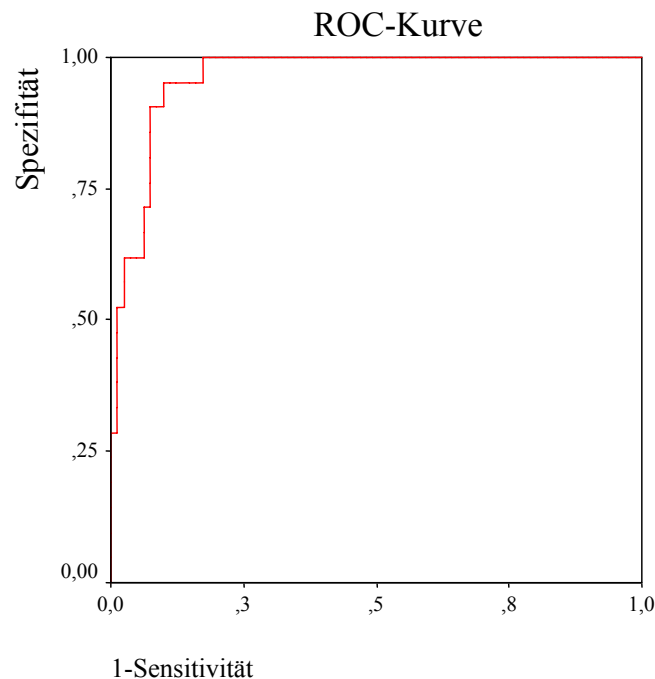


Abb. 16: ROC-Analyse der Mittelwerte der Graustufen von 102 Sauen an Tag 12

4.5 Sonstige Anzeichen einer frühen Gravidität

Bei den 33 als tragend beurteilten Sauen der Versuchsgruppen 1 bis 4 war Flüssigkeit im Uterus ein weiteres Anzeichen einer frühen Gravidität. Erstmals konnte Flüssigkeit bei einzelnen (3,0 %) Sauen am Tag 9 (Tag 0 = Tag der Ovulation) erkannt, als Standbild aber erst am Tag 10 dokumentiert werden (Abb. 17). Wie aus der Abbildung 18 zu entnehmen, stieg die Anzahl der Sauen mit nachweisbarer Flüssigkeit im Uterus von Tag 9 bis Tag 12 an, um am Tag 13 wieder abzufallen. Ab Tag 13 war ein stetiger Anstieg zu verzeichnen. Am Tag 16 konnte bei 93,9 % (31 von 33 Tieren) der Tiere Flüssigkeit in den Uterusquerschnitten nachgewiesen werden.

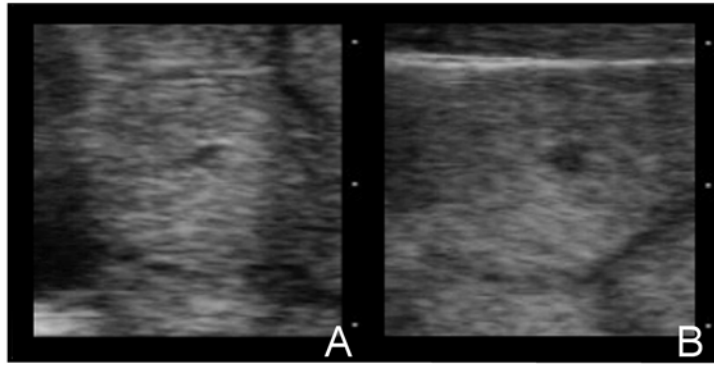


Abb. 17: Sonographische Darstellung von Uterusquerschnittsflächen mit kleinem, flüssigkeitsgefülltem Lumen von zwei tragenden Sauen (A, B) am Tag 10 (Skalierung rechts in 1cm)

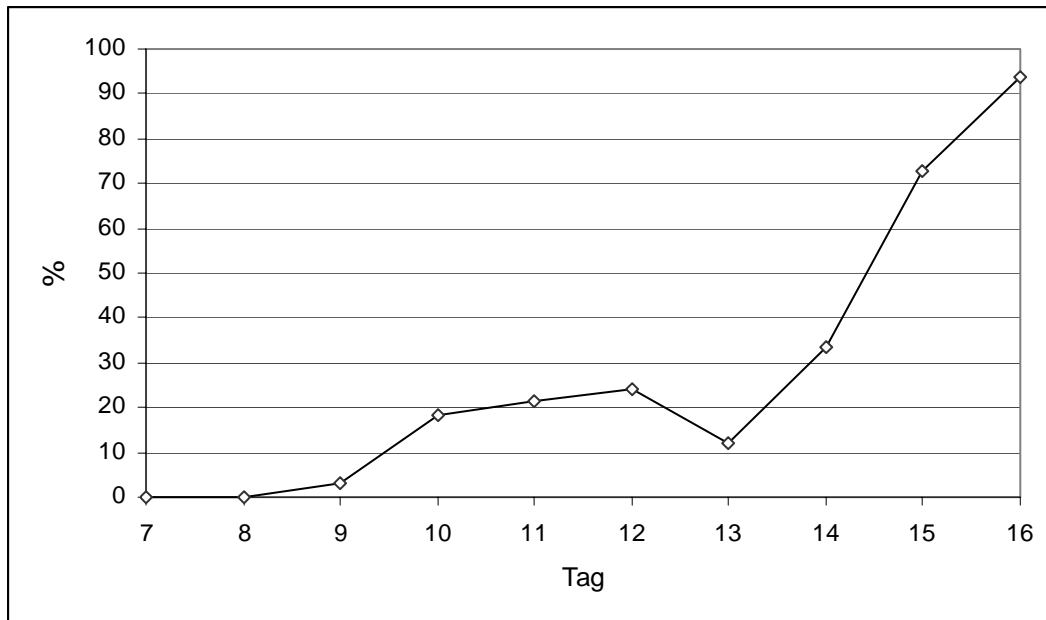


Abb. 18: Anteil tragender Sauen mit Flüssigkeit im Uterus bei Untersuchungen an den Tagen 7 bis 16

5 DISKUSSION

In dieser Arbeit wurde der Uterus des Schweines in der frühen Gravidität sowie während des Zyklus sonographisch untersucht und charakterisiert. Dabei wurden erstmalig Graustufenanalysen durchgeführt, um die uterine Echogenität zu beschreiben. Graustufenanalysen zur Charakterisierung uteriner Strukturen sind vom Pferd (LORBER 1999, POPPE 2002), Rind (SCHMAUDER 2003, BERTMANN et al. 2004) und vom europäischen Reh (HERMES et al. 1997) bekannt. Intention zur Wahl dieses Verfahrens war, bisher nur subjektiv Erfassbares zu objektivieren, Fehler durch Variationen in der subjektiven Interpretation zu vermeiden und eine Erhöhung der Genauigkeit in der Befunderhebung zu erreichen. Es sollte überprüft werden, ob sich die sonographische Graustufenanalyse zur Frühträchtigkeitsdiagnose beim Schwein eignet. Sollte mit diesem Verfahren eine Frühträchtigkeitsdiagnose möglich sein, wäre es eine geeignete Methode zum Studium früher totaler embryonaler Fruchtverluste beim Schwein.

5.1 Methodische Überlegungen

5.1.1 Einfluss der Untersuchungsprozedur auf die Darstellbarkeit des Uterus und Bemessung der Anzahl der ROI's

Der Uterus kann beim Schwein sonographisch sowohl transrektal als auch transkutan dargestellt werden (MILLER et al. 2003), wobei die transrektale Sonographie arbeitsaufwendiger als die transkutane Variante ist (KEMP und SOEDE 1995). Bei der transrektalen Sonographie wird der Schallkopf manuell geleitet (CARTEE et al. 1985, NISSEN et al. 1995, MORIYOSHI et al. 1996a) oder adaptiert an eine Führungsschiene (FRAUNHOLZ et al. 1989, KNOX et al. 2004) in das Rektum eingeführt. Jungsauen lassen sich im Gegensatz zu Altsauen deshalb überwiegend nicht manuell rektal untersuchen, da ihre Becken zu eng für die Passage der menschlichen Hand sind (HUCHZERMEYER und PLONAIT 1960, FRAUNHOLZ 1988, BOSTEDT 1993, SOEDE et al. 1994, KEMP et al. 1995).

Die für die avisierte Graustufenanalyse optimale Prozedur inklusive der Geräteeinstellung wurde in eigenen Vorversuchen eruiert. Die transrektale Prozedur wurde mit der transkutanen verglichen und mehrere Frequenzen (5,0, 7,5 und 10,0 MHz) überprüft. Angestrebt war, die Konstellation zu finden, bei der sowohl Uterusquerschnitte in größtmöglicher Anzahl als auch filigrane endometriale Strukturen dargestellt werden können. Während endometriale Strukturen mit keiner der oben genannten Prozeduren bzw. Frequenzen abgebildet werden konnten, gelang die Darstellung der meisten Uterusquerschnitte dann, wenn die Sauen

transkutan mithilfe eines 5 MHz-Linearschallkopfes sonographisch untersucht wurden. Diese Prozedur wurde deshalb für die eigenen Untersuchungen gewählt. Auf die Beurteilung endometrialer Strukturen musste aus oben genannten Gründen verzichtet werden.

Bei ingraviden Pferden und Rindern befindet sich der Uterus in der Becken- bzw. Bauchhöhle in relativ konstanter Position (DYCE et al. 1997). Der gynäkologisch intakte ingravide Uterus ist transrektal in Gänze bei Pferd (HUSKAMP et al. 1999, BAUMGARTNER 1999) und Rind (GRUNERT 1990, BAUMGARTNER 1999) ertastbar und sonographisch vollständig zu untersuchen. Sonographische Bilder von Uterusquerschnitten sind bei beiden Spezies problemlos zu generieren. Ähnlich leicht zugänglich sind die Hoden. So ist es verständlich, dass in Untersuchungen zur Erfassung der endometrialen Echogenität bei Pferd und Rind ohne Komplikationen gleichviele Uterusanschnitte (damit auch ROI's) je Tier und Untersuchungstermin analysiert werden konnten (LORBER 1999, SCHMAUDER 2003) und Gleiches auch bei Untersuchungen des Hodens bei Hund (HÖHNE 2002) und Bulle (GRAUE 2002) gelang. Eine gleichbleibende Anzahl von ROI's je Tier und Tag war in dieser Studie jedoch nicht zu realisieren: Die Gründe dafür sind vielfältig und sowohl in der Anatomie der Geschlechtsorgane beim Schwein als auch in dessen Temperament begründet. Bei geschlechtsreifen ingraviden Jungsaunen und bei Altsaunen sind beide Uterushörner lang, beweglich aufgehängt und z. T. weitflächig im Abdomen, häufig auch zwischen Darmschlingen platziert (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995). Die Lage des ingraviden aber auch frühgraviden Uterus ist beim Schwein somit variabel (DYCE et al. 1997). Dadurch variieren sowohl Schallfenster, d. h. die transkutan sonographisch darstellbaren Uterusanteile als auch die Anzahl der für eine Graustufenanalyse geeigneten Uterusquerschnitte je Sau. Dass nur Uterusquerschnitte mit bestimmter Distanz zum Schallkopf (definierte Fokusposition) analysiert werden konnten, trug zusätzlich zur individuellen Bemessung der Anzahl analysierter ROI's bei. Letztlich ist das Schwein ein temperamentvolles und neugieriges Tier und besitzt damit Charakterzüge, die einer sonographischen Untersuchung abträglich sind. In älteren Studien (FRAUNHOLZ 1988) wird die transkutane Sonographie zudem als ein Verfahren beschrieben, das nur bedingt von Sauen toleriert wird. Tatsächlich bewegten sich die Sauen mehr oder weniger heftig während der Untersuchung, so dass es nicht immer gelang, Uterusquerschnitte in einer ausreichenden Anzahl und einer Qualität dazustellen, die eine Graustufenanalyse erlaubte. Aus Gründen der Praktikabilität und Intention der Untersuchungen wurde im Gegensatz zu Studien mit anderen temperamentvollen Tierarten wie dem Reh (HERMES et al. 1997) oder früheren Untersuchungen am Schwein (HEINRITZI und BEISL 1995) darauf verzichtet, die Tiere

medikamentös zu immobilisieren. Die gelegentlich empfohlene zeitgleiche Fütterung der Sauen (FRAUNHOLZ 1988) zur partiellen Immobilisation schlug fehl, da Fressakt-bedingte Bewegungen nicht zu eliminieren waren. Die durchschnittliche Anzahl letztlich auswertbarer Uterusquerschnitte bzw. ROI's pro Tier und Tag betrug 6,4 bei einer Standardabweichung von 2,1.

5.1.2 Einfluss des Untersuchers auf die Größe der ROI's und deren errechnete Echogenität

Wie beschrieben, wurden in dieser Arbeit immer nur solche Uterusschlingen vermessen, die bei transkutaner Untersuchung in der rechten Inguinalgegend in der vorgegebenen Fokuszone darstellbar waren. Neben einer dadurch provozierten Limitierung der Anzahl auswertbarer Bilder pro Tag und Tier ist nicht ausgeschlossen, dass davon abseits platzierte, gut abgrenzbare Uterusschlingen mit anderer Echogenität und/oder Größe unberücksichtigt blieben. Andererseits ist anzuzweifeln, dass die Ergebnisse wesentlich dadurch beeinflusst wurden.

Wie vormals dokumentiert (Kapitel 3.2.2), werden Lage und Grenzen der ROI's durch den Untersucher bestimmt (ZIELKE et al. 1985). Gleiches erfolgte in dieser Studie immer durch denselben Untersucher. Die retrospektive Analyse digitalisierter Standbilder mit und ohne ROI verdeutlicht, dass bei der Definition uteriner ROI's übereinstimmend auf die Berücksichtigung einer unregelmäßig konturierten „Übergangszone“ zwischen Uterusquerschnitten und umliegendem Gewebe verzichtet wurde. Dieser Hinweis erscheint deshalb bemerkenswert, da diese Übergangszone meist anechogener als die ROI war und bei Berücksichtigung den Grauwert verringert hätte.

5.1.3 Vergleichbarkeit der Tiere, Ovulationszeitpunkt

Trotz der heutigen technischen Möglichkeiten, wie z. B. automatischer „time-gain-compensation“ (TGC) bzw. „depth-gain-compensation“ (DGC), spielt das Gewebe zwischen Schallkopf und der zu untersuchenden Struktur bei der Objektivierung und Reproduzierbarkeit von GS-Analysen insbesondere dann eine entscheidende Rolle, wenn keine oberflächlichen Gewebe untersucht werden. In dieser Studie wurde deshalb versucht, mögliche Einflussfaktoren auf die Ergebnisse zu identifizieren und zu eliminieren. Dazu gehörte, den Einfluss von Haut- und Fettdicke dadurch zu minimieren, dass Tiergruppen gleicher Alters- und Gewichtsstufen gebildet wurden. Der potentielle Einfluss vorangegangener Trächtigkeiten und der Rasse wurde zunächst durch die Untersuchung von Jungsaugen gleicher Rasse ausgeschlossen. Letztlich wurden Ergebnisse generiert, die es

erlaubten, den Einfluss der Rasse, des Körpergewichtes und der Anzahl vorangegangener Trächtigkeiten zu eruieren.

Die Beurteilung des Ovulationsverhaltens erfolgte in Anlehnung an WEITZE et al. (1989) und KAUFFOLD et al. (2004b,c). Eine Sau galt als „präovulatorisch“, wenn ausschließlich Graafsche Follikel (7 – 9 mm im Durchmesser) zu erkennen waren. Konnten zusätzlich Corpora haemorrhagica dargestellt werden, wurde die Sau als „in der Ovulation“ beurteilt. Waren ausschließlich Corpora haemorrhagica vorhanden, hatte die Sau ovuliert (post ovulationem).

SOEDE et al. (1998) untersuchten die Ovulationsdauer bei Sauen und kamen zu dem Ergebnis, dass die Länge der Ovulation in keiner Abhängigkeit dazu stand, ob die Sauen besamt wurden, ob sie unter Stressbedingungen gehalten wurden oder ob eine Brunstsynchronisation durchgeführt wurde. Insofern ist ein Einfluss der unterschiedlichen Haltungsformen und Synchronisationsverfahren auf die Ovulation der Tiergruppen in dieser Arbeit nicht wahrscheinlich und die in dieser Arbeit getroffene Gruppierung der Sauen zulässig.

5.2 Ergebnisse der sonographischen Untersuchung zyklrierender und tragender Sauen

In vorherigen Arbeiten bei Rind und Pferd wurde die Echogenität des Endometriums während des Zyklus ermittelt und als Resultat eines unterschiedlichen Grades endometrialer Ödematisierung (das Verhältnis von interzellulärer Flüssigkeit zur Zelldichte) interpretiert (LORBER 1999, SCHMAUDER 2003). In dieser Arbeit waren die einzelnen Schichten des Uterus nicht diskriminierbar, so dass die Echogenität des gesamten Uterusquerschnittes analysiert wurde. Die hier ermittelten Grauwerte reflektieren somit die Echogenität von Myometrium und Endometrium, während perimetriale Anteile vermutlich kaum oder gar nicht Berücksichtigung fanden (Kapitel 5.1.1, 5.1.2). In welchem Ausmaß einzelne Uterusschichten durch die ROI im Rahmen der Größenbeurteilung erfasst wurden, ist somit ebenfalls schwer beurteilbar. SCHNURRBUSCH und ERICES (1979) wiesen nach, dass das Myometrium von Jungsaunen während der ersten 3 Sexualzyklen weder in seiner Dicke noch in seiner histologischen Architektur signifikanten zyklusabhängigen Schwankungen unterliegt. Bekannt ist aber, dass der Uterus zyklusabhängig mehr oder weniger stark kontraktile ist. Eine erhöhte Kontraktilität wurde im Östrus, weniger starke Kontraktionen im Diöstrus nachgewiesen (TORIUMI et al. 2003). Derartiges mag die Echogenität uteriner Strukturen beeinflusst haben, ohne in dieser Studie unter Anderem aufgrund der fehlenden Diskriminierbarkeit uteriner Strukturen explizit bemerkt worden zu sein. So interpretierten

schon KAUFFOLD et al. (1997) stark echogene Uterusquerschnitte im Östrus als kontrahierte Uterusabschnitte.

Entscheidender als das Myometrium werden das Endometrium und seine zyklischen Veränderungen die Ergebnisse, allen voran die der Grauwertanalyse, beeinflusst haben. Das Endometrium unterliegt erheblichen zyklusabhängigen Veränderungen (LIEBICH 1993). Variationen in der Anzahl und Art der Immunzellen, wie sie von DALIN et al. (2004) beschrieben wurden, werden von eher nebensächlicher Bedeutung für die Ergebnisse dieser Studie sein.

Als viel entscheidender sind Veränderungen im Ausmaß der endometrialen Ödematisierung anzusehen. Histologische Untersuchungen von KAEOKET et al. (2001a,b) dokumentieren erstmalig nachvollziehbar, dass die endometriale Ödematisierung starken individuellen Schwankungen unterliegt (d. h., dass Tiere z. B. im Proöstrus ein ausgeprägtes oder aber nur moderates endometriales Ödem aufweisen können) und zyklusabhängig variiert: Die endometriale Ödematisierung fehlt im frühen Diöstrus, während sie in allen anderen Zyklusphasen zu beobachten ist. Tiere im Proöstrus weisen ein moderates, solche im Östrus, aber auch Metöstrus ein markantes endometriales Ödem auf. Interessant ist, dass selbst Tiere im späten Diöstrus, vermutlich aufgrund einer lokalen estrogenen Wirkung, leichte endometriale Ödeme ausprägen können. Ähnliche Beobachtungen machten auch andere Autoren (SCHNURRBUSCH und ERICES 1979), ohne diese in nachvollziehbarer Präzision darzulegen. Schon vormals konnte sonographisch beobachtet werden, dass die uterine Echotextur zyklusabhängigen Schwankungen unterliegt (DE RENSIS et al. 2000, MARTINAT-BOTTÉ et al. 2000, KAUFFOLD et al. 2006). In genannten Arbeiten wurde die Echotextur anhand der Anzahl und Regelmäßigkeit echogleicher Areale subjektiv beurteilt und entsprechend graduiert (i. d. R. homogen bis stark heterogen). Es wurde festgestellt, dass Uteri im Östrus heterogen texturiert waren, während im Diöstrus Uteri mit homogener Echotextur dominierten (MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998, DE RENSIS et al. 2000, KAUFFOLD et al. 2004c). Durch histologische Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Texturveränderungen mit Veränderungen des endometrialen Ödematisierungsgrades einhergingen und Uteri mit stark heterogener Echotextur ausgeprägte endometriale Ödeme aufwiesen (KAUFFOLD et al. 2005).

Die Ergebnisse der Grauwertanalyse dieser Studie reflektieren die oben resümierten Resultate histologischer und sonographischer Untersuchungen einprägsam. Niedrige Grauwerte wurden im Östrus und in der Anfangsphase des Metöstrus beobachtet, in solchen Zyklusphasen also, in denen die endometriale Ödematisierung ausgeprägt ist (SCHNURRBUSCH und ERICES

1979, KAEOKET et al. 2002) und heterogen texturierte Uteri dominierten (MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998, DE RENSIS et al. 2000, KAUFFOLD et al. 2004c). Hohe Grauwerte wurden hingegen im Diöstrus und damit in einer Phase des Sexualzyklus ermittelt, in der die endometriale Ödematisierung fehlt (SCHNURRBUSCH und ERICES 1979, KAEOKET et al. 2002) und Uteri eine homogene Echotextur haben (MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998, DE RENSIS et al. 2000, KAUFFOLD et al. 2004c).

Zwischen den mittleren Grauwerten der Uteri zyklischer Sauen (Gruppe 1.1.z) und den korrespondierenden Progesteronkonzentrationen im Blutplasma bestand ein schwacher, signifikant positiver Zusammenhang ($r = 0,4$; $p = 0,01$). Gleicher Zusammenhang ist vom Rind ($r = 0,59$; $p < 0,01$; SCHMAUDER 2003) und von der Stute (LORBER 1999) bekannt. Der Zusammenhang besagt, dass hohe Grauwerte dann auftreten, wenn die Progesteronkonzentration hoch ist und vice versa. Da Progesteron in hohen Konzentrationen im Diöstrus und damit in einer Zyklusphase vorkommt, in der die endometriale Ödematisierung fehlt und Uteri homogen texturiert sind, reflektieren die diöstrischen hohen Grauwerte die phasenspezifische geringe endometriale Ödematisierung.

Im Gegensatz zum Progesteron korrelierten Grauwerte und Estrogenkonzentrationen nur sehr schwach ($r = 0,17$, $p = 0,05$). Beim Rind wurde keine Korrelation beobachtet (SCHMAUDER 2002). Dennoch erstaunt die minimale Korrelation. Es wurde erwartet, dass das physiologisch in Phasen hoher Estrogenkonzentrationen ausgeprägte endometriale Ödem in einer adäquat niedrigen uterinen Echogenität resultieren würde. Die geringe Korrelation zwischen Estrogenkonzentrationen und Grauwerten ist schwer erklärbar, mögliche Ursachen im Folgenden kurz erwähnt: 1) Messfehler: Sie sind nicht gänzlich auszuschließen und möglicherweise in der Auswahl nur bedingt repräsentativer Uterusquerschnitte begründet. 2) Fluktuationen der Blutplasmakonzentrationen im Diöstrus und damit in einer Zyklusphase, in der Progesteron hohe Konzentrationen aufweist und die Grauwerte hoch sind. 3) Lokale Wirkung von Estradiol, ohne dass im peripheren Blut erhöhte Konzentrationen festzustellen sind. ROJANASTHIEN et al. (1988) vermuteten einen derartigen Mechanismus im späten Diöstrus.

Die Uterusquerschnittsflächen zyklischer Jungsaunen (Gruppe 1.1.z) fluktuierten unregelmäßig, ohne dass eindeutige Trends zu erkennen bzw. phasenspezifische Größen zu definieren waren. Erstaunlich ist, dass im Diöstrus Flächen ermittelt wurden, die z. T. größer als die im Östrus waren. In früheren einschließlich kürzlich erschienenen Arbeiten wird berichtet, dass Uteri im Östrus aufgrund der durch die Entwicklung des endometrialen Ödems verursachten Expansion wesentlich größere Flächen als die aufweisen, die im Diöstrus oder –

endokrinologisch aufgrund niedriger Estradiolkonzentrationen vergleichbar – nach dem Absetzen ermittelt werden können (KAUFFOLD et al. 2004c). Geschilderte Beobachtung korrespondiert mit Angaben morphometrischer Messungen, wonach Uteri östrischer Sauen dicker als solche waren, die sich im Diöstrus befanden (SCHNURRBUSCH und ERICES 1979). Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen dieser und zitierter Studien (KAUFFOLD et al. 2004c) ist wiederum schwer erklärbar. Die Verschiedenartigkeit der Verfahren zur Ermittlung der Querschnittsflächen und Kriterien bei der Auswahl der zu messenden Bereiche gehören zu den plausibelsten Gründen. So wurden die Uterusquerschnittsflächen in dieser Studie durch die Fläche der ROI's repräsentiert und nach deren zirkulärer Markierung durch eine im Ultraschallgerät integrierte Software errechnet. Im Gegensatz dazu wurden die Uterusquerschnittsflächen in vorherigen Untersuchungen in ihrer maximalen und minimalen Ausdehnung ausgemessen und deren Flächeninhalt mithilfe der mathematischen Formel für Ellipsen berechnet (KAUFFOLD et al. 2004c). Zum anderen wurde in dieser Studie, wie bereits oben erwähnt, stringent vermieden, „Übergangszonen“ als Teil der ROI's zu definieren. In anderen Studien erfolgte vermutlich keine derartig strenge Auswahl. Letztlich ist nicht auszuschließen, dass in dieser Studie bei östrischen Tieren vor allem „kontrahierte“, gut diskriminierbare Uterusquerschnitte gewählt wurden, während in anderen Studien dahingehend Kompromisse zugelassen waren. Unabhängig von möglichen Ursachen erscheint es allein anhand des fluktuierenden Verlaufs der Uterusquerschnittsfläche plausibel, dass keine Korrelationen zwischen diesem Parameter und den Blutplasmakonzentrationen des Progesterons sowie Estradiol bestanden.

Bis zum Tag 11 wurden bei den tragenden Jungsauen Grauwerte der Uteri ermittelt, die denen zyklischer Jungsauen glichen. Danach waren allerdings deutliche Unterschiede zu beobachten. Am Tag 12 und 13 fielen die uterinen Grauwerte tragender Jungsauen markant ab, blieben bis zum Tag 14 auf vergleichsweise niedrigem Niveau, um danach anzusteigen und ab Tag 16 wieder Grauwerte wie die zyklischer Sauen aufzuweisen.

Interessant ist, dass zeitgleich zum Abfall der Grauwerte am Tag 12 embryonale Estrogene im Uteruslumen akkumulieren (PERY et al. 1976, GEISERT et al. 1990), so dass ein kausaler Zusammenhang zu vermuten ist. Estrogene bewirken bei zyklischen Sauen eine Ödematisierung des Endometriums (SCHNURRBUSCH et al. 1988), die sich sonographisch in einer Heterogenisierung der uterinen Echotextur äußert (KAUFFOLD et al. 2006). Da histologische Untersuchungen unterblieben und die internationale Literatur dahingehend

unergiebig ist, bleibt fraglich, ob eine adäquate endometriale Ödematisierung bei den tragenden Sauen auftrat. Je höher der Anteil an Gewebsflüssigkeit, desto geringer ist die Echogenität eines Gewebes und vice versa (GLADISCH 1992).

Obwohl nur zu vermuten, mag eine gesteigerte Permeabilität uteriner Gefäße bei tragenden Sauen ab Tag 12 der Trächtigkeit zu einer verminderten uterinen Echogenität beigetragen haben, da Flüssigkeit vermehrt in den extravasalen Raum, d. h. in das Uterusgewebe gelangte (KEYS et al. 1986). Bei zyklierenden Sauen bleibt diese Permeabilität zwischen den Tagen 11 und 19 des Sexualzyklus konstant. Inwieweit eine veränderte Uterusperfusion zudem die uterine Echogenität modellierte, bleibt spekulativ. FORD et al. (1982) fanden, dass der arterielle uterine Blutfluss von 86,6 ml/min am 11. Graviditätstag auf 203,6 ml/min am Tag 13 steigt, ohne dass zyklierende Schweine in selbigem Intervall vergleichbare Veränderungen der uterinen Perfusion aufweisen.

Ob die Blastozysten, die bis zum Tag 13 der Gravidität auf eine Länge von ca. 400 µm (PUSATERI et al. 1996) elongieren, d. h. sich ohne die Vermehrung von Zellen vergrößern (GEISERT et al. 1982), zusätzlich maßgeblich zur Reduktion der uterinen Echogenität beigetragen haben, ist sehr fraglich, da elongierte Embryonen nur einen Durchmesser von ca. 0,2 mm aufweisen (MARTINAT-BOTTÉ et al. 1998).

Wie bei zyklierenden Sauen korrelierten die mittleren Grauwerte mit den Progesteronkonzentrationen ($r = 0,27$; $p = 0,05$), im Vergleich zu den zyklierenden Tieren allerdings geringer. Ursache dafür mag die verminderte uterine Echogenität zwischen den Tagen 12 und 14 post ovulationem gewesen sein, die sich im Gegensatz zu zyklierenden Sauen umgekehrt proportional zu den Progesteronkonzentrationen verhielten.

Estradiol korrelierte nicht mit der uterinen Echogenität. Die Gründe werden sich ähneln, die erhebliche Fluktuation der uterinen Echogenität vor allem an den Tagen 9 bis 13 der Trächtigkeit zusätzlich erschwerend hinzukommen. Es wäre vermutlich sinnvoller gewesen, anstelle des Estradiols Estronsulfat im Blut zu bestimmen, da embryonal gebildetes Estrogen durch uterine Enzymsysteme sulfatiert wird (SZENCI et al. 1993), in die periphere Zirkulation gelangt und dort nachweisbar ist (ROBERTSON und KING 1974). Zufriedenstellende Erklärungen für die fehlende Korrelation zwischen uteriner Echogenität und Estradiol fehlen somit.

5.3 Subjektive Einschätzung der Echogenität

Die subjektive Beurteilung der uterinen Echogenität stimmte mit den Ergebnissen der Graustufenanalyse überein (mittelstarker bis starker Zusammenhang). Ob aber Echogenitätsveränderungen durch die subjektive Bewertung so zuverlässig wie durch die

Graustufenanalyse erfassbar und tragende Sauen damit zu detektieren sind, sollten weitere Feldversuche demonstrieren. Die Individualität der Beurteilung der wahrgenommenen Informationen wird der limitierende Faktor sein. Am Sinn dieser Prozedur (d. h. der subjektiven Beurteilung der uterinen Echogenität) besteht hingegen kein Zweifel, da eine so frühzeitige Diagnose z. B. im Rahmen der Abklärung embryonaler totaler Fruchtverluste durchaus wünschenswert wäre. Zudem ist zu bedenken, dass sich die derzeit in der Schweineproduktion im Einsatz befindlichen Geräte, anders als das in dieser Studie genutzte HS 2000, keine Graustufenanalyse anbieten und zwangsläufig auf die subjektive Beurteilung der uterinen Echogenität zurückgegriffen werden muss.

5.4 Einfluss verschiedener Faktoren auf die Ergebnisse der uterinen Graustufenanalyse

Aus den Ergebnissen wird ersichtlich, dass zyklierende und tragende Sauen bis Tag 11 einen gleichen, ab Tag 11 aber unterschiedlichen Verlauf der Graustufen aufweisen. Die verschiedenen Gruppen innerhalb der zyklierenden bzw. tragenden Sauen weisen trotz gleichen Kurvenverlaufs teilweise unterschiedliche Absolutwerte auf. Es ist nicht zu definieren, weshalb diese Variationen innerhalb der zyklierenden bzw. tragenden Sauen auftraten. Rasseunterschiede z. B. waren nicht zu beobachten. Alter und Wurfhäufigkeit sind unwahrscheinlich, da Jung- und Altsauen sich nicht kompromisslos in ihrer uterinen Echogenität unterscheiden. Auch wenn nur vereinzelt ermittelt, wird das Körpergewicht (als Ausdruck der Konstitution und Körperbeschaffenheit auch im Bereich der Ankopplung des Schallkopfes) keinen wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse der Graustufenanalyse ausgeübt haben. Anderes ist gänzlich hypothetisch: So kamen zwar unterschiedliche Synchronisationsverfahren zur Anwendung, hatten sehr wahrscheinlich jedoch keinen Einfluss auf die uterine Echogenität, da deren Effekt (nur) eine Gleichschaltung von Brunst und Ovulation war und selbst zwischen gleich behandelten Sauen Echogenitätsunterschiede zu beobachten waren. Wie eingangs erwähnt, bleiben die Ursachen für Unterschiede in der uterinen Echogenität vakant. Welche Auswirkungen in praxi dann zu erwarten sind, wenn Trächtigkeitsuntersuchungen auf der Grundlage der Beurteilung der uterinen Echogenität durchgeführt werden, bleibt zu eruieren.

5.5 Möglichkeit einer Trächtigkeitsdiagnose an Tag 12 post ovulationem

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit wird ersichtlich, dass Tiere mit einem Grauwert über 9,55 zu 0,917 (Spezifität) nicht tragend und solche mit einem niedrigeren Grauwert zu 0,827 (Sensitivität) tragend waren.

Soll das Verfahren der Graustufenanalyse von Uterusquerschnitten zur Trächtigkeitsdiagnose hinsichtlich seiner Genauigkeit mit anderen sonographischen Verfahren verglichen werden, ist dies in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt zu tun. So erreicht das B-Mode-Verfahren, am Tag 21 durchgeführt, mit einem 5-MHz-Linear-Scanner eine Sensitivität von 96,5 % bei einer Spezifität von 92,0 %, am Tag 17 verringern sich die Werte auf 87,3 % (Sensitivität) bzw. 50,4% (Spezifität; FLOWERS et al. 1999).

In der sehr frühen Trächtigkeit ist die Graustufenanalyse somit anderen Verfahren überlegen. Der Sinn dieses Verfahrens ergibt sich aus dem Nutzen einer sehr frühen Trächtigkeitsdiagnostik, und somit aus dem dadurch erreichten „Zeitgewinn“ der Information, da zu einem späteren Zeitpunkt (z. B. 21. Tag) wesentlich genauere Diagnosen möglich sind. Wurden die azyklischen Umrauscher bei der ROC-Analyse berücksichtigt, war die Fläche unter der Kurve (AUC) kleiner als die, die nach Ausschluss genannter Tiere zu ermitteln war. Da die Größe der AUC ein Ausdruck für die Genauigkeit einer Methode ist, sind sonographische Trächtigkeitsdiagnosen am Tag 12 auf Basis der Beurteilung der uterinen Echogenität genauer, wenn azyklische Umrauscher unberücksichtigt bleiben.

In praxi ist Derartiges nicht zu bewältigen und deshalb irrelevant. Interessant ist die reproduktionsphysiologische Interpretation, die besagt, dass die Echogenität zyklischer Umrauscher am Tag 12 derer zyklisierender Sauen entspricht, während azyklische Umrauscher am gleichen Tag Grauwerte wie tragende Tiere aufweisen. Da zyklische Umrauscher solche sind, bei denen embryonale luteotrope Signale, d. h. Estrogene (CONLEY und FORD 1989), an die Mutter zum Trächtigkeitserhalt aufgrund fehlender Konzeption (fehlende Befruchtung u. ä.) oder vorzeitigem Absterben der Embryonen ausbleiben, bei azyklischen Umrauschern jedoch zunächst vorhanden sind, könnten lokale, möglicherweise embryonale Faktoren für Veränderungen in der uterinen Echogenität verantwortlich, zumindest beteiligt sein. Typisch für azyklische Umrauscher ist hingegen, dass oben genannte, embryo-maternale Kommunikation stattfand und die Embryonen erst danach absterben (FORD et al. 1982).

Dass azyklische Umrauscher an Tag 12 (ROC-Analyse, Kap. 4.4) oder an Tag 11 (Sonderfall 1, Versuchsdurchgang 1) niedrige Grauwerte aufwiesen, ist ein weiteres Indiz für die Wirkung lokaler embryonaler Faktoren. Betont werden sollte, dass die Ergebnisse der Trächtigkeitsuntersuchung am Tag 21 als „Goldstandard“ für eine Trächtigkeit angesehen und definiert wurden und sich die Ergebnisse der Trächtigkeitserkennung mithilfe der Graustufenanalyse daran orientierten. Dieses Vorgehen ist im Rahmen dieser Untersuchungen legitim und auch für eine spätere Anwendung in der Praxis zu empfehlen, da es sich an der wiederholt formulierten Prämisse orientiert, eine Sau dann als tragend zu bewerten, wenn sie

z. Z. der Untersuchung sonographisch trächtigkeitsspezifische Strukturen wie Frucht und Fruchtwasser aufweist (KAUFFOLD et al. 1997, 2003, 2004a,c; MARTINAT- BOTTÉ et al. 1998).

Die Ergebnisse einer Trächtigkeituntersuchung am Tag 12 der Trächtigkeit müssen nicht zwangsläufig das Abferkelergebnis reflektieren, da Trächtigkeitsverluste zu beliebigen Zeitpunkten während der Trächtigkeit auftreten können. Die Sensitivität der Methode (als Fähigkeit zur Erkennung gravider Tiere) ist dadurch nicht kompromittiert, da dann nicht die Methode, sondern das Tier „versagte“.

5.6 Frühester Nachweis von Flüssigkeit im Uterus tragender Sauen

Einzelne, später als gravid diagnostizierte Sauen wiesen bereits am Tag 9 nach der Ovulation flüssigkeitsgefüllte, intrauterine Lumina auf. Der Anteil der Sauen mit derartigen Lumina stieg prozesshaft, aber sukzessive an. Am Tag 16 post ovulationem waren derartige Flüssigkeitsansammlungen bei 31 von 33 tragenden Sauen zu beobachten. Die ermittelten Daten harmonisieren weitestgehend mit denen der internationalen Literatur: Kleine, flüssigkeitsgefüllte, intrauterine Lumina waren erstmalig zwischen den Tagen 12 und 15 post inseminationem zu erkennen (FRAUNHOLZ 1988, FRAUNHOLZ et al. 1989, DE RENSIS et al. 2000, MILLER et al. 2003). Ob sich derartige flüssigkeitsgefüllte Strukturen (ohne Fruchtanschnitte) zum Nachweis der frühen Trächtigkeit eignen, d. h. zuverlässig sind, muss in Feldversuchen geklärt werden. Dessen uneingeschränkte Praktikabilität ist fraglich, da erfolgreiche Untersuchungen in dieser Arbeit gelegentlich 20 Minuten beanspruchten und selbst dann nur ein flüssigkeitsgefüllter Uterusanschnitt darzustellen war.

5.7 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

- Die sonographische Graustufenanalyse des Uterus ist beim Schwein unter derzeitigen Haltungsbedingungen in Kastenständen möglich.
- Tragende und nichttragende Sauen unterscheiden sich in ihren Echogenitätsverläufen.
- Aufgrund der verschiedenen Echogenitätsverläufe kann die Graustufenanalyse des sonographischen B-Bildes zur Trächtigkeitsdiagnostik verwendet werden.
- Atypische Echogenitätsverläufe bei besamten Sauen deuten auf einen Verlust der Trächtigkeit zu einem frühen Zeitpunkt hin und könnten zum Studium der embryonalen Mortalität verwendet werden.
- Weisen besamte Sauen bereits ab Tag 9 post ovulationem kleinste echolose, intrauterine Flüssigkeitsansammlungen auf, ist dieses als Hinweis auf das Vorliegen einer Trächtigkeit zu bewerten.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bent von dem Bussche-Hünnefeld

Sonographische Graustufenanalyse des Uterus vom Schwein im Verlauf des Zyklus und der frühen Trächtigkeit

Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Juli 2007

69 Seiten, 18 Abbildungen, 10 Tabellen, 157 Literaturangaben, 1 Anlage

Schlüsselwörter: Weibliches Schwein, Sonographie, Graustufenanalyse, Uterus, Trächtigkeitsdiagnose

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mithilfe der sonographischen Graustufenanalyse zu untersuchen, ob der Uterus beim Schwein zyklus- und trächtigkeitspezifischen Veränderungen in seiner Echogenität unterliegt. Es sollte ferner eruiert werden, ob sich die Graustufenanalyse zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein, vor allem in der sehr frühen Phase, eignet.

In die Untersuchungen wurden insgesamt 106 Jung- ($n = 85$) und Altsauen ($n = 21$) einbezogen. Zur sonographischen Graustufenanalyse kam das Ultraschallgerät HS-2000 und ein Multifrequenz-Linearschallkopf zur Anwendung. Die Untersuchungen erfolgten transkutan in der rechten Kniefalte. Die Einstellungen am Gerät waren konstant. Zur Analyse wurden durchschnittlich $6,4 \pm 2,1$ ($\bar{x} \pm SD$) Uterusquerschnitte je Untersuchung in einer definierten Zone dargestellt, in ihrer Graustufe beurteilt und als mittlerer Grauwert (Echogenität) je Tier und Untersuchung ausgewiesen. Zwei Sauen wurden an insgesamt 19 aufeinander folgenden Tagen untersucht und beobachtet, dass wiederholt aufgetragenes Kontaktgel keinen Einfluss auf das Ergebnis der Graustufenanalyse hatte. Bei insgesamt 15 Jungsaunen der Rassen Piétrain ($n = 7$) und Deutsche Landrasse ($n = 8$) wurde der Sexualzyklus hormonell synchronisiert, 7 Sauen im darauf folgenden zweiten Östrus besamt, der Ovulationszeitpunkt sonographisch ermittelt und täglich Graustufenanalysen bis zum 16.

Tag (besamte Sauen) bzw. 22. Tag (nicht besamte Sauen) post ovulationem (p.o.) durchgeführt. Alle Tiere wurden am Tag 21 post ovulationem sonographisch auf Trächtigkeit untersucht. Es konnte demonstriert werden, dass die uterine Echogenität bei frühtragenden und zyklierenden Sauen bis zum Tag 11 p.o. gleichermaßen anstieg. Während dieser Anstieg bei zyklierenden Sauen bis zum Tag 13 anhielt, sank die Echogenität tragender Tiere abrupt bis zum Tag 13 p.o. ab, um dann allmählich bis zum Tag 16 wieder das Niveau zyklierender Sauen zu erreichen. Zwischen der uterinen Echogenität und zeitgleich ermittelten Konzentrationen an Progesteron und Estradiol-17 β im Blutserum bestanden keine oder nur schwache Zusammenhänge.

In einem zweiten Versuchsabschnitt wurden weitere 22 Jungsauen sowie 10 primipare und 6 pluripare Altsauen (davon 29 tragend und 9 zyklierend) zwischen den Tagen 7 bzw. 8 und 16 p.o. sonographisch untersucht und oben genannte Echogenitätsprofile verifiziert. Da sich tragende von nicht tragenden (zyklierenden) Sauen in ihrer uterinen Echogenität am Tag 12 p.o. unterschieden, wurden die Uteri weiterer 53 besamter Sauen an diesem Tag in ihrer Echogenität beurteilt und sonographische Trächtigkeitsuntersuchungen am Tag 21 p.o. durchgeführt. Unter Berücksichtigung dieser und aller vorangegangenen Untersuchungen wurde mithilfe der ROC(Receiver Operating Characteristic)-Analyse ermittelt, dass ingravide und gravide Sauen zu 91,7 % und 82,7 % anhand der uterinen Echogenität am Tag 12 p.o. zu erkennen sind, wenn ein Grauwert von 9,55 als Schwellenwert definiert wurde. Daneben können kleinste echolose, intrauterine Flüssigkeitsansammlungen in die Diagnose einfließen, die bei einzelnen tragenden Sauen bereits am Tag 9 p.o. zu beobachten waren und am Tag 16 p.o. bei 90 % der tragenden Tiere auftraten.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen ist zu schlussfolgern, dass die uterine Echogenität von Sauen Veränderungen während des Sexualzyklus und der frühen Trächtigkeit unterliegt, sich zyklierende und tragende Tiere jedoch am Tag 12 p.o. in diesem Parameter signifikant unterscheiden und dieser Unterschied im Rahmen der sehr frühen Trächtigkeitsdiagnose möglicherweise genutzt werden kann. Die diesem Phänomen zugrunde liegenden reproduktionsphysiologischen Mechanismen bleiben abzuklären. Eine Assoziation mit der zeitgleich beginnenden Implantation der Embryonen wird vermutet.

7 SUMMARY

Bent von dem Bussche-Hünnefeld

Sonographic grey-scale analysis of the pig uterus during the oestrous cycle and early gestation

Large Animal Clinic for Theriogenology and Ambulatory Services Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in July 2007

69 pages, 18 figures, 10 tables, 157 references, 1 annex

Key words: female pig, sonography, greyscale analysis, uterus, early gestation

The aim of this study was to investigate with the aid of greyscale ultrasonographic analysis whether the pig uterus is subject to specific echogenicity changes during the cycle and gestation. It should also be elicited as to whether greyscale analysis is suitable for pregnancy diagnosis in the pig and particularly in very early gestation.

The investigations involved in total 106 gilts ($n = 85$) and sows (21). A HS-2000 ultrasonic device and multi-frequency linear transducer were used for the sonographic greyscale analysis. The examination took place transcutaneously in the right stifle fold. The device settings were constant. On average 6.4 ± 2.1 ($\bar{x} \pm SD$) sections of the uterus were investigated and portrayed with a defined zone per examination, appraised for their grey scale and designated as a mean grey value (echogenicity) per animal and investigation.

Two sows were examined and observed over in total 19 successive days; the repeated application of contact gel had no influence on the results of the greyscale analysis.

The oestrous cycle was synchronised in a total of 15 Piétrain ($n = 7$) and German Landrace gilts ($n = 8$), 7 sows were inseminated in the subsequent second oestrus, the ovulation time point determined sonographically and greyscale analysis carried out daily until the 16th day (inseminated sows) and day 22 (non-inseminated sows) post ovulation (*po*). All animals were pregnancy tested sonographically on day 21 *po*. It could be demonstrated that the uterine echogenicity rose evenly until day 11 in early gestating and cycling sows. Whilst this increase was maintained until day 13 in cycling sows, the echogenicity fell abruptly until day 13 in

gestating animal, only then to increase gradually until attaining the level of cycling sows on day 16. There was none, or only a weak relationship between the uterine echogenicity and simultaneously derived progesterone and estradiol-17 β concentrations in the blood serum. A further 22 gilts as well as 10 primiparous and 6 multiparous sows (from these 29 were gestating and 9 cycling) were examined *po* sonographically and the aforementioned echogenicity profile verified between days 7/8 and 16 *po*. As the maximum differentiation of uterine echogenicity between gestating and non-pregnant sows (cycling) is exhibited on day 12 *po*, the uteri of a further 53 inseminated sows underwent an echogenicity assessment on that day and a sonographic pregnancy test was carried out on day 21 *po*. With regard to this and all previous investigations, with the aid of a ROC (Receiver Operating Characteristic) analysis it was determined that non-gravid and gravid sows could be recognised at a 91.7 % and 82.7 % level respectively, on the basis of the uterine echogenicity on day 12 *po*, when a greyscale value of 9.55 was defined as the threshold value. Along with that the smallest echoless intrauterine fluid collections could enter the diagnosis, that were to be observed already on day 9 *po* in individual gestating sows and that occurred in 90 % of the gestating animals on day 16. It is to be concluded from the results of these investigations that the uterine echogenicity of sows undergoes changes during the oestrous cycle and early gestation, that however differ significantly for this parameter and that this difference can presumably be used within the scope of a very early pregnancy diagnosis. The reproductive physiological mechanisms that form the basis for this phenomenon remain to be clarified. An association with the simultaneous commencement of implantation of the embryos can be assumed.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Abraham GE. Solid-phase radioimmunoassay of estradiol-17 β . *J Clin Endocrin.* 1969;29:866.

Almond GW, Dial GD. Pregnancy diagnosis in swine: a comparison of the accuracies of mechanical and endocrine tests with return to estrus. *JAVMA.* 1986;189(15):1567-71.

Almond GW. Clinical reproduction in the sow integrating new technology with stockmanship. Proceedings of the 15th IPVS Congress; 1998 July 5-9; Birmingham, England.

Bader W, Böhmer S, Otto WR, Degenhardt F, Schneider J. Texturanalyse: Ein neues Verfahren zur Beurteilung sonographisch darstellbarer Herdbefunde der Mamma. *Bildgebung.* 1994;61:284-90.

Baratta M, Bussolati S, Tamanini C. Progesterone plasma profiles during the first month after a. i. in the sow. *Università di Parma, Facoltà di Medicina Veterinaria-Annali.* 1997;XVII.

Baumgartner W, Ketz Riley CJ, Schlerka G, Schuh M, Schusser G, Scope A et al. Rektale Untersuchung. In: Baumgartner W, Hrsg. *Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere.* 4. Aufl. Berlin: Parey; 1999.240-2.

Bazer FW, Marengo SR, Geisert RD, Thather WW. Exocrine versus endocrine secretion of prostaglandin F in the control of pregnancy in swine. *Anim Reprod Sci.* 1984;7:115-32.

Becker W, Frank R, Börner W. Bedeutung einer quantitativen Grauwertanalyse des Sonogramms bei „diffusen“ Erkrankungen der Schilddrüse. *Fortschr Röntgenstr.* 1989;150(1):66-71.

Bertmann J, Diaz L, Weber F, Stolla R, Bollwein H. Changes in uterine blood flow and endometrial echostructure during the early pregnancy of cows. *Wien tierärztl Msch.* 2004;91:11.

Blackwell DM, Speth RC, Robert C, Mirando MA. Morphometric analysis of the uterine endometrium of swine on days 12 and 16 postestrus. *Anat Rec.* 2003;270A:59-66.

Bleck JS, Gebel M, Manns M. Quantitative Sonographie, Bedeutung und Perspektive. Internist. 2000;41:10-6.

Bleck JS, Gebel M, Satrapa JD, Caselitz M, Westhoff-Bleck M, Wagener S et al. Ansätze zur Objektivierung der Gewebeunterscheidbarkeit von Ultraschallgeräten als Beitrag zur Qualitätssicherung. Ultraschall in Med. 1997;18:238-43.

Bönhof JA. Richtig benennen – besser erkennen. Ultraschall Klin Prax. 1987;2:178-84.

Bostedt H. Anwendungsbeispiele für die Sonographie in der Gynäkologie, Geburtshilfe, Neonatologie und Andrologie. Tierärztl Prax. 1993;Sonderheft:47-52.

Botero O, Martinat-Botté F, Bariteau F. Use of ultrasound scanning in swine for detection of pregnancy and some pathological conditions. Theriogenology. 1986;26(3):267-78.

Busch W, Phillip H. Zur Anwendung des Non-return-Verfahrens bei der Ermittlung des Fruchtbarkeitsstatus in Schweinezuchtbetrieben. Mh Vet Med. 1970;20:773-5.

Cartee RE, Powe TA, Ayer RL. Ultrasonographic detection of pregnancy in sows. Mod Vet pract. 1985;1:23-6.

Chadio S, Xylouri E, Kaligiannis D, Michalopoulous E, Evageatos S, Menegatos I. Early pregnancy diagnosis in swine by direct radioimmunoassay for progesterone in blood spotted on filter paper. Anim Reprod Sci. 2002;69:65-72.

Choi HS, Hois J, Bamberg E. Hormonanalytische Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. Wien tierärztl Msch. 1986;5(4):94-6.

Conley AJ, Ford SP. Direct luteotropic effect of Estradiol 17 β on pig corpora lutea. J Reprod Fertil. 1989;87:125-31.

Cupps PT, Briggs JR, Hintz HF, Heitman H Jr. Pregnancy diagnosis in the sow. J Anim Sci. 1966;25:646-7.

Danzer V. Electron microscopy of the initial stages of placentation in the pig. *Anat Embryol.* 1985;172:281-93.

De Rensis F, Bigliardi E, Parmigiani E, Peters AE. Early diagnosis of pregnancy in sows by ultrasound evaluation of embryo development and uterine echotextur. *Vet Rec.* 2000;47:267-70.

Dhindsa DS, Dzuik PJ, Norton HW. Time of transuterine migration and distribution of embryos in the pig. *Anat Rec.* 1967;159:325-37.

Döcke F. *Veterinärmedizinische Endokrinologie.* 3. Aufl. Jena-Stuttgart: Fischer; 1994.

Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Becken und Fortpflanzungsorgane des Schweines. In: Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Anatomie der Haustiere.* Stuttgart: Enke; 1997.823-33.

Dzubiek T. Badania wstepne nad mozliwosciami rentgenologicznego ustalania ciazy u loch. *Zesz probl Postep Nauk roln polsk Akad Nauk.* 1958;11:61-6.

Dzuik PJ. Embryonic loss in the pig: an enigma. *Proc Conf Aust Pig Sci, Manipulating pig reproduction I., Werribee, Victoria.* 1987;28-39.

Elze K. Umrauschgeschehen und Aborte bei Sauen. *Tierärztl Umsch.* 1985;40:289-94.

Eng DJ, Dezortova M, Tamir P, Hajek M. Texture analysis of human liver. *J Magn Reson Imaging.* 2002;15:68-74.

Flowers WL, Armstrong JD, White SL, Woodard TO, Almond GW. Real-time ultrasonography and pregnancy diagnosis in swine. 1999 (zitiert vom 18.10.06):1-9, <<http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0945.pdf>>.

Ford SP, Christenson RK, Ford JJ. Uterine blood flow and uterine arterial, venous and luminal concentrations of oestrogens on Days 11, 13 and 15 after oestrus in pregnant and non-pregnant sows. *J Reprod Fertil.* 1982;64:185-90.

Fraunholz J, Kähn W, Leidl W. Ein Vergleich zwischen der transrektalen und transcutanen Sonographie zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. *Mh Vet Med.* 1989;44:425-30.

Fraunholz J. Zur transrektalen und transcutanen Sonographie in der gynäkologischen Diagnostik beim Schwein. [Dissertation med. vet]. München: Univ. München; 1988.

Fristsch R, Gerwing M. Physikalische und technische Grundlagen der Sonographie. In: Fristsch R, Gerwing M. *Sonographie bei Hund und Katze.* Stuttgart: Enke; 1993. 3-24.

Gärtner T, Zacharias M, Jederka K-V, Heanemann H, Cobet U. Geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung von Hoden und Prostata. *Radiologe.* 1998;5:424-33.

Gebel M, Bleck J, Schmidt K, Ranft U. Digitale Verarbeitung von Ultraschall-Parallel-Scan-Bildern. *Ultraschalldiagnostik.* 1984;84:384-5.

Geisert RD, Brookbang JW, Roberts RM, Bazer FW. Establishment of pregnancy in the pig II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day 12 of pregnancy. *Biol Reprod.* 1982;27:941-55.

Geisert RD, Schmitt RAM. Early embryonic survival in the pig. Can it be improved? *J Anim Sci.* 2002;80 E Suppl 1:E54-E65.

Geisert RD, Zavy MR, Moffat RJ, Blair RM, Yellin T. Embryonic steroids and the establishment of pregnancy. *J Reprod Fertil.* 1990;40:293-305.

Gerthsen C. *Physik.* 20. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer; 1999.

Ginther OJ, Pierson RA. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. *Theriogenology.* 1984;21:505-16.

Gladisch R. Einführung in die Sonographische Diagnostik. *Tierärztl Prax.* 1993;Sonderheft:3-19.

Gladisch R. Einführung in die sonographische Diagnostik. In: Gladisch R. Praxis der abdominalen Ultraschalldiagnostik. 2. Aufl. Stuttgart New York: Schattauer; 1992. 2-21.

Gottschalk J. Validierte Methode zur Bestimmung von Progesteron und 17 β -Östradiol. Labormitteilungen an das Institut für Tierarzneimittel Berlin GmbH. 1999.

Graue I. Computergestützte Graustufenanalyse sonographischer Befunde des Hodengewebes beim Bullen. [Dissertation med. vet]. Hannover: Univ. Hannover; 2002.

Grunert E. Weiblicher Geschlechtsapparat. In: Rosenberger G. Die klinische Untersuchung des Rindes. 3. Aufl. Berlin Hamburg: Parey; 1990. 472-543.

Gupta A, Bazer FW, Jaeger LA. Differential expression of beta transforming growth factors (TGF beta 1, TGF beta 2, and TGF beta 3); and their receptors (type I and type II); in peri-implantation porcine conceptuses. Biol Reprod. 1996;55:796-802.

Harten H-U. Mechanische Schwingungen und Wellen. In: Harten H-U. Physik für Mediziner. 8. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer; 1997. 111-30.

Heinritzi K, Beisl J. Untersuchungen zur Verwendbarkeit der Sonographie beim Schwein. Dtsch tierärztl Wschr. 1995;102:4-15.

Hermes R. Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh *Capreolus capreolus* und Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause mittels computergestützter Graustufenanalyse. [Dissertation med. vet]. Berlin: Univ. Berlin; 1997.

Hess CF, Wolf A, Kölbel G, Kurtz B. Subjektive Beurteilung und quantitative Grauwertanalyse bei der sonographischen Diagnostik diffuser Leberparenchymveränderungen. Fortschr Röntgenstr. 1986;145 (2):140-4.

Hesse A, Hesse D. Sauen automatisch auf Kondition füttern. 2002 (zitiert vom 03.02.07): 1-5, <<http://www.bfl-online.de/media/agrifair-kondi-he.pdf>>.

Hildebrandt H, Hrsg. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. 257. Aufl. Berlin: Walter de Gruyter; 1994. 1100.

Höhne K. Ultrasonographische Untersuchung von Hoden und Prostata des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Graustufenanalyse. [Dissertation med. vet]. Hannover: Univ. Hannover; 2002.

Huchzermeyer F, Plonait H. Trächtigkeitsdiagnose und Rectaluntersuchung beim Schwein. Tierärztl Umschau. 1960;15:399-401.

Hunter RHF. Chronological and cytological details of fertilization and early embryonic development in the domestic pig. *Sus scrofa* Anat Rec. 1974;178:169-86.

Huskamp B, Kopf N, Scheidemann W. Magen-Darm-Trakt. In: Dietz O, Huskamp B, Hrsg. Handbuch Pferdepraxis. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 1999. 411-501.

Inaba T, Nakazima Y, Matsui N, Imori T. Early pregnancy diagnosis in Sows by Ultrasonic linear electronic scanning. *Theriogenology*. 1983;201:97-101.

Ka H, Jaeger LA, Johnson GA, Spencer TE, Bazer FW. Keratinocyte growth factor is up-regulated by estrogen in the porcine uterine endometrium and functions in trophectoderm cell proliferation and differentiation. *Endocrinology*. 2001;142:2303-10.

Kaeoket K, Persson E, Dalin A-M. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim Reprod Sci*. 2001a;65:95-114.

Kaeoket K, Persson E, Dalin A-M. Corrigendum to "The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim Reprod Sci*. 2002;73:89-107.

Kaeoket K, Dalin A-M, Magnusson U, Persson E. The sow endometrium at different stages of the oestrus cycle immunohistochemical study on the distribution of SWC3-expressing cells granulocytes, monocytes and macrophages. *J Vet Med*. 2001b;48:507-11.

Kähn W, Fraunholz J, Kaspar B, Pyczak T. Die sonographische Frühträchtigkeitsdiagnose bei Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund und Katze. Richtwerte und Grenzen. Berl Münch Tierärztl Wsch. 1990;103:206-11.

Kähn W. Ultraschalldiagnostik beim Schwein. In: Kähn W. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. Hannover: Schlütersche; 2004. 213-24.

Kauffold J, Hörügel K, Beynon N, Sobiraj A. Ultrasonographische Charakterisierung von Uteri und Ovarien fertiler Altsauen nach dem Absetzen und in der darauf folgenden Brunst. Tierärztl Prax. 2006;34(G):35-9.

Kauffold J, Rautenberg T, Gutjahr S, Richter A, Sobiraj A. Ultrasonographic characterization of the ovaries in non-pregnant first served sows and gilts. Theriogenology. 2004b;61:1407-17.

Kauffold J, Richter A, Rautenberg T, Sobiraj A. Die ultrasonographische Trächtigkeitsuntersuchung beim Schwein Teil 1: Ein kritischer Vergleich zur Umrauscherkontrolle. Tierärztl Prax. 2003;31(G):336-41.

Kauffold J, Richter A, Sobiraj A. Ergebnisse und Erfahrungen einer zweijährigen Untersuchungstätigkeit im Rahmen der sonographischen Trächtigkeitskontrolle bei Sauen zu unterschiedlichen Graviditätstagen. Tierärztl Prax. 1997;25:429-37.

Kauffold J, Richter A, Rautenberg T, Sobiraj A. Die ultrasonographische Trächtigkeitsuntersuchung beim Schwein Teil 2: Sensitivität und Spezifität sowie Notwendigkeit mehrmaliger Untersuchungen. Tierärztl Prax. 2004a;32(G):32-9.

Kauffold J, Rautenberg T, Hoffmann G, Beynon N, Schellenberg I, Sobiraj A. A field study into the appropriateness of transcutaneous ultrasonography in the diagnoses of uterine disorders in reproductively failed pigs. Theriogenology. 2005;64:1546-58.

Kauffold J, Rautenberg T, Richter A, Waehner M, Sobiraj A. Ultrasonographic characterization of the ovaries and the uterus in prepubertal and pubertal gilts. Theriogenology. 2004c;61:1635-48.

Keil H-W, Nowak P. Anwendungsempfehlungen zur fortpflanzungstechnologischen Eingliederung der Trächtigkeitsdiagnose in Ferkelproduktionsbetrieben. Tierzucht. 1983;37:491-3.

Kemp B, Soede NM. Mit dem Scanner in unfruchtbare Sauen gucken. SUS. 1995;6:26-7.

Keys JL, King GJ, Kennedy TG. Increased uterine vascular permeability at the time of embryonic attachment in the pig. Biol Reprod. 1986;34:405-11.

Keys JL, King GJ. Morphological evidence for increased uterine vascular permeability at the time of embryonic attachment in the pig. Biol Reprod. 1988;39:473-87.

Kiefer J, Kiefer I. Allgemeine Radiologie. Blackwell: Berlin Wien; 2003.

Knox RV, Althouse GC. Visualizing the reproductive tract of the female pig using real-time ultrasonography. J Swine Health Prod. 1999;7:207-15.

Knox RV, Clark SG. Utilizing real-time ultrasound to optimize swine reproduction. (zitiert vom 18.10.06):1-7, ><http://www.traill.uiuc.edu/swinerepronet/publications/extension/CarthageSVC.pdf><

Knox RV, Probst-Miller S. Evaluation of transrectal real-time ultrasound for use in identifying sources of reproductive failure in weaned sows. J Swine Health Prod. 2004;12(2):71-4.

Knox RV, Vatzias G, Naber CH, Zimmermann DR. Plasma gonadotropins and ovarian hormones during the estrus cycle in high compared to low ovulation rate gilts. J Anim Sci. 2003;81:249-60.

Koch E, Ellendorff F. Early pregnancy factor (EPF): possible biological and clinical significance. Dtsch tierärztl Wschr. 1982;89(6):253-8.

Koch E, Ellendorff F. Detection of activity similar to that of early pregnancy factor after mating sows with a vasectomized boar. *J Reprod Fert.* 1985;74:39-46.

Koketsu Y, Dial GD, King VL. Returns to service after mating and removal of sows for reproductive reasons from commercial swine farms. *Theriogenology.* 1997;47:1347-63.

Kölbel G, Majer MC, Hess CF, Kurtz B. Das Binnenreflexmuster des normalen Pankreas. *Fortschr Röntgenstr.* 1987;146(4):415-9.

König E, Liebich H-G, Hrsg. *Anatomie der Haussäugetiere.* 2. Aufl. Stuttgart New York: Schattauer; 2002.

Kuchling H. Wellenoptik. In: Kuchling H. *Physik.* 9. Aufl. Leipzig; VEB Fachbuchverlag; 1972. 231-8.

Laforest JP, King GJ. Structural and functional aspects of porcine endometrial capillaries on days 13 and 15 after oestrus or mating. *J Reprod Fertil.* 1992;1:269-77.

Lasley JF, Day BN, Mayer DT. Intra-uterine migration and embryonic death in swine. *J Anim Sci.* 1963;22:422.

Leiser E. Uterus. In: Mosimann W, Kohler T, Abou-Elmagd A, Friess AE, Goller H, Hees H et al. *Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere.* Berlin Hamburg: Parey; 1990. 241-245.

Lieback-Zimmermann E. Computergestützte sonographische Gewebedifferenzierung des Myocards. Darmstadt: Steinkopf; 1993.

Liebich H-G. Weibliche Geschlechtsorgane. In: Liebich H-G. *Funktionelle Histologie.* 2. Aufl. Stuttgart New York: Schattauer; 1993. 255-72.

Löffler K. Geschlechtsorgane. In: Löffler K. *Anatomie und Physiologie der Haustiere.* 9. Aufl. Stuttgart: Eugen Ulmer; 1994. 292-332.

Lorber K. Ultrasonographische Gewebetexturanalyse des equinen Endometriums mit Hilfe der GSA. [Dissertation med. vet]. Hannover: Univ. Hannover; 1999.

Lorenz A, Delorme S. B-Bild-Sonographie. Urologe B. 2001;41:168-81.

Lorenz A, Zabel H-J, Schlaps D, Zuna I, Räth U, Volk J et al. Gewebsanalyse mit Ultraschall-real-time-Geräten, Voraussetzungen eines sinnvollen Einsatzes. R ontgendiagnostik. 1984;1:398-9.

Martinat-Bott  F, Renaud G, Madee F, Costiou P, Terqui M. Ultrasonography and Reproduction in swine. Paris: INRA; 2000

Martinat-Bott  F, Renaud G, Madee F, Costiou P, Terqui M. Echographie et reproduction chez la truie. Paris: INRA; 1998.

Martinat-Bott  F, Royer E, Venturi E, Boisseau C, Guillouet P, Furstoss V et al. Determination by echography of uterine changes around puberty in gilts and evaluation of a diagnosis of puberty. Reprod Nutr Dev. 2003;43:225–36.

Mehlhorn I, Schnurrbusch U, Rittenbach P, Elze K, Erices J, Freysoldt C. Untersuchungen zur Steigerung der Fruchtbarkeitsleistung bei Altsauen, 2. Mitt.: Ergebnisse histologischer Untersuchungen über den Aufbau des Endometriums von Altsauen während des Zyklus. Arch exper Vet med. 1975;29:679-87.

Meinhardt H, Kappen CH, Holtz W. Tr chtigkeitsfeststellung beim Schwein mit dem Doppler-Verfahren. Reprod Dom Anim. 1995;30:295-8.

Meredith M. Pregnancy diagnosis in pigs. In Practice. 1988;1:3-8.

Michel G, Salomon F-V, Gutte G. Morphologie landwirtschaftlicher Nutztiere. Berlin: VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1986.

Miller GM, Breen SM, Roth SL, Willenburg KL, Rodriguez-Zas S, Knox RV. Characterization of image and labor requirements for positive pregnancy diagnosis in swine using two methods of real-time ultrasound. *J Swine Health Prod.* 2003;11(5):233-9.

Moriyoshi M, Sawamura T, Yasuda M, Nakao T, Kawata K. Using ultrasound for clinical observation of the porcine ovary through the course of the estrous cycle and to monitor treatment of ovarian disease. *J Reprod Dev.* 1996a;42(4):277-82.

Moriyoshi M, Tamaki M, Nakao T, Kawata K. Early pregnancy diagnosis in the sow by saliva progesterone measurement using a bovine milk progesterone qualitative test EIA kit. *J Vet Med Sci.* 1996b;58:737-41.

Morton H. The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *J Reprod Fertil.* 1983;69:437-46.

Najbrt R, Cervený C, Kaman I, Mikyska E, Straha O, Sterba O. *Veterinari anatomie.* Praha: Statni Zemedelske Nakladatelstri; 1982.

Niiyama M, Yonemichi H, Harada E, Syuto B, Kitagawa H. A simple catheterization from the ear vein into the jugular vein for sequential blood sampling from unrestrained pigs. *Jpn J Vet Res.* 1985;33(1-2):1-9.

Nissen AK, Lehn-Jensen H, Greve T. Follicular development and ovulation in sows: Effect of hCG and GnRH Treatment. *Acta vet scand.* 1995;36(1):123-32.

Oxenreider SL, Day BN. Transport and cleavage of ova in swine. *J Anim Sci.* 1965;24:413-7.

Perry JS, Heap RB, Buron RD, Gadsby JE. Endocrinology of the Blastocyst and its role in the establishment of pregnancy. *J Reprod Fert.* 1976;Suppl 25:85-104.

Perry JS, Rowlands IW. Early pregnancy in the pig. *J Reprod Fertil.* 1962;4:175-88.

Pierson RA. Imaging the endometrium. Are there predictors of uterine receptivity? *J Obstet Gynaecol Can.* 2003;255:360-8.

Pope WF, First NL. Factors affecting the survival of pig embryos. *Theriogenology*. 1985;23:91-105.

Pope WF, Maurer RR, Stormshak F. Intrauterine migration of the porcine embryo. Influence of estradiol-17 β and histamine. *Biol Reprod*. 1982;27:575-9.

Poppe C. Untersuchungen zur Gewebepерfusion der Gebärnutter des Pferdes nach chirurgischer Beeinflussung der uterinen Hämodynamik. [Dissertation med. vet]. Hannover: Univ. Hannover; 2002.

Pusateri AE, Smith EJM, Smith JW, Thomford PJ, Diekman MA. Maternal recognition of pregnancy in swine. I. Minimal requirement for exogenous estradiol-17 β to induce either short or long pseudopregnancy in cycling gilts. *Biol Reprod*. 1996;55:582-9.

Pycock JF, Dieleman S, Drifjhout P, van der Brug Y, Oei C, van der Weiden GC. Correlation of plasma concentrations of progesterone and oestradiol with ultrasound characteristics of the uterus and duration of oestrus behaviour in the cycling mare. *J Reprod Dom Anim*. 1995;30:224-7.

Räth U, Zuna I, Limberg B, Schaps D, Lorenz A, van Kaick G et al. Der Beitrag der Grauerthistogramm-Analyse zur sonographischen Diagnostik des diffusen Leberparenchymschadens. *Ultraschall*. 1984;5:94-7.

Robertson HA, King GJ. Plasma concentration of progesterone, oestrone, oestradiol-17- β and of oestrone sulfate in the pig at implantation, during pregnancy and at parturition. *J Reprod Fert*. 1974;40:133-41.

Rojanasthien S, Henriksson A, Seguin BE, Einarsson S. Utero-ovarian vein catheterisation in the pig: blood levels of oestradiol-17 β and progesterone during follicular and early luteal phase in the gilt. *J Med Vet*. 1988;A 35:24-30.

Salomon F-V, Geyer H, Gille U. Anatomie für die Tiermedizin. Stuttgart: Enke; 2004.

Schaetz F, Busch W. Zum Stand der Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. MhVet Med. 1963;13:499-83.

Schiemann U, Avenhaus W, Konturek J, Gellner R, Hengst K, Gross M. Relationship of clinical features and laboratory parameters of thyroid echogenicity measured by standardized grey scale ultrasonography in patients with Hashimoto's thyroiditis. Med Sci Monit. 2003;94:MT49-53.

Schmauder S. Zyklus- und entzündungsbedingte Veränderungen der endometrialen Echostruktur beim Rind unter Berücksichtigung der Stickstoffmonoxid-Synthase-Expression. [Dissertation med. vet]. München: Universität München; 2003.

Schnorr B. Embryologie der Haustiere. 3. Aufl. Stuttgart: Enke; 1996.

Schnurrbusch U, Bergfeld J, Brüssow K-P, Kaltofen U. Schema zur Ovarbeurteilung beim Schwein. Mh Vet Med. 1981;36:811-5.

Schnurrbusch U, Erices J. Histomorphologische Veränderungen am Uterus von Jungsauen während der ersten 3 Sexualzyklen. Arch exper Vet med. 1979;33:527-46.

Schnurrbusch U, Hühn U. Fortpflanzungssteuerung beim weiblichen Schwein. Jena Stuttgart: Fischer; 1994.

Schnurrbusch U, Mehlhorn I, Elze K. Untersuchungen zur Steigerung der Fruchtbarkeitsleistung bei Altsauen, 1. Mitt.: Makroskopische Untersuchungen über die zyklischen Veränderungen am Ovar des Schweines, insbesondere an Follikeln und Gelbkörpern, als Grundlage zur Bestimmung des Zyklusstandes und der Ovulationsrate. Arch exper Vet med. 1975;33:667-78.

Schnurrbusch U, Tuan LA, Sefkow B, Elze K. Ergebnisse histochemischer und biochemischer Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Östrogen- und Gestagenpräparate auf den Uterus ingravidier ovarrektomierter Jungsauen. Arch exper Vet med. 1988;42:820-39.

Schummer A, Vollmerhaus B. Harn- und Geschlechtsapparat. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band II. 7. Aufl. Berlin Wien: Blackwell 1995; 300-415.

Seibt W. Mechanik. In: Seibt W. Physik für Mediziner. 2. Aufl. VCH; Weinheim; 1992. 33-104.

Singh J, Pierson RA, Adams GP. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum structural and functional correlates. J Reprod Fertil. 1997;109:35-44.

Smollich A. Geschlechtssystem. In: Smollich A, Michel G. Mikroskopische Anatomie der Haustiere. 2. Aufl. Jena Stuttgart: Fischer; 1992. 233-333.

Soede NM, Hazeleger W, Kemp B. Follicle size and the process of ovulation in sows as studied with ultrasound. J Reprod Dom Anim. 1998;33:239-44.

Soede NM, Wetzels CCH, Kemp B. Ultrasonography of pig ovaries benefits in research and on farms. J Reprod Dom Anim. 1994;29:337-48.

Spitschak K. Mykotoxine gefährden die Ferkelproduktion. Deutscher Landwirtschaftsverlag. 1999;12:56.

Squires EL, McKinnon AO, Shideler RK. Use of ultrasonography in reproductive managements of mares. Theriogenology. 1988;29:55-70.

Stein J, Martin C. Physikalisch-technische Grundlagen. In: Schmidt G, Hrsg. Ultraschall-Kursbuch. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme-Verlag; 2004. 13-9.

Stützel K. Abdominelle Sonographie bei Hund und Katze. Budapest: Medicus-Partner; 1994.

Szenci O, Taverne MAM, Palme R, Bertoti B, Merics I. Evaluation of ultrasonography and the determination of unconjugated oestrogen in faeces for the diagnosis of pregnancy in pigs. Vet Rec. 1993;132:510-2.

Taverne MAM. The use of linear array real-time ultrasonography for pregnancy diagnosis in pigs. In: Taverne MAM, Willemse AH. Diagnostic ultrasound and animal reproduction. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1989. 97-103.

Tom JW, Pierson RA, Adams GP. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. Theriogenology. 1998;49:1345-52.

Toriumi H, Tsumagari S, Kuwahara Y, Ichikawa Y, Takeishi M, Sakai T. Development of a method of diagnosing ovarian disorders in sows and gilts using uterine ultrasonography. J Vet Med Sci. 2003;652:243-7.

Tourassi GD. Journey toward computer-aided diagnosis role of image texture analysis. Radiology. 1999;213:317-20.

Vos EA, van Oord R, Taverne MAM, Kruip AM. Pregnancy diagnosis in sows. Direct ELISA for estrone in faeces and its prospects for an on-farm test, in comparison to ultrasonography. Theriogenology. 1999;51:829-40.

Wähner M. Physiologische Hintergründe der Trächtigkeit beim Schwein. Nutztierpraxis Aktuell. 2003;5:58-61.

Weitze KF, Habeck O, Willmen T, Rath D. Detection of ovulation in the sow using transcutaneous sonography. Zuchthyg. 1989;24:40-2.

Wiesner P, Bönhof JA, Nauth P, Linhart P, Loch EG. Was ist bei der rechnergestützten Bildauswertung zu beachten? Röntgendiagnostik. 1984;1:41.

Wildgrube HJ, Dehwald H. Zur Wertigkeit von Grauwert-Analysen für die Beurteilung sonographisch erfassbarer Strukturen im Abdominalbereich. Bildgebung. 1990;57:11-6.

Williamson P, Hennessy D. An assessment of the vaginal biopsy technique of pregnancy diagnosis in sows. Aust Vet J. 1975;51(2):91-3.

Zielke TH, Nauth P, Stein N, Seelen W, Loch EG, Gaca A et al. Quantitative Verfahren bei der Ultraschalldiagnostik. Radiologe. 1985;25:468-73.

Zink C. Ultraschalllexikon. Berlin: Blackwell; 1996.

Zuna I, Schlaps D, Räth U, Volk J, Lorenz A, van Kaick G et al. Diagnostische Aussagekraft des Speckle-Musters im Ultraschallbild. Röntgendiagnostik. 1984;1:84.

Zuna I. Aktueller Stand der sonographischen Gewebeklassifizierung. JB d Rad. 1991;135-44.

9 ANHANG

Tab. 1, Anhang: t-Test der in den Graphiken gegenübergestellten Untersuchungsgruppen an den Untersuchungstagen

Tag/ Gruppen	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.1z/1.1b	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	#	=	#	#	#	#	=
2.1z/2.1b	■									#	#	#	#	=	#	#	#	#	=
2.1z/2.2b	■									#	#	=	=	=	#	#	#	=	=
2.1b/2.2b	■										#	#	#	=	=	=	=	=	=
4b/3b	■									#	#	#	#	#	#	#	#	#	=

= : keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$)

: signifikante Unterschiede ($p < 0,05$)

■ : keine Daten vorhanden

Tab. 2, Anhang: ROC-Analyse der Mittelwerte der Graustufen von 104 Sauen an Tag 12
(Daten zu Abb. 15)

Schwellenwert	Spezifität	Sensitivität	Schwellenwert	Spezifität	Sensitivität
4,85	1	0	9,2188	0,917	0,63
5,8583	1	0,012	9,2465	0,917	0,642
5,9833	1	0,025	9,259	0,917	0,654
6,2	1	0,037	9,2676	0,917	0,667
6,3167	1	0,049	9,2864	0,917	0,679
6,4042	1	0,062	9,3063	0,917	0,691
6,6542	1	0,074	9,3313	0,917	0,704
6,8738	1	0,086	9,36	0,917	0,752
7,1429	1	0,099	9,3921	0,917	0,728
7,3795	1	0,111	9,4238	0,917	0,741
7,5104	1	0,123	9,4333	0,917	0,753
7,6881	1	0,136	9,4354	0,917	0,765
7,7464	1	0,148	9,4438	0,917	0,778
7,8833	1	0,16	9,4875	0,917	0,79
8,025	1	0,173	9,5268	0,917	0,802
8,0817	1	0,185	9,5335	0,917	0,815
8,1364	1	0,198	9,5492	0,917	0,827
8,1464	1	0,21	9,575	0,875	0,827
8,1536	1	0,222	9,6164	0,875	0,84
8,1886	1	0,235	9,6548	0,875	0,852
8,2267	1	0,247	9,7119	0,875	0,877
8,2417	1	0,259	9,7586	0,875	0,889
8,2528	1	0,272	9,7633	0,875	0,901
8,2878	1	0,284	9,769	0,833	0,901
8,3413	1	0,296	9,7968	0,833	0,914
8,3813	1	0,309	9,8674	0,833	0,926
8,4167	0,958	0,309	9,9491	0,792	0,926
8,4479	0,958	0,321	9,9929	0,75	0,926
8,4813	0,958	0,333	10,025	0,708	0,926
8,51	0,958	0,346	10,0536	0,667	0,926
8,5314	0,958	0,358	10,0886	0,667	0,938
8,5643	0,958	0,37	10,1243	0,625	0,938
8,5929	0,917	0,37	10,1429	0,583	0,938
8,6278	0,917	0,383	10,1643	0,542	0,938
8,6635	0,917	0,395	10,1746	0,542	0,951
8,6732	0,917	0,407	10,1889	0,542	0,963
8,6875	0,917	0,42	10,2071	0,542	0,975
8,7056	0,917	0,432	10,2238	0,5	0,975
8,7243	0,917	0,444	10,2354	0,458	0,975
8,8188	0,917	0,457	10,2438	0,458	0,988
8,9071	0,917	0,469	10,2607	0,417	0,988
8,9183	0,917	0,481	10,2714	0,375	0,988
8,9278	0,917	0,494	10,3	0,333	0,988
8,9444	0,917	0,506	10,3543	0,292	0,988
8,9778	0,917	0,519	10,3829	0,25	0,988
9,0125	0,917	0,531	10,4345	0,25	1
9,0563	0,917	0,543	10,5167	0,208	1
9,0938	0,917	0,556	10,565	0,167	1
9,12	0,917	0,568	10,6088	0,125	1
9,145	0,917	0,58	10,6854	0,083	1
9,1607	0,917	0,593	10,7524	0,042	1
9,1774	0,917	0,605	11,7714	0	1
9,1917	0,917	0,617			

Tab. 3, Anhang: ROC-Analyse der Mittelwerte der Graustufen von 102 Sauen an Tag 12
(Daten zu Abb. 16)

Schwellenwert	Spezifität	Sensitivität	Schwellenwert	Spezifität	Sensitivität
4,85	1	0	9,2188	1	0,63
5,8583	1	0,012	9,2465	1	0,642
5,9833	1	0,025	9,259	1	0,654
6,2	1	0,037	9,2676	1	0,667
6,3167	1	0,049	9,2864	1	0,679
6,4042	1	0,062	9,3063	1	0,691
6,6542	1	0,074	9,3313	1	0,704
6,8738	1	0,086	9,36	1	0,716
7,1429	1	0,099	9,3921	1	0,728
7,3795	1	0,111	9,4238	1	0,741
7,5104	1	0,123	9,4333	1	0,753
7,6881	1	0,136	9,4354	1	0,765
7,7464	1	0,148	9,4438	1	0,778
7,8833	1	0,16	9,4875	1	0,79
8,025	1	0,173	9,5268	1	0,802
8,0817	1	0,185	9,5335	1	0,815
8,1364	1	0,198	9,5492	1	0,827
8,1464	1	0,21	9,575	0,952	0,827
8,1536	1	0,222	9,6164	0,952	0,84
8,1886	1	0,235	9,6548	0,952	0,852
8,2267	1	0,247	9,7119	0,952	0,877
8,2417	1	0,259	9,7586	0,952	0,889
8,2528	1	0,272	9,7633	0,952	0,901
8,2878	1	0,284	9,769	0,905	0,901
8,3413	1	0,296	9,7968	0,905	0,914
8,3979	1	0,309	9,8674	0,905	0,926
8,4479	1	0,321	9,9491	0,857	0,926
8,4813	1	0,333	9,9929	0,81	0,926
8,51	1	0,346	10,025	0,762	0,926
8,5314	1	0,358	10,0536	0,714	0,926
8,5714	1	0,37	10,0886	0,714	0,938
8,6278	1	0,383	10,1243	0,667	0,938
8,6635	1	0,395	10,15	0,619	0,938
8,6732	1	0,407	10,1746	0,619	0,951
8,6875	1	0,42	10,1889	0,619	0,963
8,7056	1	0,432	10,2071	0,619	0,975
8,7243	1	0,444	10,2238	0,571	0,975
8,8188	1	0,457	10,2354	0,524	0,975
8,9071	1	0,469	10,2438	0,524	0,988
8,9183	1	0,481	10,2607	0,476	0,988
8,9278	1	0,494	10,2714	0,429	0,988
8,9444	1	0,506	10,3	0,381	0,988
8,9778	1	0,519	10,3543	0,333	0,988
9,0125	1	0,531	10,3829	0,286	0,988
9,0563	1	0,543	10,4345	0,286	1
9,0938	1	0,556	10,5167	0,238	1
9,12	1	0,568	10,565	0,19	1
9,145	1	0,58	10,6088	0,143	1
9,1607	1	0,593	10,6854	0,095	1
9,1774	1	0,605	10,7524	0,048	1
9,1917	1	0,617	11,7714	0	1

10 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Axel Sobiraj danke ich für die Überlassung dieses Themas, für die Korrektur dieser Arbeit und die Freiräume während der Erstellung dieser Arbeit.

Mein besonders herzlicher Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. Johannes Kauffold für die Einführung in die Sonographie, wissenschaftliche Beratung und die konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit.

Bei Herrn Prof. Dr. Michael Wendt möchte ich mich für die Möglichkeit der Unterbringung meiner Sauen in Hannover und die dort gewährleistete Unterstützung bedanken.

Der Veyx-Pharma GmbH danke ich für die Leihgabe von Ultraschallgerät, A/D-Wandler und Laptop. Hier gilt mein besonderer Dank Frau Dr. Engl.

Bei Frau Merke bedanke ich mich für ihre aufgeschlossene Art, und dass ich im Schweinestall in Gallschütz immer willkommen war.

Frau Bode und Herrn Schlotter danke ich für die Hilfe bei der Betreuung der Schweine in Hannover.

Vielen Dank auch an Herrn Kuchler in Oberholz für den freien Zugang zum Schweinestall zu allen Tages- und Nachtzeiten.

Besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Gottschalk, Frau Kühn und dem Team des Isotopenlabors des Veterinär-Physiologischen Institutes der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig für die Analyse der Hormonproben.

Herrn Richter gilt mein Dank für die Hilfe bei der statistischen Bearbeitung des Datenmaterials.

Jochen und Kerstin für die vielen lustigen und nicht so lustigen Stunden.

Jule, die mich vor/während der Erstellung dieser Arbeit ertragen musste und die seltsamerweise fast immer gut gelaunt und optimistisch war.