

# Klinische, endokrine und sonographische Untersuchungen zum Zyklus der ingraviden Stute

---

SARA LAUFKÖTTER

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2015

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2015

© 2015 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und  
Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-  
Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

**Klinische, endokrine und sonographische  
Untersuchungen zum Zyklus der ingraviden Stute**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Sara Laufkötter**

Tierärztin aus Würselen (Nordrhein-Westfalen)

Gießen 2014

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Gutachter/in: Prof. Dr. Axel Wehrend

PD Dr. Axel Schönfelder

Tag der Disputation: 01.04.2015

## INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG.....	1
2	LITERATUR.....	2
2.1	Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane der Stute .....	2
2.1.1	Vulva, Vestibulum, Vagina .....	2
2.1.2	Gebärmutter .....	3
2.1.3	Eileiter .....	5
2.1.4	Eierstöcke .....	5
2.2	Zyklus der Stute .....	6
2.2.1	Follikelentwicklung und Ovulation.....	7
2.2.2	Entwicklung des <i>Corpus luteum</i> .....	10
2.2.3	Rosseverhalten .....	12
2.2.4	Endokrine Regulation des Zyklus .....	13
2.3	Klinische Untersuchungsmöglichkeiten.....	16
2.3.1	Transrektale Palpation .....	17
2.3.2	Vaginoskopie .....	18
2.4	Sonographie.....	20
2.4.1	Physikalische Grundlagen .....	20
2.4.2	Verhalten von Ultraschall im Gewebe.....	21
2.4.3	Bildwiedergabe und Abbildungsverfahren .....	22
2.4.4	Transrektale Sonographie des Ovars der Stute.....	22
2.4.5	Quantitative Graustufenanalyse in der Ultraschalldiagnostik .....	25
2.4.6	Fehlerquellen der Graustufenanalyse.....	27
2.4.7	Einsatz der Graustufenanalyse.....	27
2.4.7.1	Humanmedizin .....	28
2.4.7.2	Veterinärmedizin .....	30
3	MATERIAL UND METHODEN .....	34
3.1	Probandenkollektiv .....	34
3.2	Vorversuche .....	34
3.2.1	Identifizierung des <i>Corpus luteum</i> in vitro.....	34
3.2.2	Druckeinwirkung .....	34
3.2.3	Differenzierbarkeit von Ovargewebe und dem <i>Corpus luteum</i> .....	35
3.3	Untersuchungsmethoden .....	35

3.3.1	Sonographische Untersuchung.....	35
3.3.1.1	Ultraschallgerät und verwendete Einstellungen.....	37
3.3.1.2	Deskriptive Auswertung der sonographischen Befunde des Gelbkörpers....	38
3.3.1.3	Festlegung der ROI's und quantitative Graustufenanalyse (qGSA) .....	40
3.3.2	Vaginoskopische Untersuchung .....	42
3.3.3	Blutuntersuchung .....	44
3.4	Untersuchungsintervalle.....	44
3.4.1	Untersuchung 1.....	44
3.4.2	Untersuchung 2.....	45
3.5	Statistische Methoden .....	46
3.5.1	Statistische Auswertungen.....	46
3.5.2	Synchronisation der Zyklen.....	47
3.5.3	Relativer Grauwert.....	48
3.5.4	Transformierte Plasmaprogesteronkonzentration.....	48
3.5.5	Transformierte Plasma-Östradiol17 $\beta$ -Konzentration .....	49
4	ERGEBNISSE .....	50
4.1	Vorversuche .....	50
4.1.1	Sonographische Untersuchung an Schlachthoforganen .....	50
4.1.2	Druckeinwirkung .....	51
4.1.3	Differenzierbarkeit von Ovargewebe und dem <i>Corpus luteum</i> in vivo.....	52
4.2	Sonographische Untersuchung am lebenden Tier.....	55
4.2.1	Sonographische Darstellung des <i>Corpus luteum</i> im Verlauf des Zyklus .....	55
4.2.2	Differenzierte Betrachtung der <i>Corpora lutea</i> im Verlauf des Zyklus.....	57
4.2.2.1	Größe, Echogenität und Homogenität .....	57
4.2.2.1.1	Durchgang 1 .....	57
4.2.2.1.2	Durchgang 2 .....	64
4.2.3	Grauwertanalyse über den Zyklusverlauf .....	67
4.2.3.1	Durchgang 1 .....	67
4.2.3.2	Durchgang 2 .....	71
4.3	Muttermund .....	73
4.4	Hormoneller Verlauf .....	75
4.4.1	Progesteronkonzentration im Blutplasma .....	75
4.4.2	Östradiol-17 $\beta$ im Blutplasma.....	81
4.5	Korrelationen .....	85

4.5.1	Durchgang 1 synchronisiert .....	85
4.5.1.1	Korrelation zwischen der qGSA und dem hormonellen Verlauf.....	85
4.5.1.2	Korrelation zwischen der qGSA und der Formation des äußeren Muttermundes .....	87
4.5.1.3	Korrelation zwischen der Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes.....	88
4.5.2	Durchgang 2 .....	90
4.5.2.1	Korrelation zwischen der qGSA und dem hormonellen Verlauf.....	90
4.5.2.2	Korrelation zwischen der qGSA und der Formation des äußeren Muttermundes .....	92
4.5.2.3	Korrelation zwischen der Progesteron- bzw. Östradiol-17 $\beta$ Konzentration im Blut und der Formation des äußeren Muttermundes .....	94
4.5.3	Durchgang 1 nicht synchronisiert.....	97
4.5.3.1	Korrelation zwischen der qGSA und dem hormonellen Verlauf.....	97
4.5.3.2	Korrelation zwischen der qGSA und der Formation des Muttermundes.....	100
4.5.3.3	Korrelation zwischen der Progesteron- bzw. der Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration im Blut und der Formation des äußeren Muttermundes .....	101
5	DISKUSSION .....	105
5.1	Diskussion der Fragestellung.....	105
5.2	Diskussion der Methode.....	105
5.3	Diskussion der Ergebnisse.....	108
5.3.1	Vorversuche .....	108
5.3.2	Sonographische Untersuchung inklusive Graustufenanalyse .....	109
5.3.3	Muttermund.....	114
5.3.4	Hormoneller Verlauf .....	114
5.3.5	Korrelationen.....	116
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	119
7	SUMMARY .....	121
8	LITERATURVERZEICHNIS .....	123

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

± s	Standardabweichung
µm	Mikrometer
ad us. vet.	ad usum veterinarium
AG	Aktiengesellschaft
A-Mode	Amplitudenmodulation
B-Mode	Brightness modulation
C.l.	<i>Corpus luteum</i>
E17β	Östradiol-17β
et al.	et alii
F	Follikel
Fa	Firma
FSH	Follikulin, follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
GSA	Graustufenanalyse
GW	Grauwert
Habil.-Schr.	Habilitationsschrift
hCG	human Chorion Gonadotropin
Hz	Hertz
kHz	Kilohertz
lg	Logarithmus
LH	Lutropin, follikelstimulierendes Hormon
Lmean	Mittelwert der Grauwertverteilung, gemessener Grauwert
max	Maxima
MHz	Megahertz
Min	Minima
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
Nall	Maximalwert von Grauwertpixeln
ng	Nanogramm
Nmost	Modalwert der meist aufgefundenen Grauwertpixel
p	Wahrscheinlichkeit

P4	Progesteron
pg	Pikogramm
PGF2 $\alpha$	Prostaglandin F2 $\alpha$
PGFM	13,14-dihydro-15-keto-PGF2 $\alpha$
qGSA	quantitative Graustufenanalyse
r	Kreuzkorrelationskoeffizienten nach Pearson
resp.	respektive
ROI(s)	region(s) of interest
rs	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
SD	Standardabweichung
U/min	Umdrehungen pro Minute
$x_a$	arithmetischer Mittelwert



## 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die sonographische Untersuchung ist ein unverzichtbarer Bestandteil der gynäkologischen Untersuchung der Stute. Die Ultraschalluntersuchung ermöglicht eine Objektivierung der bei der transrektalen Palpation geschätzten Dimensionen von Organen und Funktionskörpern, weiter kann die Struktur der Gewebe und gegebenenfalls vorhandener Inhalt dargestellt werden. Auf dem Ovar können in erster Linie die Anwesenheit, das Wachstum und die Ovulation von Follikeln beurteilt werden. Im Gegensatz dazu lässt sich der Gelbkörper deutlich schwieriger sonographisch darstellen, da er in das Ovargewebe integriert ist und die Oberfläche des Eierstockes nicht überragt. Die sonographische Grauwertanalyse könnte in der Darstellung des *Corpus luteum* einen Fortschritt darstellen.

In der vorliegenden Arbeit sollen daher folgende Fragen beantwortet werden:

- Lässt sich der equine Gelbkörper eindeutig mittels sonographischer quantitativer Grauwertanalyse darstellen?
- Verändert sich der Grauwert des Gelbkörpers im Verlauf des Zyklus der Stute?
- Kann aus dem Grauwert des Gelbkörpers auf den Zyklusstand rückgeschlossen werden?
- Lässt sich aus der sonographischen Darstellung von Lutealgewebe eine Aussage über dessen endokrine Potenz ableiten?
- Lässt sich aus der Form der Portio vaginalis cervicis auf die Aktivität eines Gelbkörpers schließen?

## 2 LITERATUR

### 2.1 ANATOMIE DER WEIBLICHEN GESCHLECHTSORGANE DER STUTE

Nach KÖNIG und LIEBICH (1999) können die weiblichen Geschlechtsorgane morphologisch und funktionell in verschiedene Abschnitte gegliedert werden: die keimbereitenden Eierstöcke, die keimleitenden Eileiter und die keimbewahrende Gebärmutter. Zwischen Gebärmutter und Cavum uteri liegt die Zervix als Verschluss- und Schutz Einrichtung (BARTMANN et al., 2002). Vulva, Klitoris, Vestibulum und Vagina dienen als Begattungsorgan und Geburtsweg.

Die im Folgenden beschriebenen Verhältnisse orientieren sich an einer nicht trächtigen, durchschnittlich schweren und großen, geschlechtsreifen Warmblutstute. Je nach Rasse, Alter oder Trächtigkeit können entsprechende Veränderungen in Größe und Lage auftreten.

#### 2.1.1 VULVA, VESTIBULUM, VAGINA

Der weibliche Genitaltrakt wird nach außen durch die beiden Schamlippen, *Labia vulvae (pudendi)* begrenzt. Diese bilden die im Idealfall senkrecht stehende, geschlossene Schamspalte, *Rima vulvae (pudendi)* (BARTMANN et al., 2002). Bei der Stute ist der dorsale Schamwinkel spitz zulaufend und der ventrale abgerundet. Im ventralen Schamwinkel, in der *Fossa clitoridis* des Scheidenvorhofs verborgen, liegt der Kitzler (*Clitoris*) (KÖNIG und LIEBIG, 1999).

Die Grenze zwischen Scheide und Scheidenvorhof wird vom atavistischen Rest des Hymens gebildet, welcher unmittelbar kranial der Harnröhrenöffnung quer verlaufend am Boden der Scheide liegt (BARTMANN et al., 2002). Dieser Hymenrest bildet einen Verschluss der Scheide und ist eine wichtige Barriere gegen das Eindringen pathogener Keime in den Genitaltrakt (REIF, 2002). KLEIN et al. (2009) konnten nachweisen, dass am Hymenalring die stärkste Keimreduktion zwischen Scheide und Scheidenvorhof, nämlich um 60 %, stattfindet. Weiter kranial im Genitaltrakt wird die Anzahl an Keimen zwar weiter reduziert, aber nicht mehr in einem solchen Maß.

Die Scheide (Vagina) befindet sich dorsal der Harnblase unter dem Enddarm. Kranial liegt sie dem Peritoneum an, und zwar dorsal der *Excavatio rectogenitalis* und

ventral der *Excavatio vesicogenitalis*. Am kranialen Ende der Vagina liegt die in die Vagina hineinragende *Portio vaginalis*, die von einer *Fornix vaginae* umgeben ist. Zentral der *Portio vaginalis* liegt der äußere Muttermund (*Ostium uteri externum*) (BUDRAS und LIEBICH, 2009).

Die Wand der Vagina besteht aus einer kutanen Schleimhaut, die über weite Flächen drüsenlos und meist in kleinen Längsfalten verläuft und mit mehrschichtigem Epithel bedeckt ist, einer lockeren kollagenenlastischen Lamina propria und einer glatten Muskelschicht mit elastischen Fasereinlagerungen. Die Muskelschicht setzt sich aus einer inneren, meist zirkulär verlaufenden und einer äußeren, längs verlaufenden Schicht zusammen. Die beiden Schichten sind durch feinfibrilläre elastische, kollagene Fasern verbunden, wodurch eine funktionelle Stabilität, Plastizität und Kontraktilität der Scheidenwand gegeben ist. Im peritonäalen Teil der Beckenhöhle folgt von einer lockeren Tunica serosa, im retroperitonäalen Raum eine Tunica adventitia (HAMMOND und WODZICKI, 1941; LEISER, 1990; LIEBICH und KÖLLE, 2010).

### **2.1.2 GEBÄRMUTTER**

Die Gebärmutter besteht aus dem Gebärmutterkörper, den Gebärmutterhörnern und dem Gebärmutterhals. Der Gebärmutterkörper (*Corpus uteri*) und die beiden schlauchförmigen Gebärmutterhörner (*Cornua uteri*) sind jeweils ca. 25 cm lang und liegen fast vollständig in der Bauchhöhle. Der ca. 6 cm lange Gebärmutterhals (*Cervix uteri*) liegt vollständig in der Beckenhöhle dorsal von Harnblase und Urethra und ist über das lateral ansetzende *Mesometrium* an der Beckenwand fixiert (SCHUMMER und VOLLMERHAUS, 1987; BUDRAS und LIEBICH, 2009; MIRO, 2012). Das Epithel der Zervikalschleimhaut besteht aus Becherzellen, vereinzelt Flimmerzellen und vor allem schleimbildenden (muzigenen) Zellen. Das gebildete Sekret ist im Östrus unter Östrogeneinfluss dünnflüssig, unter Progesteroneinfluss zähflüssig-klebrig und dient als Zervixverschluss (LEISER, 1990). Mikroskopisch betrachtet besteht die Zervix aus vier Schichten. Innen wird der Zervixkanal von der *Tunica mucosa* ausgekleidet. Darunterliegend folgen die *Tela submucosa* und die *Tunica muscularis*. Zu den Körperhöhlen hin wird die Zervix von der *Tunica serosa* überzogen (LIEBICH und KÖLLE, 2010). Hervorzuheben ist, dass entlang des

gesamten *Canalis cervicalis* auf der freien Zellmembran ein Ziliensaum besteht. Des weiteren sind die tiefen Schichten der *Tela submucosa* besonders stark vaskularisiert. Vermutet wird, dass dieser Venenplexus die Verschlussfunktion des Zervikalkanals unterstützt (HUCHZERMEYER, 2003; HUCHZERMEYER et al., 2005). Nach KLEIN et al. (2009) ergänzen sich Hymenalring und Zervix in ihrer Barrierefunktion gegen Bakterien, indem der Hymenalring als unspezifischer anatomischer Schutz wirkt, während die Zervix vor allem eine selektive Barriere gegen fakultativ pathogene Keime darstellt.

An den Gebärmutterhörnern befindet sich dorsal der *Margo mesometricus* und ventral der *Margo liber*. Das Gebärmuttergekröse ist am *Margo mesometricus* und seitlich am *Corpus uteri* bis zum Gebärmutterhals befestigt. Die Gebärmutterhörner werden durch Darmanteile gegen die innere Lendenmuskulatur gedrängt und gehen in einem kranioventral konvexen Bogen in die Eileiter über (BARTMANN et al., 2002).

Die Wand der Gebärmutter besteht aus drei Schichten, dem Endometrium, dem Myometrium und dem Perimetrium (BARTMANN et al., 2002).

Das Endometrium liegt ohne gesonderte *Tela submucosa* der Muskelschicht auf und besteht aus dem Oberflächenepithel und der darunterliegenden *Lamina propria*. Das Oberflächenepithel setzt sich aus einschichtigem, hochprismatischem Epithel, drüsenreicher *Lamina propria mucosae* und zum Teil oberflächlich aufliegenden Kinozilien zusammen. Unter Einfluss von Östrogen wird vermehrt Sekret produziert, zu welchem sich gegen Ende der Sekretionsphase zerfallene Epithelzellen mischen. Die *Lamina propria* ist bindegewebig und schließt eine große Anzahl tubulär verzweigter Uterindrüsen ein (LIEBICH und KÖLLE, 2010).

Die innere Schicht des Myometriums ist eine sehr kräftige, zirkulär verlaufende Schicht glatter Muskulatur mit spiraligem, sich kreuzenden Faserverlauf. Dieser Schicht liegt das *Stratum vasculosum* auf, in dem die Blutgefäße verlaufen. Die äußere Schicht besteht aus schwächeren, longitudinal verlaufenden Muskeln. Das Perimetrium überzieht abschließend das gesamte Organ (BARTMANN et al., 2002).

### 2.1.3 EILEITER

Die paarigen Eileiter sind etwa 20 bis 30 cm lang, verlaufen stark gewunden und englumig und werden in verschiedene Abschnitte eingeteilt. Das zum Ovar gewandte Ende des Eileiters, das *Infundibulum tubae uterinae*, ist trichterförmig und trägt auf der Innenfläche Schleimhautfalten mit *Fimbriae tubae*. Diese legen sich an das Ovar an und verkleben zum Teil auch mit dessen Oberfläche. An das Infundibulum schließt sich die *Ampulla tubae uterinae* an, ein geringfügig erweiterter Abschnitt des Eileiters, in dem die Befruchtung stattfindet und die Eizelle einige Tage verweilt. Es folgt der längere, gewundene enge Teil *Isthmus tubae uterinae*. Die Öffnung zum Uterus, das *Ostium uterinum tubae*, liegt bei der Stute auf einer Papille, die als Barriere gegen aufsteigende Keime dient (SCHUMMER und VOLLMERHAUS, 1987; BARTMANN et al., 2002; LIEBICH und KÖLLE, 2010).

### 2.1.4 EIERSTÖCKE

Die Eierstöcke liegen eine Handbreit kaudal der Nieren, etwa auf Höhe der Querfortsätze des fünften Lendenwirbels. Sie sind durch ein etwa 15 cm langes Gekröse, dem Mesovarium, aufgehängt, welches am *Margo mesovaricus* ansetzt. In dem Gekröse verlaufen zu- und abführende Gefäße und Nerven (LIEBICH und KÖLLE, 2010, MIRO, 2012). Während der zyklischen Aktivität sind die Ovarien durchschnittlich 6 x 4 x 3 cm groß und von bohnenförmiger Gestalt, die sich im Verlauf eines Zyklus in Größe und Form erheblich ändern kann. Im Vergleich zu anderen Haussäugetieren weist das Ovar der Stute deutliche Unterschiede auf. Im Inneren des Organs liegt die zentrale Markzone (*Zona parenchymatosa*), die lediglich in der *Fossa ovarii* die Eierstockoberfläche erreicht. In der *Zona parenchymatosa* befinden sich die Funktionsgebilde Follikel und Gelbkörper. Glockenförmig darum liegt die Rindenzone (*Zona vasculosa*). Dem Organ liegt eine dünne Bindegewebsschicht auf, die *Tunica albuginea*, und eine Lage Epithelzellen. Ovulationen können aufgrund des besonderen Aufbaus des Stutenovars nur im Bereich der Ovulationsgrube stattfinden, da nur dort die Follikelausdehnung durch keinerlei feste Grenzschichten behindert wird. Dennoch können Follikel durch ihr starkes Größenwachstum im Verlauf eines Zyklus palpiert werden. Ein Gelbkörper

wird im Gegensatz dazu nicht so groß und dehnt sich mehr in das Innere des Organs aus. Er überragt die Oberfläche nicht und ist palpatorisch nicht zu erfassen (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990; McCUE, 1998).

## **2.2 ZYKLUS DER STUTE**

Stuten gehören zu den saisonal polyöstrischen Tieren, d. h. der Sexualzyklus setzt im Winter einige Wochen bis Monate aus (HANDLER und AURICH, 2009). Der Zyklus wird durch Umweltfaktoren wie Tageslichtlänge, Fütterung, Klima und letztlich durch übergeordnete Schaltzentren im zentralen Nervensystem gesteuert. Zunehmende Tageslichtlängen stimulieren das Heranreifen eines sprungreifen Follikels. Pferde haben nach 9,5 - 10,5 Stunden Dunkelheit eine sogenannte photosensitive Phase. Herrscht zu dieser Zeit Dunkelheit, kommt es zu hohen Melaninkonzentrationen im Plasma, wodurch weniger GnRH ausgeschüttet wird (AURICH et al. 1993). Die natürliche Paarungssaison ist beim Pferd in Europa also in den Monaten April bis August zu erwarten (GLATZEL, 1997).

Die Pubertät mit der ersten ovulatorischen Rosse setzt etwa im Alter von 18 Monaten ein. Bei spät im Jahr geborenen Stuten kann die erste Ovulation im folgenden Jahr entweder mit zunehmender Tageslichtlänge eintreten oder aber auch schon einige Monate früher. Dabei spielt die Fütterung eine Rolle. Bei restriktiver Fütterung im zweiten Lebensjahr verzögert sich das Auftreten der Rosse (AURICH et al., 1993).

Der Zyklus der Stute dauert 21 bis 22 Tage und setzt sich aus der Rosse (Östrus, 5 - 7 Tage) und der Zwischenrosse (Diöstrus) zusammen. Zu Beginn der Zuchtsaison ist die Rosse eher länger (bis zu 10 Tage) und weniger stark ausgeprägt (BUSCH und BADER, 2006). Nach HANDLER und AURICH (2009) ist eine weitere Unterteilung der Zyklusphasen für die Praxis der Pferdezucht nicht angebracht, dennoch wird der Zeitraum der Zwischenrosse häufig analog zu den anderen Tierarten weiter unterteilt. Unterschieden wird in Postöstrus mit Gelbkörperanbildung und zunehmendem Progesteroneinfluss (4 - 5 Tage nach der Ovulation), Diöstrus, Phase der Gelbkörperblüte mit maximaler Plasmaprogesteronkonzentration und dem Proöstrus vom Beginn der Luteolyse bis zum Einsetzen der Rosse (ca. 24 - 72 Stunden) (HANDLER und AURICH, 2009). Im Östrus kommt es zu einer progressiven Erweichung, Erschlaffung und Ödematisierung der Zervix und des Uterus. Uterus

und Zervix sind wenig kontraktile. Durch die östrogeninduzierte Ödematisierung und Verdickung der Endometriumfalten vergrößern sich die Uterushörner und der Uterus erscheint „radspeichenartig“ gefeldert. Dieses Erscheinungsbild nimmt in der Rosse zu und ein bis zwei Tage vor der Ovulation wieder ab (HANDLER und AURICH, 2009; McCUE et al., 2011). Bei der vaginalen Untersuchung fällt oft ein weißlicher Belag ventral der Vulva auf. Dieser enthält Kristalle aus Kalziumkarbonat, die mit dem im Östrus vom Endometrium produzierten Schleim an der Vulva haften. Solche Beläge müssen von eitrigem Ausfluss, wie er bei Stuten mit Endometritis auftritt, unterschieden werden (McCue et al., 2011). Bei der vaginalen Untersuchung erscheint die Zervix schlaff und ist für ein bis drei Finger passierbar. Bei fortschreitender Rosse kann sich die Zervix noch weiter öffnen. Ihre Form wechselt von rosettenförmig über schlaff bis verlaufend, die *Portio vaginalis uteri* sinkt auf den Scheidenboden. Die Schleimhaut ist infolge der vermehrten Hyperämisierung rosarot und zunehmend feucht, der Zervikalschleim ist von geringer Viskosität (HANDLER und AURICH, 2009; McCue et al., 2011).

### **2.2.1 FOLLIKELENTWICKLUNG UND OVULATION**

In der Zona parenchymatosa des Stutenovars befinden sich die Ovarialfollikel, bestehend aus Oozyte und Follikelzellen. Die Entwicklung eines Follikels zu einem sprungreifen Graaf-Follikel durchläuft vier Stadien, in der sich die Größe der Oozyte und der Grad der Entwicklung der Follikelhüllen verändern.

Oozyten liegen beim geschlechtsreifen Tier bis zur Ovulation als Ruhestadium in der späten Phase der Prophase I der Meiose vor und werden von abgeplatteten undifferenzierten Follikelzellen umgeben. In diesem Stadium spricht man vom Primordialfollikel. Er hat einen Durchmesser von etwa 30 µm (LIEBICH und KÖLLE, 2010). Nach HOHENHAUS und LEHMANN (1990) ist die Anzahl der Primordialfollikel bei der geschlechtsreifen Stute mit 36000 deutlich geringer als bei anderen Haussäugetieren.

Die vier Stadien der Follikelentwicklung sind:

- Nach Aktivierung entsteht der Primärfollikel, der von einer einschichtigen isoprismatischen Schicht von Follikelzellen umgeben wird und bei dem das Zytoplasma der Oozyste geringgradig an Volumen zunimmt.

- Durch mitotische Teilung der Follikelzellen entsteht der Sekundärfollikel, in dem die Oozyte eine Größe von 80  $\mu\text{m}$  erreicht. Es entsteht die *Zona pellucida*, eine feinfibrilläre, glykoproteinreiche Grenzschrift, die zwischen Oozyte und anliegenden, jetzt mehrschichtigen Follikelzellen liegt. Bereits in diesem Stadium differenzieren sich die Follikelzellen in innere Corona-radiata Zellen, mittlere Intermediärzellen und äußere Basalzellen. Ganz außen bildet sich eine dünne bindegewebige Schicht, die *Theca follicularis*.
- Der Übergang vom Sekundär- zum Tertiärfollikel ist durch die Ausbildung eines flüssigkeitsgefüllten Hohlraumes gekennzeichnet, der durch ein Auseinanderweichen der Intermediärzellen entsteht und *Antrum folliculare* genannt wird. Mit zunehmender Größe des Hohlraumes werden die Follikelzellen nach außen gedrängt und jetzt in eine *Theca follicularis interna* und *externa* unterteilt. Sie übernehmen verschiedene Aufgaben: die äußeren Basalzellen stehen mit der Basalmembran des Follikels in Kontakt und dienen der Ernährung, dem Stoffwechseltransport und der Produktion der Follikelflüssigkeit. Außerdem produzieren sie Östrogene. Auch die dazwischen liegende Schicht aus Intermediärzellen beteiligt sich an Stofftransport und Bildung der Follikelflüssigkeit. Die innere Schicht der Follikelwand, bestehend aus Granulosazellen, produziert die Flüssigkeit der Follikelhöhle und überzieht als Corona radiata den Eihügel (*cumulus oophorus*). In dieser Schicht transformieren sich Stromazellen zu epitheloiden Zellen, die Steroidhormone wie Testosteron und Androgene synthetisieren. Der Cumulus oophorus liegt exzentrisch in der Follikelhöhle und beherbergt in seiner Mitte die Oozyte mit der Zona pellucida. Im Stadium des Tertiärfollikels ist die Oozyte 130 -150  $\mu\text{m}$  groß und hat damit ihr Größenwachstum abgeschlossen (LIEBICH und KÖLLE, 2010).
- Der präovulatorische Follikel wird auch Graafscher Follikel genannt. Dieser erreicht beim Warmblutpferd eine Größe von 20 - 70 mm Durchmesser, wobei der mittlere Durchmesser bei 49 mm liegt. Da im präovulatorischen Follikel die Dichte von LH/hCG-Rezeptoren ansteigt, findet die durch LH stimulierte follikuläre Androgensynthese in gesteigertem Maße statt. Diese Androgene werden, je näher der Zeitpunkt der Ovulation rückt, zu Östrogenen aromatisiert. Durch den starken Anstieg an Östrogenen im peripheren Blut kommt es zu Rosseerscheinungen. Im präovulatorischen Follikel kommt es weiterhin zu einem

Anstieg von Progesteron. Allerdings steigt der Progesteronwert im Blut erst nach der Ovulation messbar an (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990; VANDERWALL, 2011). An der Feinregelung der lokalen Prozesse sind neben FSH und LH auch verschiedene Wachstumsfaktoren beteiligt. Diese wirken teils stimulierend teils hemmend auf die Synthese verschiedener Enzyme, die für die Steroidsynthese wichtig sind (KANITZ, 2001).

Der Follikel wird während seines Größenwachstums durch Bindegewebsstränge zur Ovulationsgrube geleitet (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990). Dort kommt es zur Ovulation, d. h. Reißen der Follikelwand und anschließendem langsamen Auslaufen des Follikels, der zu dieser Zeit von weicher, fluktuierender Konsistenz ist (GLATZEL, et al. 1981). Bei Stuten findet dieser Vorgang gegen Ende der mehrtägigen Rosse statt. Mit großer individueller und jahreszeitlicher Variabilität findet dieser Vorgang in der Zeit vom ersten bis zum fünften Östrustag und sogar bis zu fünf Tagen nach Beendigung der äußeren Rosseanzeichen statt. Außerdem kann es zu rosseunabhängigen Ovulationen in der Lutealphase kommen (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990). In einer Studie von HOHENHAUS und BOSTEDT (1992) kam es bei 14 % der Stuten (105 Stuten mit insgesamt 135 Rossen) zu einer Doppelovulation. In ältere Angaben in der Literatur werden von Doppel- und Mehrfachovulationen bei 14 bis 40 % genannt (WARZAWSKY et al., 1972; GINTHER und PIERSON, 1989).

Während eines Zyklus wachsen gleichzeitig mehrere Follikel heran, die zusammen als Follikelwelle bezeichnet werden (AURICH und KLUG, 1993). Bei Stuten werden ein bis zwei Follikelwellen pro Zyklus gebildet. Während einer Reifungswelle werden Follikel rekrutiert, selektiert und es kommt zur Dominanz von einem oder zwei Follikel (KANITZ, 2001). Für die Selektion von Follikeln ist die der Reifungswelle vorausgehende FSH-Konzentrationserhöhung verantwortlich (BERGFELD und GINTHER, 1993), für die Selektion des dominanten Follikels abnehmende FSH- und ansteigende LH-Konzentrationen (KANITZ, 2001). Durch Inhibin hemmt der dominante Follikel das gleichzeitige Wachsen kleinerer Follikel. Inhibin hemmt in der Hypophyse die FSH-Freisetzung, die LH-Sekretion wird nicht beeinflusst (AURICH und KLUG, 1993). Steht weniger FSH zur Verfügung, wird das Follikelwachstum der nichtdominanten Follikel weniger stimuliert und es kommt zur Atresie. Der dominante

Follikel selbst ist bereits in einem Stadium, in dem er sich unabhängig von FSH unter Einfluss von LH entwickelt. Etwa acht Tage vor der Ovulation nimmt die Anzahl der LH-Rezeptoren im Follikel­epithel zu, die der FSH-Rezeptoren ab (GINTHER et al., 2001; HANDLER und AURICH, 2009).

Bei Reifung von zwei dominanten Follikeln können beide Follikel innerhalb kurzer Zeit oder in einem Zeitraum von bis zu zwei Tagen ovulieren. Zwei Tage nach der ersten Ovulation sinkt die Wahrscheinlichkeit einer Doppelovulation stark, in der Regel bildet sich dann der zweite Follikel wieder zurück (HOHENHAUS und BOSTEDT, 1992; HANDLER und AURICH, 2009).

### **2.2.2 ENTWICKLUNG DES *CORPUS LUTEUM***

Nach der Ovulation bildet sich der Gelbkörper aus den verbliebenden Zellen der Follikelwand. Mit dem Einreißen der Follikelwand während der Ovulation kommt es zur Fragmentierung der Basalmembran zwischen Basalzellen und *Theca follicularis interna*, so dass Kapillare in die vorher gefäßfreie Follikelwand übertreten können. Diese sprossen zusammen mit Arteriolen der *Theca externa* in die Follikelhöhle, in der sich nach der Ovulation Blutserum, Blutkoagula und Reste der Follikelflüssigkeit befinden. Innerhalb der ersten 5 Tage post ovulationem gelangen durch die Gefäße eine große Zahl von Stromazellen, Fibroblasten und Makrophagen in die ehemalige Follikelhöhle. Mittels Phagozytose werden Blutbestandteile und Follikelfragmente entsorgt und es beginnt die Organisation und Luteinisierung des *Corpus luteum* bis zur Mitte des Zyklus (GLATZEL, 1997; LIEBICH und KÖLLE, 2010).

Der Gelbkörper ist eine temporäre endokrine Drüse, die Progesteron bildet (ALLEN et al., 1987; AURICH und KLUG, 1993). Solange keine Befruchtung erfolgt, unterliegt er zyklischen Auf- und Abbauphasen und man spricht vom *Corpus luteum cyclicum*. Bei erfolgreicher Befruchtung bleibt der Gelbkörper für die Dauer der Trächtigkeit als *Corpus luteum graviditatis* bestehen (LIEBICH und KÖLLE, 2010).

Vor Einführung der Ultraschalltechnik in der Stutengynäkologie nahm man an, dass ein *Corpus luteum* sich immer über ein *Corpus haemorrhagicum* entwickelt. Dabei wurde ein *Corpus haemorrhagicum* als ein Gelbkörper mit einem zentralen Anteil von Follikelflüssigkeit und Blutbestandteilen definiert. Nachfolgende Untersuchungen ergaben, dass nur bei etwa der Hälfte der Gelbkörper diese Eigenschaften

nachgewiesen werden können. Die andere Hälfte zeigt ein homogenes Erscheinungsbild (GINTHER, 1988; PIERSON und GINTHER, 1985 a). Dieses Phänomen wurde von ALLEN et al. (1987) wie folgt erklärt. Sie stellten fest, dass nicht fließendes Blut stark echogene Eigenschaften besitzt. Je nach Schnelligkeit der Ovulation entstehen zwei unterschiedliche Formen von *Corpora lutea*, die im sonographischen Bild zu differenzieren sind. Fließt nach der Ovulation Blut schnell ein, entsteht ein solides *Corpus luteum*, bei langsamem Bluteinfluss infolge Erythrozytensedimentation formiert sich ein geschichtetes *Corpus luteum*, das ein inhomogenes Erscheinungsbild im Ultraschall zur Folge hat (GINTHER, 1979; PIERSON und GINTHER, 1985 a). Spätere Studien ergaben einen höheren Anteil an *Corpora lutea* mit zentralem Blutgerinnsel. TOWNSON und GINTHER (1988, 1989) fanden diese Erscheinung bei 68 % der Stuten (15/22), NEWCOMBE (1997) berichtete von 62 % (118/189) Stuten mit zentraler flüssigkeitsgefüllter Grube im *Corpus luteum* 42- 72 Stunden nach der Ovulation.

Bereits während der Ovulation beginnen sich die Follikelzellen (Granulosazellen) und die Stromazellen der *Theca interna* zu Luteinzellen zu transformieren. Es kommt zur Vergrößerung des Zytoplasmas (funktionelle Hypertrophie) und zur Zellerneuerung (Hyperplasie) (HARRISON, 1946). Ausgehend von der *Theca interna* sprossen kleinste Kapillare in die Granulosazelllage und wachsen von dort aus weiter in Richtung Zentrum des sich entwickelnden Gelbkörpers (MODLICH, 1997). Als Luteinisierung bezeichnet man das Einlagern zahlreicher gelblicher Pigmente (Lipochrome) in das Zytoplasma, wobei Granulosaluteinzellen und Thekaluteinzellen unterschieden werden. Erstere entstehen aus den Wandzellen des Follikels und sind aufgrund ihrer hohen mitotischen Aktivität entscheidend für die Größe des Gelbkörpers. In den Organellen dieser Zellen findet die Steroidhormonsynthese statt, vor allem die Bildung von Progesteron, aber auch von Östrogen. Die Thekaluteinzellen entstehen aus den Stromazellen der *Theca interna*. Von diesen gibt es deutlich weniger und sie sind kleiner, ansonsten gleichen sie aber den Granulosaluteinzellen in Struktur und Funktion. Auch sie bilden Progesteron und Östrogene (AURICH und KLUG, 1993; LIEBICH und KÖLLE, 2010). NISWENDER et al. (2000) und REYNOLDS et al. (1994) unterscheiden aufgrund von ultrastrukturellen Merkmalen und der Größenunterschiede große und kleine Luteinzellen. Trotz gleicher enzymatischer Ausstattung sind die beiden Zelltypen in

unterschiedlichem Ausmaß zur Synthese von Progesteron fähig (NISWENDER et al., 1994). FERREIRA-DIAS und SKARZYNSKI (2008) stellten fest, dass die ansteigende Mikrovaskularisierung im Gelbkörper parallel zur Synthese von Progesteron verläuft und mit einer Zunahme der Progesteron-Rezeptoren einhergeht. Sie vermuten, dass im equinen Gelbkörper vor allem die großen Luteinzellen für die autokrine/parakrine Regulation der Progesteron-Synthese von Bedeutung sind.

Die Luteolyse ist definiert als der Abbau des Gelbkörpers und besteht aus zwei zusammenhängenden Ereignissen: der Verlust der Fähigkeit Progesteron zu synthetisieren und zu sezernieren gefolgt vom Abbau der Zellen des Gelbkörpers (NISWENDER et al., 1985). Durch  $\text{PGF}_{2\alpha}$  wird der Blutfluss zum Gelbkörper reduziert, so dass die nötigen Nährstoffe für die Steroidsynthese fehlen (PHARRIS et al., 1970). Im Anschluss hypertrophieren die Gefäßwände, wodurch die Gefäße verengt werden, sich verschließen und schließlich degenerieren. Es folgt eine Zunahme der lipochromen Pigmentierung der Luteinzellen, die Lipoidvakuolen fließen zusammen und werden größer (SCHNORR und KRESSIN, 2001; LIEBICH und KÖLLE, 2010). Durch Karyolyse und Apoptose werden die Luteinzellen abgebaut (NISWENDER et al., 2000). Durch die Zunahme von Retikulin- und Kollagenfasern kommt es zu einer deutlichen Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes (SCHNORR und KRESSIN, 2001; LIEBICH und KÖLLE, 2010). Nach vollständigem Abbau des Gelbkörpers bleibt eine Narbe, *Corpus albicans*, zurück (MARKOVIC et al., 2003). Da sich dieser Vorgang über einen längeren Zeitraum erstrecken kann, liegen bei polyöstrischen Tieren im Ovar aufblühende Gelbkörper neben Stadien früherer ovarieller Zyklen. Werden vermehrt Pigmente eingelagert, spricht man vom *Corpus nigrescens*, bei Einlagerung karotinoider Farbstoffe vom *Corpus rubrum* (SCHNORR und KRESSIN, 2001; LIEBICH und KÖLLE, 2010).

Bei Störungen des zyklischen Ablaufs am Ovar kommt es vor, dass der Gelbkörper persistiert, *Corpus luteum persistens*, oder zystös entartet und zur sogenannten Gelbkörperzyste wird (KÖNIG und LIEBIG, 1999; McCUE, 1998).

### **2.2.3 ROSSEVERHALTEN**

Durch die hormonellen Veränderungen in der Rosse kommt es bei der Stute sowohl zu organischen Veränderungen als auch zu typischem Rosseverhalten. Dabei zeigt

sie besonders in der Nähe eines Hengstes aber auch bei anderen Pferden folgende Verhaltensweisen:

- Anheben oder zur Seite legen des Schweifes
- Kontraktionen der Labien und damit Bloßlegen der Klitoris („blitzen“)
- Häufiges Absetzen von mit Harn vermengtem Schleim
- Entspannen und/oder nach vorne Spitzen der Ohren
- Dulden des Hengstes oder aktives Hindrängen
- Bei Kontakt mit dem Hengst breitbeiniges Hinstellen
- Beugen von Knien und Fesselgelenken, gleichzeitiges Absenken des Beckens
- Lautäußerungen („Quietschen“)

(McCue et al., 2011).

Ist die Stute nicht rossig, duldet sie keine Annäherung des männlichen Tieres und schlägt den Hengst aktiv ab (HANDLER und AURICH, 2009).

#### **2.2.4 ENDOKRINE REGULATION DES ZYKLUS**

Der Sexualzyklus wird durch ein Zusammenspiel verschiedener, sich gegenseitig beeinflussender Hormone gesteuert. Produziert werden diese im Hypothalamus, in der Hypophyse und in den Ovarien. An der Spitze dieses hierarchisch aufgebauten Steuerungssystems steht der Hypothalamus, welcher das Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) sezerniert (HINES, 1987; MEINECKE, 2000). GnRH ist ein Dekapeptid, bestehend aus zehn Aminosäuren, und wird pulsatil in das Portalgefäßsystem der Hypophyse ausgeschüttet (SHARP und GRUBAUGH, 1987). Pulsfrequenz und Amplitude sind abhängig vom Zyklusstadium (ALEXANDER und IRVINE, 1987; PANTKE, 1990). Ist gleichzeitig Östrogen vorhanden, regt GnRH bei hochfrequenter Pulsation die Produktion von Lutropin (LH, luteinisierendes Hormon) und bei niederfrequenter Pulsation die Produktion von Follitropin (FSH, follikelstimulierendes Hormon) an (BUSCH und BADER, 2006). In der frühen Follikelphase wird die Freisetzung von FSH und LH durch das Fehlen von Östrogen gehemmt. Follikel bis zu einem Zentimeter Durchmesser wachsen ohne FSH und LH, während bis 3 cm große Tertiärfollikel auf FSH und LH angewiesen sind. Überdies

reduzieren FSH und LH ihre eigene Synthese und Freisetzung durch Hemmung der GnRH-Sekretion (RÖDIGER und BOSTEDT, 2004).

FSH und LH sind Glykoproteine und wirken auf die Gonaden. Es wird eine tonische und eine pulsatile Sekretion unterschieden, wobei die pulsatile abhängig vom Zyklusstand ist (AURICH und KLUG, 1993). Während des Diöstrus werden FSH und LH ein- bis zweimal täglich pulsatil in großer Menge ausgeschüttet. Im Östrus kommt es ebenfalls zur pulsatilen Ausschüttung, allerdings in stündlich hochfrequenten unregelmäßigen Abständen (PANTKE, 1990). Im Zyklus verlaufen die Plasmakonzentrationen von FSH und LH gegenläufig (MILLER et al., 1980). Die Konzentration von LH ist im Diöstrus niedrig und beginnt einige Tage vor dem Östrus zu steigen. Die maximale Konzentration wird kurz nach der Ovulation erreicht, danach sinkt der Wert über 4 bis 6 Tage wieder ab. Die Stute zeigt also keinen kurzzeitigen LH-Peak, wie z.B. die Wiederkäuer oder die Hündin, sondern eine insgesamt etwa eine Woche anhaltende Phase erhöhter LH-Sekretion (IRVINE, 1981). Die FSH-Konzentration zeigt zwei Sekretionsgipfel, einen während oder kurz nach der Ovulation und einen etwa 10 Tage danach. Im Östrus ist die FSH-Konzentration am niedrigsten (EVANS und IRVINE, 1975; FOSTER et al. 1979; FITZGERALD et al., 1987). Unter FSH-Wirkung kommt es am Ovar zum Heranreifen von Follikeln, die Östrogene bilden, vor allem Östradiol-17 $\beta$  (KARG et al., 1979; GLATZEL, 1997). Im Vergleich zu anderen Tierarten erreicht Östradiol bei der Stute nur niedrige Plasmakonzentrationen. Es wird vermehrt in der Follikelphase freigesetzt und erreicht sein Maximum etwa zwei Tage vor der Ovulation (GINTHER, 1992).

Die Thekazellen tragen in allen Phasen der Follikelentwicklung nur LH-Rezeptoren, die Granulosazellen während des Follikelwachstums nur FSH-Rezeptoren, während der Follikelreifung dann LH-Rezeptoren. Durch LH-Stimulierung werden in den Thekazellen des Tertiärfollikels aus Cholesterin Androgene produziert, die dann zu den Granulosazellen diffundieren. Durch FSH wird in den Granulosazellen die Aromatase stimuliert, die dann Androgene in Östrogene umwandelt (SEAMANS und SHARP, 1982).

Mit zunehmender Reifung bildet der Follikel vermehrt Östrogen und Inhibin, welche beide zusammen mit niedrigen Progesteronwerten die Sekretion von FSH hemmen (MEINECKE, 2000). Die Östrogenkonzentration steigt im Blut bis zu einem

Schwellenwert, der für eine Zeitspanne gehalten wird. In dieser Spanne steigen auch Frequenz und Amplitude der GnRH-Pulse. Jeder GnRH-Puls wird stärker beantwortet als der vorangegangene und das gesamte System schaukelt sich aufgrund des positiven Östrogeneffektes hoch, wodurch große Mengen LH freigesetzt werden. Steigende LH-Spiegel bei sinkenden FSH-Konzentrationen führen zur Ovulation des dominanten Follikels. Die Östrogenproduktion des Follikels bestimmt also wesentlich, ob und wann dieser ovuliert (FAY und DOUGLAS, 1987; HINES et al., 1987; MEINECKE, 2000). Durch das LH wird sowohl die Ovulation als auch die Steroidhormonsynthese in den folliculären Thekazellen angeregt (AURICH und KLUG, 1993).

Nach der Ovulation entsteht an der Stelle des gesprungenen Follikels das *Corpus luteum*, welches für die Progesteronproduktion verantwortlich ist (THUN, 1995). Nach GINTHER (1979) und ENBERGS (1981) beginnt die Progesteronproduktion bereits unmittelbar nach der Ovulation. DÖCKE (1982) beschreibt einen Progesteronanstieg bereits am Tage der Ovulation. Innerhalb 24 bis 36 Stunden nach der Ovulation steigt die Progesteronkonzentration im Blut sehr schnell an, der Maximalwert im Diöstrus wird etwa am fünften Tag nach der Ovulation erreicht. Wird ausreichend Progesteron synthetisiert, so hemmt dieses an der Hypophyse die LH-Freisetzung, was zu einem LH-Abfall im peripheren Blut führt (negatives Feedback) (DÖCKE, 1982). Die Progesteronkonzentration bleibt über mehrere Tage auf einem hohen Niveau (Plateauwerte) und fällt etwa am dreizehnten Tag steil ab (GINTHER, 1979). Dabei ist unerheblich, ob der Gelbkörper im Zentrum flüssigkeitsgefüllt ist und welche Größe das flüssigkeitsgefüllte Zentrum hat (TOWNSON et al., 1989).

Bei ausbleibender Konzeption führt das im Endometrium gebildete Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) etwa ab dem 14. bis 16. Tag des Zyklus zur Rückbildung des Gelbkörpers (WEEMS et al., 2006; VANDERWALL, 2011). Die Freisetzung von  $PGF_{2\alpha}$  erfolgt pulsatil über mehrere Tage. Innerhalb von 24 bis 48 Stunden nach Beginn der  $PGF_{2\alpha}$ -Sekretion fällt die Plamaprogesteronkonzentration auf Basalwerte (GINTHER und BEG, 2009; WEEMS et al., 2006). Bei der Stute muss  $PGF_{2\alpha}$  über den gesamten Kreislauf zirkulieren, um zum Ovar zu gelangen (HANDLER und AURICH, 2009).

Lange Zeit war unklar, ob bei der Stute auch Oxytocin, entweder hypophysären oder lutealen Ursprungs, an der Induktion der Prostaglandinfreisetzung aus dem Endometrium beteiligt ist (KING und EVANS, 1987). Beim Wiederkäuer wird Oxytocin

im Zusammenhang mit der Luteolyse vom Gelbkörper gebildet und sezerniert. Hier regt also der Gelbkörper selbst die  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Sekretion an (GINTHER, 2009; GINTHER et al., 2010). Die Stute synthetisiert Oxytocin im Endometrium (BEHRENDT-ADAM et al., 1999; STOUT et al., 2000; BAE und WATSON, 2003) und in der Neurohypophyse (VANDERWALL et al., 1998). Nach wie vor ist unklar, ob auch der Gelbkörper Oxytocin produziert. So schlossen STEVENSON et al. (1991) den Gelbkörper als Oxytocin-Quelle aus. Im Gegensatz dazu konnten WATSON et al. (1999) mittels Immunlokalisation Oxytocin im Gelbkörper nachweisen. In einer Studie von GINTHER und BEG (2011), in der die Quelle des Oxytocins nicht berücksichtigt ist, wurde der zeitliche Zusammenhang von Cortisol, Östradiol-17 $\beta$  und Oxytocin mit PGFM-Pulsen vor und während der Luteolyse untersucht. Statt  $\text{PGF}_{2\alpha}$  wurde 13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$  (PGFM) zur Untersuchung verwendet. PGFM ist der Hauptmetabolit von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  beim Pferd und wird aufgrund seiner längeren Halbwertszeit oft verwendet um auf die Konzentration von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  im Blut rückzuschließen (GOFF et al., 1984). GINTHER und BEG (2011) stellten fest, dass der Beginn der Luteolyse immer zwischen 14.00 Uhr am Nachmittag und 2.00 Uhr in der Nacht stattfindet. Die PGFM-Pulse in der prälutealen Phase ( $45 \pm 16$  pg/ml) und am Übergang zwischen Gelbkörperphase und luteolytischer Phase ( $42 \pm 7$  pg/ml) waren deutlich geringer als der erste Puls während der Luteolyse ( $193 \pm 36$  pg/ml). Cortisol steigt während des hohen luteolytischen PGFM-Pulses einmal an und fällt dann wieder ab. Östradiol steigt während des hohen luteolytischen PGFM-Pulses an und bleibt dann auf erhöhtem Niveau. Einzig Oxytocin steigt bereits während des niedrigen PGFM-Pulses am Übergang zwischen Gelbkörperphase und Luteolyse an. Die Konzentration fällt dann wieder ab und steigt und sinkt während des luteolytischen Pulses erneut. Die Autoren folgern daraus, dass Oxytocin bei Stuten in Verbindung mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$  für den Beginn der Luteolyse verantwortlich ist.

### **2.3 KLINISCHE UNTERSUCHUNGSMÖGLICHKEITEN**

Die spezielle gynäkologische Untersuchung der Stute beinhaltet eine klinische Allgemeinuntersuchung, die Adspektion der von außen sichtbaren Anteile der Geschlechtsorgane (Perineum, Vulva, Vestibulum, Vagina und Mamma), die Palpation und die sonographische Befunderhebung an Zervix, Uterus und Ovarien.

Je nach Fall folgen mikroskopische, bakteriologische und hormonanalytische Untersuchungen (HANDLER, 2009).

### **2.3.1 TRANSREKTALE PALPATION**

Vor der transrektalen Palpation muss die Stute ausreichend fixiert werden, so dass die Gefahr für Pferd und Untersucher möglichst minimiert wird. Der Schweif wird bandagiert oder mit einem Einmal-Plastiküberzug versehen, da sonst die Mukosa des Rektums durch Schweifhaare verletzt werden kann. Der Untersucher trägt einen Einmal-Handschuh, welcher mit Gleitmittel ausreichend schlüpfrig gemacht wird (HANDLER, 2009). Falls die Stute stark presst, kann entweder ein Spasmolytikum intravenös oder ein Lokalanästhetikum lokal auf die rektale Schleimhaut gegeben werden. Alle im Rektum liegenden Kotballen werden entfernt. Füllt sich das Rektum mit Luft, kann der Untersuchende vorsichtig die Finger hinter einer peristaltischen Welle halten und langsam zurückziehen. Niemals darf er sich entgegen einer peristaltischen Welle bewegen (TAYLOR und HILLYER, 2001). Die Rektalschleimhaut wird auf Verletzungen kontrolliert. Wird die Hand über den Beckenboden nach rechts und links bewegt, findet sich schlauchartig die Zervix. Je nach Zyklusphase ist die Zervix fest, etwa 20 bis 30 cm lang, schmal und gut abgrenzbar zum Gebärmutterkörper (frühe Trächtigkeit und Diöstrus) oder eher relaxiert, weniger schlauchförmig und ähnlich in Tonus und Konsistenz wie der Uterus (Östrus). Durch die Ödematisierung ist die Zervix im Östrus eher schwierig zu palpieren (SCHUMMER und VOLLMERHAUS, 1987; GINTHER, 1992; BOWMAN, 2011). Wird die Hand weiter in den beweglichen Teil des Enddarms vorgeschoben und dann langsam zurückgezogen, kann die Bifurkation der Gebärmutter ertastet werden, so dass die Uterushörner als quer verlaufende Struktur bis zu den Eierstöcken verfolgt und beurteilt werden können (HANDLER, 2009). Während des Anöstrus ist der Uterus dünnwandig, schlaff und oft schwer abzugrenzen. Im Diöstrus wird der Uterus vom Progesteron beeinflusst, ist tonisiert und leicht zu identifizieren. Diese Verhältnisse finden sich auch in der frühen Trächtigkeit. Während des Proöstrus und des Östrus wird der Uterus unter Einfluss von Östrogen ödematös, die Uteruswände relaxieren und sind dicker, weicher und nachgiebiger. Durch behutsame Palpation können in diesem Stadium kleine Inkonsistenzen, abnormale

Strukturen oder Flüssigkeitsansammlungen ertastet werden (MERKT und KLUG, 1976; KLUG und ANDRES, 1987; BOWMANN, 2011). Die Uterushörner können nach lateral verfolgt werden und so beim Auffinden der Ovarien helfen. Diese liegen physiologisch kranial und lateral der Darmbeinschaukel auf „3 bzw. 9 Uhr“ oder auf „2 bzw. 10 Uhr“ (TAYLOR und HILLYER, 2001).

Mit den Fingern wird die gesamte Oberfläche der Ovarien abgetastet. Alle Strukturen werden hinsichtlich ihrer Größe, Konsistenz, Tonus, Empfindsamkeit und der Position auf dem Ovar beurteilt. Auch die Ovarien ändern sich je nach Jahreszeit und Zyklusstand. Die Ovarien der Stute sind etwa 7-8 cm lang, 3-4 cm breit und häufig unterschiedlich groß. Im Anöstrus sind die Ovarien kleiner und fest, es lassen sich keine Follikel palpieren. Während der Übergangszeit im Frühling, in der die Aktivität des Ovars steigt, nimmt es an Größe zu und wird etwas weicher. Da gleichzeitig mehrere Follikel wachsen und sich zurückbilden, kann das Ovar unnatürlich groß erscheinen. Schließlich ovulieren ein oder mehrere Follikel und ein erster Zyklus beginnt. Die Ovulation findet in der Ovulationsgrube statt, dennoch kann der Follikel während seines Wachstums an der konvexen Seite des Ovars als feste runde Struktur an der Oberfläche ertastet werden. Durchschnittlich wächst der dominante Follikel in den letzten sieben Tagen vor der Ovulation etwa drei mm pro Tag. Kurz vor der Ovulation, wenn das Größenwachstum beendet ist, wird der reife Follikel fluktuierend, weich und unsymmetrisch. Allerdings kann dieser Abfall des Tonus nicht bei allen Follikeln beobachtet werden. Nach der Ovulation bleibt auf dem Ovar eine Vertiefung zurück, die sich langsam mit Blut und Blutgefäßen füllt. Es entsteht das *Corpus haemorrhagicum*, welches die Oberfläche des Ovars überragen und dann leicht mit einem reifen, fluktuierenden Follikel verwechselt werden kann. Nach Organisation des *Corpus haemorrhagicum* entsteht das festere *Corpus luteum* (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990; GINTHER, 1992; BOWMAN, 2011).

### **2.3.2 VAGINOSKOPIE**

Die vaginale Untersuchung hilft bei der Beurteilung des Zyklusstandes und der Diagnose von Erkrankungen. Außerdem können mit ihrer Hilfe die inneren Verschlussmechanismen des weiblichen Genitaltraktes, Hymen und Zervix, beurteilt werden. Sie umfasst die Beurteilung von Vestibulum, Klitoris, Hymen,

Scheidenschleimhaut und der Portio vaginalis (HANDLER, 2009). Sie wird in der Regel im Anschluss an die rektale Untersuchung durchgeführt, da sich Vagina und Zervix durch den Lufteinstrom aufblähen und dann während der rektalen Untersuchung weniger gut beurteilt werden können (ZENT und STEINER, 2011).

Auch für diese Untersuchung muss die Stute ausreichend fixiert werden. Der Schweif wird eingewickelt und die Vulva sorgfältig gereinigt und getrocknet. Ohne übermäßigen Druck wird ein Spreiz- oder Röhrenspekulum in die Vagina eingebracht, welches zu Beginn leicht dorsal, dann horizontal nach kranial geschoben wird (ZENT und STEINER, 2011). Soll nur die Zervix betrachtet werden, reicht ein Röhrenspekulum. Will man weitere Anteile des Scheidenraumes beurteilen, bietet das Spreizspekulum Vorteile, da dies durch Drehen den Blick auf weitere Strukturen ermöglicht (HANDLER, 2009). ZENT und STEINER (2011) empfehlen eine manuelle Untersuchung des äußeren Muttermundes und der Vagina, als Teil einer jeden gynäkologischen Untersuchung.

Im Diöstrus ist die Vaginalschleimhaut physiologisch blass-rosa und eher trocken. Da die Schleimhaut durch das Einströmen der Luft während der Untersuchung vermehrt durchblutet wird, sollte ihre Farbe als erstes beurteilt werden, um Artefakte zu vermeiden. Der äußere Muttermund ist fest verschlossen, angespannt und ragt rosettenförmig in die Vagina vor, er liegt nicht auf dem Boden der Vagina.

Während des Östrus ist die Schleimhaut der Vagina gerötet und feucht glänzend, gelegentlich findet sich klares Sekret auf dem Boden der Vagina. Der äußere Muttermund ist relaxiert, ödematös, leicht gerötet, und liegt zerfließend auf dem Boden der Vagina.

In der Trächtigkeit ist die Zervix blass und fest. Die Schleimhaut wird in der späten Trächtigkeit mit einem trüben klebrigen Exsudat bedeckt (SCHMIDT, 1950; RÖDIGER und BOSTEDT, 2004; ZENT und STEINER, 2011).

## 2.4 SONOGRAPHIE

### 2.4.1 PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN

Schall ist die durch einen initialen Impuls ausgelöste Schwingung von Teilchen mit nachfolgender wellenförmiger Ausbreitung kleinster Druck- und Dichteschwankungen in der Materie (BREUER, 1996; POULSEN NAUTRUP, 1996).

Die Frequenz, die Anzahl der Schwingungen pro Zeiteinheit, wird in Hertz (Hz) angegeben (NYLAND und MATTON, 1995, WIGGER und KRAMER, 2008). Die Einteilung der Frequenzbereiche richtet sich nach dem Wahrnehmungsvermögen des menschlichen Ohres, dementsprechend bezeichnet man Frequenzen oberhalb der menschlichen Hörgrenze im Bereich von 20000 bis 100 Millionen Schwingungen pro Sekunde (20 kHz bis 100 MHz) als Ultraschall (GERWING, 1993; GIESE, 1997; KRAMER, 2004). Zur bildgebenden Diagnostik werden in der Medizin Frequenzen zwischen einem und 10 MHz verwendet, selten bis zu 20 MHz (EBERSPÄCHER, 1991; POULSEN NAUTRUP, 1996).

Qualität und Eindringtiefe des Ultraschallbildes sind abhängig von der Frequenz. Bei niedrigen Frequenzen ist die Auflösung schlecht, aber die Schallwellen dringen tief in das Gewebe ein (z. B. 3 MHz über 20 cm). Bei hoher Frequenz findet mehr Absorption statt, so dass die Eindringtiefe geringer ist, aber die Auflösung besser (z.B. 7,5 MHz 5 cm). Bei einer Ultraschalluntersuchung muss also ein Kompromiss zwischen Eindringtiefe und Auflösung getroffen werden (KRAMER, 2004).

Die dafür verwendeten Ultraschallgeräte bestehen aus Sonographen (Scanner) und Schallkopf (Transducer) (BRÜCK, 1994). Im Schallkopf befinden sich piezoelektrische Kristalle, die sich bei Anlegen einer elektrischen Spannung mechanisch verformen. Im Schallkopf wird also elektrische Energie in mechanische Energie umgewandelt und dann in Form von Ultraschallwellen ins Gewebe gesendet. Wird Wechselspannung angeschlossen, werden Schallwellen einer bestimmten Frequenz erzeugt (POWIS, 1998). Für diagnostische Zwecke wird gepulster Ultraschall verwendet, dabei wirken die piezoelektrischen Kristalle 0,1 % der Zeit als Sender und 99,9 % der Zeit als Empfänger (FROMMHOLD und KOISCHWITZ, 1991, WIGGER und KRAMER, 2008). Die reflektierten Ultraschallwellen kommen als mechanische Energie zum Transducer, der sie in elektrische Energie umwandelt und

zum Sonographen sendet (POWIS, 1998). Je nach Anordnung der Kristalle im Schallkopf werden Linear-, Sektor-, Curved-array-, Phased-array- und Rotationsschallköpfe unterschieden (NYLAND und MATTON, 1995; POWIS, 1998). In der gynäkologischen Untersuchung wird üblicherweise ein Linearschallkopf, also ein Schallkopf, in dem die piezoelektrischen Kristalle in einer Linie angeordnet sind, eingesetzt. Die Abbildung auf dem Monitor erfolgt in viereckigem Format, wobei die Breite des Ultraschallbildes der Länge der Kristalllinie entspricht (KÄHN und LEIDL, 1987).

#### **2.4.2 VERHALTEN VON ULTRASCHALL IM GEWEBE**

Im Gewebe breitet sich der Schall in Form von Longitudinalwellen aus (GERWING, 1993). Diese Wellen unterliegen in biologischen Geweben den Gesetzen der Akustik über Schallintensität, Schallwellengeschwindigkeit und –widerstand, Reflexion, Transmission, Brechung, Streuung, Beugung und Absorption (NYLAND und MATTON, 1995; POULSEN NAUTRUP, 1996). Die akustische Impedanz (Schallwellenwiderstand) eines Gewebes wird definiert als Produkt aus Dichte des Gewebes und Geschwindigkeit der Schallwellen (FROMMHOLD und KOISCHWITZ, 1991). An akustischen Grenzflächen zweier Medien werden Schallwellen reflektiert. Treffen die Wellen senkrecht auf die Grenzfläche, wird der reflektierte Anteil voll in den Schallkopf zurück reflektiert, der übrige Anteil transmittiert, setzt also seinen Weg ohne Richtungsänderung fort. Treffen die Schallwellen auf unregelmäßige oder geneigte Grenzflächen, so wird ein Teil der Wellen reflektiert. Da diese Wellen aber nicht senkrecht reflektiert werden, gelangen sie nicht zurück in den Schallkopf (Streuung). Die Wellen, die die Grenzfläche durchdringen, setzen ihren Weg mit einer Richtungsänderung fort (Brechung) (EBERSPÄCHER, 1991; POULSEN NAUTRUP, 1996).

Abhängig von der Größe des akustischen Impedanzunterschiedes der benachbarten Medien ändert sich das Verhältnis der reflektierten zur transmittierten Schallenergie. An akustischen Grenzflächen mit hohem Impedanzunterschied, z. B. Luft, lufthaltige Gewebe oder Knochen, tritt eine totale oder überwiegende Reflexion auf. Innerhalb von Weichteilgeweben ist aufgrund der vergleichbaren Schallwiderstände die Reflexion gering (POULSEN NAUTRUP, 1996).

Trifft der Ultraschall auf raue Grenzflächen oder Partikel, die kleiner als die Wellenlänge des Ultraschalls sind, so findet eine diffuse Reflexion bzw. Streuung statt. Bei dem dabei entstehenden Beugemuster kann das abgebildete Echo keinem tatsächlichen Punkt mehr zugeordnet werden. Bei den großen Parenchymen sind diese artifiziellen Beugungsbilder organotypisch (EBERSPÄCHER, 1991).

Passieren Schallwellen Gewebe, geht ein Teil der Energie als Wärme an das umliegende Gewebe verloren (Absorption). In den Weichteilgeweben ist der Energieverlust relativ gering. Im Gegensatz dazu zeigen Knochen, Verkalkungen und Konkremente eine hohe Absorption, so dass dahinter keine Energie zum weiteren Bildaufbau vorhanden ist, es entsteht ein Schallschatten. Je höher die verwendete Frequenz, desto höher die Absorption (EBERSPÄCHER, 1991; POULSEN NAUTRUP, 1996).

### **2.4.3 BILDWIEDERGABE UND ABBILDUNGSVERFAHREN**

Die Bildwiedergabe kann entweder amplituden- (A-Bild, A-Mode) oder helligkeitsmoduliert (B-Bild, B-Mode) erfolgen. Beim A-Mode-Verfahren wird das Echo eines Impulses als vertikaler Ausschlag auf einer horizontalen Linie dargestellt. Dabei entspricht die Höhe des Ausschlags der Amplitude der Echostärke und die Abstände entsprechen der abgebildeten Struktur (POULSEN NAUTRUP, 1996). Dieses Verfahren ist jedoch nicht mehr praxisrelevant. Bei dem heute verwendeten B-Mode-Verfahren werden die reflektierenden Gewebegrenzflächen abhängig von ihrer Schallreflexionsqualität auf dem Bildschirm als Punkte unterschiedlicher Helligkeit oder Graustufen dargestellt (GINTHER, 1986; GERWING, 1993; POULSEN NAUTRUP, 1996).

### **2.4.4 TRANSREKTALE SONOGRAPHIE DES OVARS DER STUTE**

Die ersten sonographischen Untersuchungen des Ovars der Stute stammen von PALMER und DRIANCOURT (1980). Die Untersuchungen wurden mit einem 3-MHz-Schallkopf durchgeführt. Man konnte damit Follikel ab einem Durchmesser von 7 mm erkennen. Gelbkörper konnten über einen Zeitraum von 5 Tagen als helle Areale

dargestellt werden (PALMER und DRIANCOURT, 1980). Mit dem gleichem Gerät fanden MERKT et al. (1983) an der Stelle, an der zuvor der Follikel dargestellt wurde, nach der Ovulation eine zunehmende Echodichte.

MEIER et al. (1985) wiesen besonders auf die Vorzüge des Ultraschalls bei der Follikelkontrolle unter Praxisbedingungen hin. Sie konnten nachweisen, dass bei eindeutigem Rosseverhalten mindestens auf einem Ovar ein Follikel mit einem Durchmesser von etwa 30 mm vorhanden ist und dass dieser in den folgenden Tagen bis zu 10 mm pro Tag wächst. Etwa 24 Stunden vor der Ovulation wird das Wachstum deutlich langsamer oder stagniert. Weiter stellten die Autoren fest, dass der präovulatorische Follikel beginnt, sich abzuflachen, was sie auf eine verminderte Wandspannung und dadurch bedingte größere Verformbarkeit durch den Druck des Schallkopfes zurückführten. Ferner stellten sie fest, dass die Wandbeschaffenheit bei präovulatorischen Follikeln unregelmäßig wird. Da Artefakte gleiche Effekte hervorrufen können, konnte dies nicht genau gedeutet werden.

GINTHER und PIERSON (1984, 1985) führten Untersuchungen mit einem Schallkopf mit einer Frequenz von 5 MHz und höherem Auflösungsvermögen durch. Sie konnten Follikel ab einem Durchmesser von 2 mm erkennen. Sie beobachteten, dass zu Beginn des Diöstrus viele kleine Follikel vorliegen. In der Mitte des Diöstrus beginnt eine Gruppe von Follikeln zu wachsen, von denen ein Follikel in den fünf Tagen vor der Ovulation selektiv weiter wächst, während die anderen sich zurückbilden. *Corpora lutea* konnten bis mindestens zum sechzehnten Tag des Zyklus dargestellt werden. Bereits zu dieser Zeit wurden schon verschiedene Formen des Gelbkörpers entdeckt. Diese Beobachtungen wurden in den Arbeiten von PIERSON und GINTHER (1985 a und b) weiter untersucht. Die Autoren beschrieben als zwei mögliche Grundformen eines Gelbkörpers solche, die über die gesamte Fläche gleichmäßig echogen erscheinen, und solche, die ein echoarmes Zentrum zeigen und als *Corpora haemorrhagica* bezeichnet werden. Anhand von Messungen mit Hilfe von Grauskalen konnte nachgewiesen werden, dass beide Formen sich in der Stärke der Echogenität ihrer echogebenden Anteile ändern. Beide Formen treten etwa gleich häufig auf und sind funktionell gleichwertig.

TOWNSON und GINTHER (1989) untersuchten die frühe Entwicklung des *Corpus luteum* unmittelbar post ovulationem über einen Zeitraum von fünf Tagen. Dazu wurden die Ovarien transrektal mittels Ultraschall in Abständen von wenigen Stunden

untersucht und jeweils der Gesamtquerschnitt, der Querschnitt des Flüssigkeitsrestes und die Echogenität des lutealen Gewebes bestimmt. Trotz unterschiedlicher Größe, Flüssigkeitspersistenz und Echogenität fand man keine funktionelle Differenz.

TESCHNER (2008) prüfte die Entwicklung des Grauwertes des Gelbkörpers an 53 Stuten ab der Ovulation jeweils im Abstand von fünf Tagen. Er stellte fest, dass bei regelmäßiger Untersuchung anhand des Ultraschallbildes Aussagen über die Luteolyse und somit auch Aussagen über eine neu zu erwartende Rosse gemacht werden können. Es konnte nicht geklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen den Schwankungen im Erscheinungsbild von Corpora lutea innerhalb eines Zyklus und ihren funktionellen Eigenschaften besteht.

Der häufigste pathologische, anovulatorische Zustand, der spontan während der Zuchtsaison bei der Stute auftritt, ist der hämorrhagische anovulatorische Follikel (CUERVO-ARANGO und NEWCOMBE, 2010). Dabei kollabiert der Follikel nicht und die Oozyte kann nicht abtransportiert werden. Daher wird davon ausgegangen, dass bei Stuten mit hämorrhagisch anovulatorischem Follikel eine Befruchtung nicht möglich ist (McCUE und SQUIRES, 2002). Da ein hämorrhagischer anovulatorischer Follikel leicht mit einem *Corpus haemorrhagicum* verwechselt werden kann, versuchten CUERVO-ARANGO und NEWCOMBE (2012) diagnostische Parameter zur Unterscheidung anhand des Ultraschallbildes festzulegen. Der einzige Parameter, der eine eindeutige Unterscheidung erlaubt, ist die Wanddicke des Gelbkörpers. Bei Wanddicken von weniger als 3 mm liegt ein hämorrhagischer anovulatorischer Follikel vor, bei Dicken über 5 mm ist es ein *Corpus haemorrhagicum*.

Verschiedene Autoren weisen auf die Indikationen der Ultraschalluntersuchung des Stutenovars hin:

- Diagnose der Geschlechtsreife (GINTHER, 1986)
- Überwachung der Ovulation (LEIDL et al., 1992; TESCHNER, 2008)
- Unterscheidung zweier nahe beieinander liegender Follikel, die bei Palpation als ein Follikel erscheinen (GINTHER, 1986)
- Darstellung der Bildung und Entwicklung eines *Corpus luteum* und damit Beurteilung des Zyklusstandes der Stute (GINTHER und PIERSON, 1984; KÄHN und LEIDL, 1987; MONTAVON, 1994; TESCHNER, 2008)
- Darstellung eines persistierenden *Corpus luteum* (GINTHER, 1988)

- Unterscheidung eines frischen *Corpus luteum* von einem präovulatorischen Follikel (PALMER und DRIANCOURT, 1980; GINTHER und PIERSON, 1984)
- Diagnose von stiller Rosse mit Ovulation, anovulatorischer Rosse und Doppelovulationen (GINTHER und PIERSON, 1984; HOHENHAUS und BOSTEDT, 1992)
- Diagnose der Regression des *Corpus luteum* während der Trächtigkeit (GINTHER, 1988)
- Diagnose eines Follikelhämatoms (GINTHER und PIERSON, 1984; KÄHN und LEIDL, 1987)
- Diagnose von Ovarialtumoren (GINTHER und PIERSON, 1984; KÄHN und LEIDL, 1987)

#### **2.4.5 QUANTITATIVE GRAUSTUFENANALYSE IN DER ULTRASCHALLDIAGNOSTIK**

Im Zuge der Entwicklung von immer höher auflösenden Geräten und Scannern wächst auch die Zahl von Informationen pro Bild und Zeiteinheit (HERMES, 1998). Der Betrachter ist längst nicht mehr in der Lage, alle Informationen vollständig zu erfassen (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Das menschliche Auge ist bei normalem Visus in der Lage, 20 bis 30 Graustufen zu unterscheiden (CLAUSSEN und LOCHNER, 1985; ZINK, 1996). Heute produzieren Ultraschallgeräte Bilder mit 256 verschiedenen Graustufen. Bei der rein visuellen Beurteilung dieser Bilder entsteht also ein erheblicher Informationsverlust (ZINK, 1996). Geringfügige Veränderungen der Gewebetextur können vom Betrachter nicht mehr beurteilt werden, weil er sie nicht wahrnimmt (HERMES, 1998). Außerdem wird die Echogenität je nach Untersuchungsperson unterschiedlich beurteilt, sie unterliegt einer individuellen Varianz (RÄTH et al., 1984). Mit Hilfe der Graustufenanalyse (GSA) soll die Aussagekraft der Ultraschalluntersuchung durch die Bestimmung quantitativer Parameter gesteigert werden (GÄRTNER et al., 1998). Dafür werden die Bildinformationen in numerische Daten transformiert, sodass Untersuchungsergebnisse mit Hilfe statistischer Verfahren objektiviert oder überhaupt erst gewonnen werden können (GINTHER, 1995). Besondere Beachtung findet dabei die quantitative Charakterisierung von Gewebetexturen (HERMES, 1998). „Textur“ bezeichnet in diesem Zusammenhang die räumliche Verteilung von

Bildpunkten hinsichtlich Helligkeit, Kontrast und Homogenität (DELORME und ZUNA, 1995).

Zunächst wird ein analog erzeugtes B-Mode-Standbild digitalisiert, d. h. es erfolgt eine Rasterung in diskrete Bildpunkte (Pixel = Picture Element). Dabei wird bei einem schwarzweißen Ultraschallbild jedem Pixel ein Grauwert zwischen 0 und 255 als dunkelstem bzw. hellstem Wert zugeordnet. Anschließend wählt man eine repräsentative Region im zu untersuchenden Gewebe aus, die „Region of Interest“ (ROI), die bei standardisierter Geräteeinstellung reproduzierbar sein muss. Die ROI wird festgelegt durch Umfahren mit einem frei wählbaren Polygonzug oder durch Einschluss in eine Fläche vordefinierten Typs (Rechteck, Quadrates oder Ellipse) (BADER et al., 1994). Innerhalb dieser ROI werden die Grauwerte ausgewertet. Die Analyse der Gewebetextur übernimmt dann eine entweder im Ultraschallgerät (BLECK et al., 2000) oder in einem externen Computersystem implementierte Software (ZUNA, 1991; TESCHNER, 2008). Bei der Auswertung der Grauwerte unterscheidet man zwischen eindimensionalen und mehrdimensionalen Analyseverfahren. Die „Graustufenanalyse der ersten Ordnung“ ist eindimensional: einzige Auswertungsgröße ist die Anzahl der Bildpunkte pro Graustufe. Die Auswertung wird in der Form einer Tabelle oder eines Histogramms dargestellt und bildet die Grundlage der Grauwertstatistik. Im Histogramm werden auf der horizontalen Achse (Abszisse) die verschiedenen Graustufen und auf der vertikalen Achse (Ordinate) die Häufigkeit der einzelnen Graustufen dargestellt. Anhand des Histogramms können Aussagen über die Bildhelligkeit (mittlerer Grauwert), Streuung (Standardabweichung), Schiefe und Wölbung (Histogrammform), Spannweite des Grauwertspektrums (Extremwerte) und die Quantile (relative (prozentuale) Häufigkeitsverteilung der Graustufen im Histogramm) getroffen werden (BLECK et al., 2000). In diesem Analyseverfahren wird die räumliche Anordnung der Bildpunkte nicht berücksichtigt. Zwei ROIs können also trotz identischer Histogramme von unterschiedlichen Texturen stammen.

Bei mehrdimensionalen Analysen wird auch die räumliche Verteilung der Grauwerte ausgewertet, so dass Aussagen über die Gewebetextur und die Quantität pathologischer Veränderungen gemacht werden können (PINAMONTI et al., 1989; LIEBACK et al., 1991).

#### **2.4.6 FEHLERQUELLEN DER GRAUSTUFENANALYSE**

Sowohl LIEBACK-ZIMMERMANN (1993) als auch WIESNER et al. (1984) zeigten, dass bereits Veränderungen von nur einer Variablen bei der Bildentstehung die Ergebnisse der Bildauswertung so stark verändern, dass eine versuchte Objektivierung der Daten nicht mehr zu identischen Ergebnissen für denselben Befund führen. Zur korrekten Durchführung der Graustufenanalyse muss daher mit standardisierten Geräteeinstellungen und gleich bleibender Fokuszone gearbeitet werden (GEBEL et al., 1984; ZUNA, 1991; BADER et al., 1994). Außerdem sollten die ROIs nach Möglichkeit immer an die gleiche Position gelegt werden (GÄRTNER et al., 1998). An Gewebephantomen konnte gezeigt werden, dass je nach Schallkopftyp und/oder Gesamtverstärkung die Grauerthistogramme eines identischen Objektes variieren (BLECK et al., 1997a). Texturanalytische Daten, die mit unterschiedlichen Geräten bzw. Schallkopftypen generiert wurden, sind daher nicht ohne weiteres zu vereinheitlichen (BLECK et al., 1997a; BLECK et al., 2000). Durch Beeinträchtigungen der Bildqualität, zum Beispiel Verwackelungen, der Druck bei Schallkopfkopplung oder die Beschaffenheit des Kontaktes zwischen Scanner und Gewebe, können Schwankungen in den Grauwerten entstehen. Grauwertschwankungen durch das vor dem zu untersuchenden Organ liegende Gewebe sind meist nicht ausreichend genau abschätzbar (ZIELKE et al., 1985). Erhöhter Druck durch die Ultraschallsonde führt mitunter zu Gewebekompression und somit zur Streuung der Grauwerte (GEBEL et al., 1984).

#### **2.4.7 EINSATZ DER GRAUSTUFENANALYSE**

Verschiedene technische Entwicklungen waren Voraussetzung für die Einführung der Graustufenanalyse in die medizinische Diagnostik: Durch die Entwicklung der Computertechnologie war es möglich, die eindimensionale Häufigkeitsverteilung von Grauwerten eines B-Mode-Bildes zu generieren (GEISSLER et al., 1975). Das Real-Time-Verfahren ermöglichte eine artefaktfreie Auswahl von Ultraschallbildern, sodass die ROIs optimal positioniert werden konnten. Als Folge konnte die Variabilität der

Messungen gesenkt und deren Reproduzierbarkeit erhöht werden (GEBEL und KUBALE, 1982).

#### **2.4.7.1 HUMANMEDIZIN**

RÄTH et al. (1984) führten erste Graustufenanalysen am Leberparenchym durch. Sie untersuchten, ob sich ein diffuser Leberparenchymschaden objektiv durch eine Änderung der Häufigkeitsverteilung innerhalb einer standardisierten ROI im Ultraschallbild darstellen lässt. Dafür verglichen sie Grauerthistogramme von gesunden Personen und von Patienten mit diffusem Leberparenchymschaden. Auf der Grundlage der Parameter mittlerer Grauwert und Standardabweichung konnte eine Trefferquote von 90 % erzielt werden. Sie folgerten, dass der subjektive Begriff „Echogenität“ durch die Analyse zweier Parameter aus dem Grauerthistogramm objektiviert werden kann.

In der Kardiologie wird die Graustufenanalyse verwendet bei der

- Suche nach infarktgeschädigten Arealen (McPHERSON et al., 1986),
- Klassifikation der Kardiomyopathien (SKORTON und COLLINS, 1988; LIEBACK et al., 1989),

Mit Hilfe mehrdimensionaler Analyseverfahren können

- perivaskulären Proteinablagerungen (myokardiale Amyloidose) (PINAMONTI et al., 1989),
- Myokardfibrose (FERDEGHINI et al., 1991),
- akute Myokarditis (LIEBACK et al., 1989) und
- beginnende Abstoßungsreaktionen bei der Herztransplantation (LIEBACK et al., 1991; HARDOUIN et al., 1994)

diagnostiziert werden.

In der Inneren Medizin wird die Graustufenanalyse u. a. eingesetzt

- in der Diagnostik von Lebererkrankungen (RÄTH et al., 1984; LORENZ et al., 1984),
- bei Veränderungen des Milzgewebes (BLECK et al., 1997b),
- bei der Diagnose von Pankreasveränderungen (KÖLBEL et al., 1987; WILDGRUBE und DEHWALD, 1990; BLECK et al., 1998) und

- bei Schilddrüsenerkrankungen (ZIELKE et al., 1985; MÜLLER-GÄRTNER, 1986; BECKER et al., 1989).

In der Gynäkologie wurde die Graustufenanalyse erstmals 1987 bei der Beurteilung der Plazenta auf altersbedingte oder durch Tabakkonsum verursachte Schädigungen verwendet. Außerdem konnte frühzeitig ein schwangerschaftsassoziierter Bluthochdruck erkannt werden (BURGER et al., 1987; MORRIS, 1988). SOHN et al. (1992) stellten fest, dass während der Fetalentwicklung die Echotextur der Leber nahezu gleich bleibt, während sich die des Lungengewebes im Laufe der Schwangerschaft stark ändert. Werden die Frequenzen aus Lunge und Leber zueinander ins Verhältnis gesetzt, können Aussagen über die Lungenreife getroffen werden. In der Brustkrebsdiagnostik können mit Hilfe der Graustufenanalyse Karzinome, Fibrome und Fettgewebsnekrosen voneinander differenziert und so Gewebebiopsien reduziert werden (GARRA et al., 1993; CHEN et al., 2000). BADER et al. (2000) konnten mit Hilfe der Grauwertabhängigkeitsmatrix (Parameter der zweiten Ordnung) gutartige von bösartigen Tumoren differenzieren, nicht aber durch einfache Grauwert-Histogramme (Parameter der ersten Ordnung).

Die manuelle Zervixuntersuchung bei schwangeren Frauen kann durch die Texturanalyse eines Ultraschallbildes ersetzt werden. Dazu werden Grauwertstatistiken erster Ordnung, die Grauwertabhängigkeitsmatrix und Verlaufslängenstatistiken zu einem Index für die Textur der Zervix (texture based cervical score) zusammengefasst. Dieser Index korreliert mit den üblichen manuellen Untersuchungskriterien. Zusätzlich kann mit den Ergebnissen das Risiko einer Zervixinsuffizienz abgeschätzt werden (WISCHNIK et al., 1999; RÖMER, 2006). TEKESIN et al. (2002) stellten fest, dass bei Schwangeren mit verfrühten Uteruskontraktionen, einer Verkürzung der Zervix und somit drohender Frühgeburt der mittlere Grauwert eines Ultraschallbildes der Zervix niedriger ist als bei Frauen mit ungestörter Schwangerschaft.

Die quantitative Graustufenanalyse wird in der Andrologie unter anderem dazu genutzt, die verschiedenen physiologischen Entwicklungsstadien des Hodengewebes vom Neonaten bis zu einem Alter von 65 Jahren objektiv zu definieren. Dies ist ein Informationsgewinn hinsichtlich histologischer Veränderungen (HAMM und FOBBE, 1995; FERDEGHINI et al., 1995). FEIBER et al. (1984) verglichen die Unterscheidung von Prostataadenomen und -karzinomen anhand

visueller Parameter im Vergleich zur Graustufenanalyse. Bei subjektiv visueller Beurteilung gelang die Unterscheidung mit einer Spezifität von 75,8 % und einer Sensitivität von 72,7 %, mittels Graustufenanalyse mit Spezifität und Sensitivität von 90,5 %. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen ZIELKE et al. (1985).

#### **2.4.7.2 VETERINÄRMEDIZIN**

Auch in der Veterinärmedizin kommt die Graustufenanalyse zunehmend zum Einsatz, hat jedoch bisher bei weitem nicht die Bedeutung wie in der Humanmedizin. RUBERTE et al. (1994) untersuchten Morphologie, Milchproduktion und Pathogenese von Erkrankungen an Eutern von Schafen mittels Graustufenanalyse und konnten Beurteilungskriterien zur anatomischen Struktur des Euters in vivo erstellen.

Beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*) analysierte HERMES (1998) zyklusbedingte Änderungen des Endometriums mittels Graustufenanalyse, welche visuell nicht zu erkennen waren. Dabei konnte er die Zunahme dunkler flüssigkeitsassoziiertes Graustufen ab dem dritten Monat der embryonalen Diapause nachweisen. Zu diesem Zeitpunkt nahm die Echogenität des Endometriums signifikant ab.

GERTSCH (1997) untersuchte mittels Graustufenanalyse die Ödematisierung des Uterus der Stute. Beim Vergleich der ein- und mehrdimensionalen Grauwertanalyse stellte sie fest, dass das aufwendigere Verfahren keinen zusätzlichen Informationsgewinn bezüglich des Zyklusstandes bringt. Die Vorteile der computergestützten Bildanalyse sieht sie in der Objektivität, der Schnelligkeit und der Genauigkeit, als nachteilig die Unfähigkeit des Systems, Artefakte zu erkennen.

LORBER (1999) stellte mit Hilfe der eindimensionalen Graustufenanalyse eindeutige zyklusabhängige Veränderungen des equinen Endometriums dar. Außerdem konnte eine positive Korrelation zwischen der Progesteronkonzentration im Blutserum und dem mittleren Grauwert sowie eine negative Korrelation zwischen mittlerem Grauwert und der Konzentration von Östradiol 17 $\beta$  nachgewiesen werden. Zu vergleichbaren Ergebnissen kommen BRAGG WEVER et al. (2002). KRETZSCHMAR (2004) konnte zeigen, dass einzig der mittlere Grauwert des Endometriums der Stute einen deutlichen Zyklusverlauf widerspiegelt. Sie stellte fest, dass nur die Auswertung der

Gesamtfläche als Standard für die Echotexturanalyse des equinen Endometriums geeignet ist, da abhängig von der Platzierung der ROIs signifikante Unterschiede hinsichtlich der Einzelparameter auftreten.

Beim Rind wurden mittels mehrdimensionaler Graustufenanalyse zyklus- und entzündungsbedingte Veränderungen der Gewebestruktur des Endometriums dargestellt (SCHMAUDER, 2003). BERTMANN (2005) analysierte mehrere Echotexturparameter der uterinen Schleimhaut des Rindes in der Frühträchtigkeit. Sie kommt zu dem Schluss, dass die Echostrukturanalyse des Endometriums beim Rind geeignet ist, um eine Gravidität vor Sichtbarwerden des Embryos zu diagnostizieren. Auch beim Schwein kann dieses Verfahren bereits am zwölften Tag post ovulationem zur Trächtigkeitsdiagnose genutzt werden (VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, 2007; KAUFFOLD et al., 2010).

Auch die Ovarien verschiedener Tierarten wurden mittels Echostrukturanalyse untersucht. TOWNSON und GINTHER (1989) untersuchten den sich frisch entwickelnden Gelbkörper bei Ponystuten mittels Graustufenanalyse. Sie stellten fest, dass eine Beurteilung sonographischer Bilder mit Hilfe einer Graustufenanalyse im Gegensatz zu einer visuellen Beurteilung genauer und objektiver ist.

Bei der Beurteilung von *Corpora lutea* von Jungkühen beobachteten TOM et al. (1998a) zyklusabhängige Schwankungen des mittleren Grauwertes. Im Metöstrus wurden hohe Werte gemessen, im frühen und mittleren Diöstrus mittlere und im Proöstrus niedrigste Werte. Zusätzlich stellten sie eine negative Korrelation zwischen den mittleren Grauwerten und der Progesteronkonzentration im Blutplasma fest. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei SINGH et al. (1997). In einer anderen Arbeit untersuchten TOM et al. (1998b) die Follikelwand im Verlauf des Zyklus beim Rind und beobachteten eine Abnahme der Echogenität bei erhöhter Vaskularisation der *Theca interna*. In einer Untersuchung über das equine *Corpus haemorrhagicum* und *Corpus luteum* konnte TESCHNER (2008) eine Veränderung der Grauwerte im Laufe des Zyklus feststellen, die einzelnen Werte aber keinem bestimmten Tag im Zyklus zuordnen. Lediglich zum erwarteten Zeitpunkt der Luteolyse nahm der Grauwert drastisch ab.

In der Andrologie wurden Hoden und Prostata verschiedener Spezies untersucht. EVANS et al. (1996) untersuchten in vitro die Veränderungen testikulärer Gewebestrukturen von Bullenkälbern mittels eindimensionaler Graustufenanalyse.

Sie beschrieben einen Anstieg des mittleren Grauwertes zwischen der 20. und 40. Lebenswoche. Die Ergebnisse korrelierten mit verschiedenen Entwicklungsprozessen des Hodengewebes, wie z. B. Zunahme der Tubulusdurchmesser, Keimepithelproliferation und Keimzellmaturität. In einer ähnlichen Arbeit konnten CHANDOLIA et al. (1997) in vivo einen noch differenzierteren Verlauf darstellen. Bereits in der 6. bis 8. Lebenswoche stieg der Grauwert geringgradig an und blieb dann auf einem Plateau bis zur 20. Lebenswoche. Ab diesem Zeitpunkt stiegen die Helligkeitswerte stetig an und erreichten ein Maximum ab der 46. Woche. Sowohl EVANS et al. (1996) als auch CHANDOLIA et al. (1997) sehen in der eindimensionalen Graustufenanalyse eine nicht invasive Methode, mit deren Hilfe die Maturität des Hodenparenchyms während der postnatalen Entwicklung beurteilt werden kann. KASTELIC et al. (2001) führten eine Graustufenanalyse an Hoden von 129 Mastbullen im Alter von 16 Monaten durch. Beim Vergleich der mittleren Echodichte des testikulären Parenchyms mit dem täglichen Spermienausstoß stellten sie eine positive, statistisch relevante lineare Beziehung fest. Aufgrund der Ergebnisse sehen die Autoren daher in dieser Methode eine wertvolle Ergänzung bei der Zuchttauglichkeitsbeurteilung von Zuchtbullen. GRAUE (2002) untersuchte Hoden von Bullen unterschiedlichen Alters. Sie konnte signifikante Unterschiede in der Echodichte zwischen den verschiedenen Altersklassen darstellen. Außerdem kann anhand der Grauwert-Histogramme durch eine positive, statistisch relevante Korrelation der mittleren Grauwerte mit der Spermiengesamtzahl auf die geschlechtliche Beanspruchung des Tieres geschlossen werden.

LIGNER (2009) stellte nach einer Untersuchung an Besamungsbullen unterschiedlichen Alters fest, dass die Graustufenanalyse sonographischer Bilder des Genitaltraktes beim Bullen geeignet ist, die Befunde andrologischer Untersuchungen zu objektivieren.

Bei der Analyse caniner Hoden und Prostatae bei Rüden zwischen 1 und 11 Jahren konnte keine Korrelation zwischen Lebensalter und Grauerthäufigkeit des Hodenparenchyms nachgewiesen werden. Auch ein Zusammenhang zwischen Grauwerten und Hodenvolumen, sowie Grauwerten und Spermiengesamtzahl konnte nicht gezeigt werden. Obwohl kein Grauwert einer speziellen Gewebeveränderung zugeordnet werden konnte, stellte sich die Analyse der Grauerthäufigkeit als eine

mögliche Methode zur Quantifizierung von sonographisch darstellbaren Veränderungen dar (HÖHNE, 2002).

In einer Studie am Nebenhoden des Ebers konnte gezeigt werden, dass die Echogenität im Nebenhodenkopf und –körper homogen ist und dass die Echogenität im Kopf größer als im Körper und Schwanz des Nebenhodens ist. Nach der Samengewinnung ist die Echogenität in allen Nebenhodenabschnitten signifikant niedriger als eine Stunde vor der Samengewinnung. Die Korrelation zwischen Echogenität des Nebenhodenkopfes und der Gesamtspermienzahl war positiv, die zwischen Echogenität und Spermienkonzentration negativ (KAUFFOLD et al., 2011). KESSLER (2010) stellte fest, dass die eindimensionale Graustufenanalyse des porcinen Epididymis eine sinnvolle Ergänzung zum konventionellen Ultraschall darstellt, da sie eine Quantifizierung der subjektiven Echogenität und somit eine Objektivierung sonographischer Befunde ermöglicht.

Im Gegensatz dazu stellte BANGEN (2011) fest, dass die quantitative Graustufenanalyse am Hengsthoden keinen zusätzlichen Informationsgewinn gegenüber der konventionellen B-Mode-Sonographie bringt. Die histologische Untersuchung einer Hodenbiopsie kann nicht durch die quantitative Graustufenanalyse ersetzt werden.

### **3 MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 PROBANDENKOLLEKTIV**

Alle Untersuchungen wurden im Zeitraum April bis August 2011 an sieben Stuten im Alter von drei bis siebzehn Jahren in der der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität durchgeführt.

Fünf der Stuten waren Maidenstuten, zwei pluripar. Es handelte sich um eine Haflinger-, vier Warmblut-, eine Trakehner und eine Barockpinto-Appaloosastute. Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen der klinischen Ausbildung der Studierenden (Geschäftszeichen V 54-19c20/15 GI 18/14 Regierungspräsidium Gießen).

#### **3.2 VORVERSUCHE**

##### **3.2.1 IDENTIFIZIERUNG DES *CORPUS LUTEUM* IN VITRO**

Um festzustellen, ob Gelbkörper sicher mittels Ultraschall identifizierbar sind, wurden zwanzig Ovarien aus dem Schlachthof im Wasserbad mittels Ultraschall untersucht, aufgeschnitten und anschließend das Vorkommen eines Gelbkörpers mit den sonographischen Befunden verglichen.

##### **3.2.2 DRUCKEINWIRKUNG**

Um beschreiben und bewerten zu können, ob und wie der Aufsetzdruck des Schallkopfes auf das zu untersuchende Gewebe Einfluss auf die quantitative Graustufenanalyse nimmt, wurde bei fünf Stuten in insgesamt 10 Wiederholungen die Darstellung des Gelbkörpers jeweils mit den grob zu unterscheidenden Druckstufen

- verminderter Druck,
- normaler Druck und
- erhöhter Druck

vorgenommen. Der Aufsetzdruck wurde ohne Druckmesseinrichtung allein über den gefühlten ausgeübten Druck der Hand der Untersuchenden nach folgendem Vorgehen kontrolliert: Zuerst wurde durch Bewegungen des auf den darzustellenden Bereich aufgesetzten Schallkopfes die hinsichtlich der Darstellung optimale Stellung des Schallkopfes gesucht und der dabei ausgeübte Druck als Normaldruck deklariert. Im Folgenden wurde der Druck soweit gemindert wie noch ein sonographisches Bild des Gewebes erstellt werden konnte. Die Druckerhöhung wurde soweit vorgenommen bis das unterliegende Gewebe zu entgleiten begann.

### **3.2.3 DIFFERENZIERBARKEIT VON OVARGEWEBE UND DEM *CORPUS LUTEUM***

Bei fünf Stuten wurde in einem Zyklus an den Tagen 5, 10 und 17 je eine Graustufenuntersuchung des Gelbkörpers und eine des Ovargewebes durchgeführt, dabei war Tag 1 der Tag nach der Ovulation. Das Ziel dieser Untersuchung bestand darin, zu untersuchen, ob sich Ovar- und Gelbkörpergewebe eindeutig mittels Graustufenanalyse *in vivo* unterscheiden lassen.

## **3.3 UNTERSUCHUNGSMETHODEN**

Für die Untersuchungen wurden die Stuten in einen Untersuchungsstand geführt und von einer assistierenden Person fixiert. Die Untersuchungen wurden in ruhiger Atmosphäre, ohne weitere Manipulation oder Sedierung und unter Einhaltung der von MERKT (1986; 1992) beschriebenen Vorsichtsmaßnahmen durchgeführt.

### **3.3.1 SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG**

Vor Beginn einer jeden sonographischen Untersuchung wurde ein Einmal-Handschuh (Eurofarm Veterinär-Einmalhandschuh Vet Top, Copolymer) angelegt und mittels Gleitgel (Bovi Concept® Gleitgel N, Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) schlüpfrig gemacht. Nach der Entfernung aller im Rektum liegenden Kotballen wurde eine ebenfalls mit Gleitgel bestrichene Ultraschallsonde in der hohlen Hand mit nach unten gerichteter Schallaustrittsöffnung am Rektumboden nach kranial geschoben. Nach Aufsuchen der Bifurkation des Uterus konnten die

Uterushörner bis zu den Eierstöcken verfolgt werden, so dass Follikel und Gelbkörper sonographisch dargestellt und eine Graustufenanalyse der Gelbkörper durchgeführt werden konnte. Die Dokumentation der erhobenen Befunde erfolgte in einem Untersuchungsbogen (Abbildung 1), der folgende Parameter aufnahm:

- Datum der Untersuchung
- Erhobene Grauwerte
- Beschreibung Follikel und Gelbkörper auf dem rechten bzw. linken Ovar
- Form der Portio vaginalis
- Auffälligkeiten im Verhalten oder sonstige äußere Gegebenheiten

Ginger

Mai	Grauwert	Grauwert	Befund Ovarium links	Befund Ovarium rechts	Portio vaginalis	sonstiges
1			mehrere kl. F (bis 1,5cm)	F: Ø 4,5 cm		
2			"	F: Ø 4,5 cm		bisschen unruhig
3	18,8	17,7	"	Corpus luteum	rosettenförmig	
4	26,0	22,8	"	C.l.		
5	26,6	26,6	"	C.l.	rosettenförmig	
6	27,0	20	"	C.l.		
7	22,4	24,3	"	C.l.	rosetteförmig	
8	24,4	23,7	"	C.l.		
9	19,5	18,7	"	C.l.	rosetteförmig	
10	18	17,9	"	C.l.		
11	15,9	16,1	" (Ø bis 2cm)	C.l.	rosetteförmig	
12	20,8	20,1	"	C.l.		
13	12,8	13,4	"	C.l.	rosetteförmig	
14	12,4	10,8	"	C.l.		
15	13,2	12,4	"	C.l.	schlaff	
16	11,2	12,6	"	C.l.		
17	11,5	10,5	"	C.l. F: Ø 3cm	schlaff	
18	14,1	12,9	"	C.l. F: Ø 3,5cm		
19	12,9	12	" (Ø bis 2,5cm)	C.l. F: Ø 4 cm	statt verlaufend	unruhig
20	12	14,0	"	C.l.	verstaft	"
21						"
22						wieder ruhiger
23						
24	13,1	14,5	mehrere kl. F	C.l.	schlaff	
25						
26						
27						
28						
29	8,6	8,3	mehrere kl. F	C.l.	verlaufend	unruhig, hebt den Schwanz
30						
31						

Abbildung 1: Muster eines Untersuchungsbogens zur Dokumentation der erhobenen Befunde; Verwendete Abkürzungen: kl = kleine, F = Follikel, Ø = durchschnittliche Größe des Follikels, C.l. = *Corpus luteum*

### 3.3.1.1 ULTRASCHALLGERÄT UND VERWENDETE EINSTELLUNGEN

Die sonographischen Untersuchungen wurden mit einem Ultraschallgerät Honda HS-1500V (Honda Electronics Co., Ltd., Toyohashi Aichi Prefecture, Tokio, 441-3193 Japan) und einer 50 mm Multifrequenz-Transrektalsonde (HLV-375M) durchgeführt. Im Rahmen von Voruntersuchungen wurden Einstellungen gewählt, die nach Bewertung durch die Untersuchende die beste Darstellung der Ovarien lieferten. Die Einstellungen wurden vor jeder Untersuchung überprüft. In Tabelle 1 sind Leistungsniveau und verwendete Einstellungen des Gerätes aufgeführt.

Tabelle 1: Leistungsniveau des Ultraschallgerätes Honda HS-1500V und verwendete Einstellungen

<b>Parameter</b>	<b>Einstellungsvarianten</b>	<b>Verwendete Einstellung</b>
Betriebsmodus	B-, B/B-, B/M- Mode	B-Mode
Frequenz in MHz	5.0 / 7.5 / 10.0	7.5
Gesamtverstärkung	36-100 dB	65
Dynamikbereich	35-95 dB	75
Tiefenausgleich (TGC)	stufenlose Schieberegler	mittlere Position
Fokuseinstellung	kann entsprechend der Skala verändert werden	je nach Bild 4 oder 6 cm
Dynamischer Fokus	ein / aus	ein
Bild-/Zeilenkorrektur	hoch / niedrig / aus	hoch
$\gamma$ -Korrektur	1 – 8	5
Graustufenanzeige	ein / aus	ein
Bildgröße R	40 – 120 mm	60 mm

Die Ultraschallaufnahmen wurden während jedes Untersuchungstages in einem gerätinternen Flash-Speicher mit einer Kapazität von 60 Bildern gespeichert und nach Abschluss der Messungen über eine serielle Schnittstelle im jpg-Format auf einen PC übertragen.

### 3.3.1.2 DESKRIPTIVE AUSWERTUNG DER SONOGRAPHISCHEN BEFUNDE DES GELBKÖRPERS

Die Beschreibung der sonographischen Darstellung der Gelbkörper verwendet folgende Parameter:

- Abgrenzbarkeit,
- Echogenität,
- Schallverhalten,
- Homogenität

(Tabelle 2).

Tabelle 2: Befundschema zur sonographischen Charakterisierung der Gelbkörper

Abgrenzbarkeit	abgrenzbar, nicht abgrenzbar
Echogenität	echoreich, mittelechogen, echoarm, echofrei
Homogenität	homogen, inhomogen
Schallverhalten	neutral, Schallschwächung, Schallverstärkung

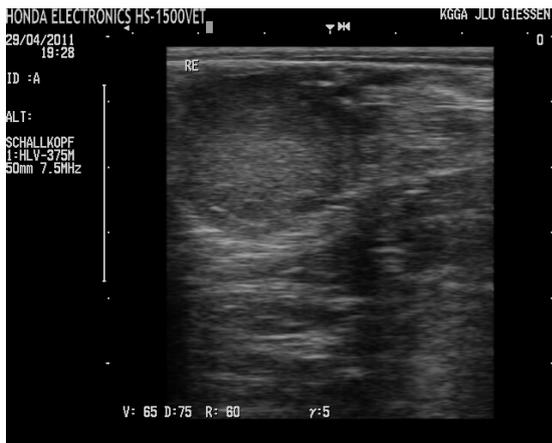
Die Abgrenzbarkeit ist die sichere Trennbarkeit des untersuchten vom umliegenden Gewebes (Abbildung 2).

Die Echogenität beschreibt die Eigenschaft der Gewebe Ultraschallwellen zu reflektieren und zu streuen, so dass entsprechende Echos auf dem Bildschirm zu sehen sind. Es werden echofreie (d.h. gleichmäßig schwarze Flächen), echoarme (feine, vereinzelte, schwache Einzelechos), mittelechogene und echogene (weiß oder hellgraue) Bereiche unterschieden.

Die Homogenität beschreibt die Verteilung der Einzelechos, wobei die gleichmäßige (homogene, Abbildung 2) und ungleichmäßige (inhomogene, Abbildung 3) Verteilung unterschieden wird.

Das Schallverhalten beschreibt die Schallauslöschung, den Schallschatten oder die Schallverstärkung. Diese sind als sonographische Artefakte zu deuten, die durch Brechung oder Reflexion entstehen (Abbildung 4).

a



b

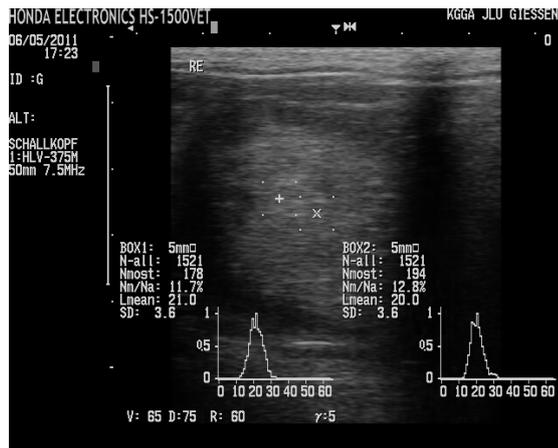


Abbildung 2: Ultrasonographische Bilder verschiedener equiner Gelbkörper, a: homogen, eindeutig abgrenzbar; b: homogen, nicht eindeutig abgrenzbar

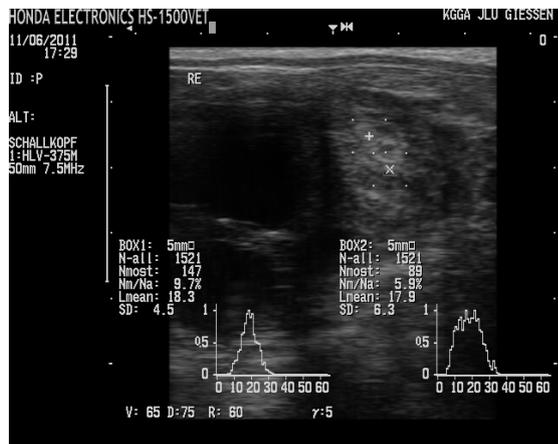
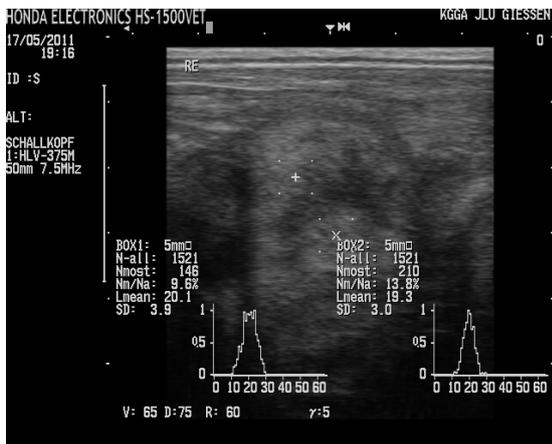


Abbildung 3 Ultrasonographische Bilder zweier equiner inhomogener Gelbkörper

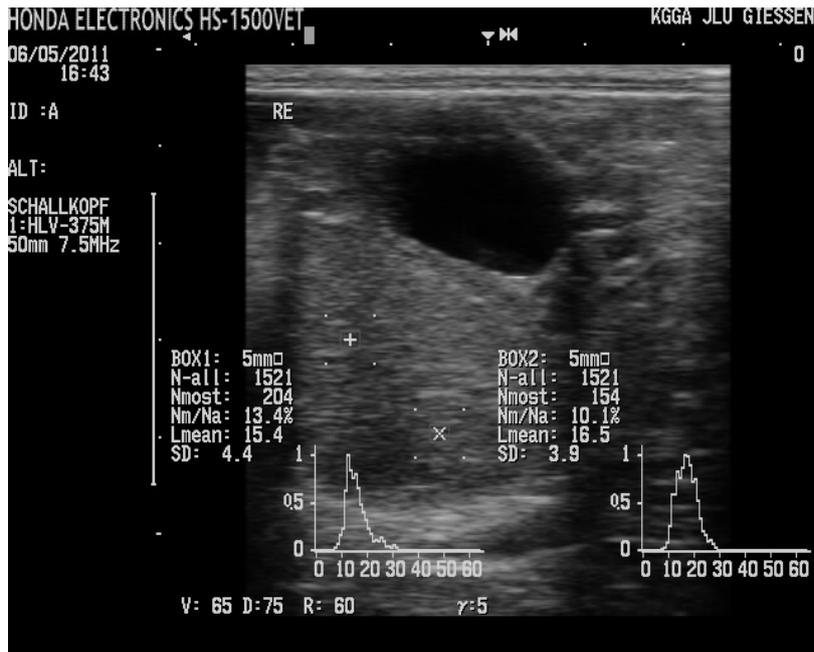


Abbildung 4: Ultrasonographische Darstellung eines equinen Gelbkörpers, bei dem im Bereich unter dem Follikel eine Schallverstärkung zu sehen ist

### 3.3.1.3 FESTLEGUNG DER ROI'S UND QUANTITATIVE GRAUSTUFENANALYSE (QGSA)

Nach Erzielung der optimalen Darstellung des *Corpus luteum* wurde das Echtzeitbild auf dem Monitor fixiert und auf folgende Weise zwei ROI's (Region of Interest) festgelegt. Pro Bild (pro Gelbkörper) wurden im Fokusbereich an zwei artefaktfreien, visuell möglichst hellen homogenen Stellen innerhalb des *Corpus luteum* je ein 5 x 5 mm großes Quadrat als ROI markiert. Pro ROI wird die Grauwertanalyse durchgeführt (Abbildung 5). Die Werte werden in jedem Standbild eingeblendet.

Um eine möglichst große Fläche des Gelbkörpers in die Graustufenanalyse einzubeziehen, wurden unter Einhalten der Organgrenzen zwei 5 x 5 mm große Quadrate auf dem Gelbkörper gewählt und die Ergebnisse anschließend gemittelt.

Die Auswahl von 3 oder noch mehr Quadraten ließ das zur Verfügung stehende Ultraschallgerät technisch nicht zu. Stattdessen bestand noch die Option, den Gelbkörper insgesamt zu umfahren, um so noch mehr Fläche in die Bewertung einzubeziehen. Diese Möglichkeit wurde verworfen, da die Grenzen des Gelbkörpers nicht immer eindeutig vom umgebenden Gewebe zu unterscheiden sind. Nach dieser

Entscheidung wurden die beiden Analysefenster (ROI's) so platziert, dass sie sicher auf dem Gelbkörper lagen.

Für die ROI errechnete das Ultraschallgerät die Grauwertnormalverteilung in Form eines Funktionsgraphen, den Mittelwert der Grauwertverteilung (Lmean), die Standardabweichung (SD), den Modalwert (Nmost) und den Quotienten aus Nmost und Nall. Dabei ist Nall ein durch das Gerät festgelegter Maximalwert von Grauwertpixeln, der je nach Einstellung des Gerätes variieren kann.

Der Mittelwert der aus den zwei ROI's gewonnen Mittelwerte der Grauwertverteilung (Lmean) wird fortan in der gesamten Arbeit „(gemessener) Grauwert“ genannt.

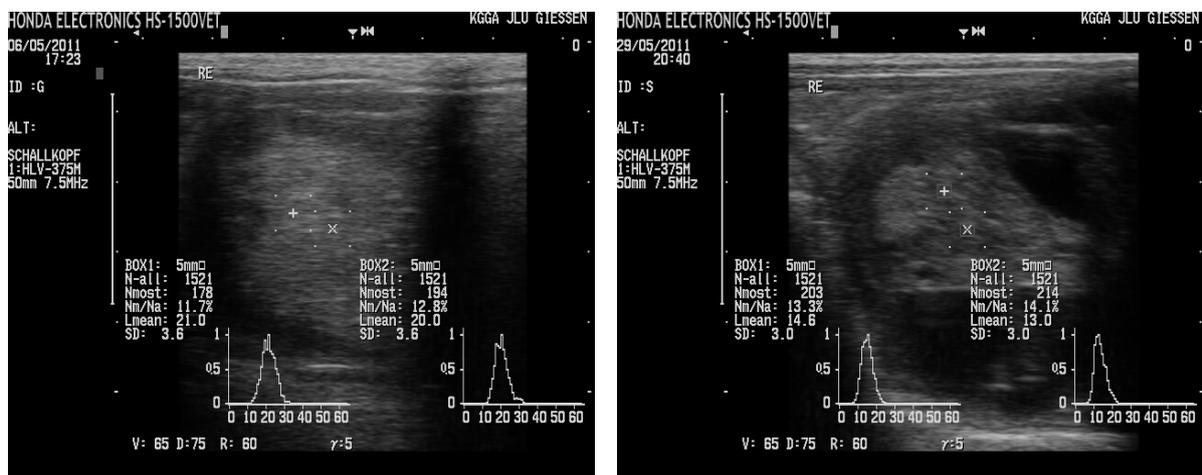


Abbildung 5: Ultrasonographische Bilder zweier equiner Gelbkörper mit eingezeichneten ROI und Graustufenanalyse

### 3.3.2 VAGINOSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

Nach sorgfältiger Reinigung der Vulva erfolgte die Vaginoskopie mittels sterilisiertem Polanski-Spekulum. Bei der Beurteilung der Form der Portio vaginalis wurde die Einteilung nach HANDLER (2009) zugrunde gelegt:

- Zapfenförmig (4), d. h. die Portio vaginalis ragt deutlich in die Vagina hinein (Abbildung 6)
- Rosettenförmig (3), d. h. der äußere Muttermund nimmt die Form einer Rosette an mit eher straffen Falten (Abbildung 7)
- Schlaff (2), d. h. die Rosettenform ist zwar noch erkennbar, aber die Falten hängen bereits lappig über (Abbildung 8)
- Verlaufend (1), d. h. der äußere Muttermund liegt am Boden der Vagina und die Falten verlaufen ineinander (Abbildung 9).

In die Tabelle wurden nicht die Merkmalsausprägungen, sondern die in Klammern angegebenen Verschlüsselungen eingetragen.



Abbildung 6: Portio vaginalis einer Stute, welcher der Form zapfenförmig zugeordnet wurde



Abbildung 7: Portio vaginalis einer Stute, welcher der Form rosettenförmig zugeordnet wurde



Abbildung 8: Portio vaginalis einer Stute, welcher der Form schlaff zugeordnet wurde



Abbildung 9: Portio vaginalis einer Stute, welcher der Form verlaufend zugeordnet wurde

### **3.3.3 BLUTUNTERSUCHUNG**

An jedem Tag der Untersuchungen wurde den Stuten eine Blutprobe entnommen. Dazu wurde ein kleiner Hautabschnitt am Übergang vom mittleren zum oberen Halsdrittel desinfiziert und manuell gestaut, so dass mit Hilfe einer Monovette® (Fa. Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) Blut aus der *Vena jugularis* entnommen werden konnte. Durch vorsichtiges Schwenken mischte sich Blut und Lithium-Heparin, sodass die Blutgerinnung verhindert wurde.

Zum Ende jedes Untersuchungstages wurden die gewonnenen Blutproben vier Minuten bei 4000 U/min zentrifugiert, um die zellulären Blutbestandteile vom Blutplasma zu trennen. Das Plasma wurde in beschriftete Sarstedt-Röhrchen umgefüllt und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C eingefroren. Die Bestimmung der Hormonkonzentrationen erfolgte im hormonanalytischen Labor der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, die von Progesteron in Anlehnung an das von HOFFMANN et al. (1973), die von Östradiol-17 $\beta$  an das von HOFFMANN et al. (1992) beschriebene Verfahren.

### **3.4 UNTERSUCHUNGSINTERVALLE**

Während der Voruntersuchungen wurden die Stuten an jedem zweiten Tag etwa zur gleichen Tageszeit untersucht, ab einer Follikelgröße von 3 cm und gleichzeitiger Ausprägung der Radspeichenstruktur der Gebärmutter täglich. Als Tag eins des Versuchsdurchgangs gilt der Tag, an dem die Ovulation palpatorisch und sonographisch nachgewiesen wurde.

#### **3.4.1 DURCHGANG 1**

Es wurde bei den Stuten während der Dauer eines Zyklus täglich eine Graustufenmessung des *Corpus luteum* durchgeführt und eine Blutprobe entnommen zur Prüfung, ob der Grauwert des Gelbkörpers mit dem Progesteron Gehalt, dem Östrogen Gehalt und dem Progesteron-Östrogen-Quotienten korreliert. Weiter wurde in diesem Durchgang an jedem zweiten Tag die Portio vaginalis beurteilt, um ebenfalls eine Korrelation mit der Progesteronkonzentration

der Östrogenkonzentration und dem Progesteron-Östrogen-Quotienten zu untersuchen.

Bei drei der sieben Stuten wurde aus folgenden Gründen je ein zweiter Zyklus erfasst.

- Stute 1: Es sollte ausgeschlossen werden, dass die großen Schwankungen der Graustufenanalyse auf Fehlern während der Untersuchungen beruhen;
- Stute 4: Ausbildung von zwei Gelbkörpern, von denen sich einer nach 7 Tagen zurückbildete;
- Stute 5: der Gelbkörper änderte Form und Konsistenz auf eine Weise, dass eine Auswertung nicht möglich schien.

Diese Zyklen sind im Abschnitt 4.2, 4.3 und 4.4 beschrieben. Sie wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit jedoch von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

Stute 4 wurde aufgrund einer Verletzung der rektalen Schleimhaut am Tag 4 am darauffolgenden Tag nicht untersucht.

Bei Stute 6 wurde an Tag 29 des ersten Durchgangs ein persistierendes *Corpus luteum* angenommen und der Zyklus durch eine einmalige intramuskuläre Gabe von 5 mg Prostaglandin F<sub>2α</sub> (1 ml Dinolytic® ad us. vet, Pfizer AG) nach 31 Tagen abgebrochen.

### **3.4.2 DURCHGANG 2**

Es wurde bei jeder Stute an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20 des Zyklus eine Graustufenmessung des *Corpus luteum* vorgenommen, eine Blutprobe entnommen und der äußere Muttermund beurteilt.

## 3.5 STATISTISCHE METHODEN

### 3.5.1 STATISTISCHE AUSWERTUNGEN

Die statistischen Auswertungen wurden mit Unterstützung der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität mit Hilfe des Statistikprogrammes BMDP / Release 8.1 (Statistical Solutions Ltd., Ireland) durchgeführt. Zur Erstellung der graphischen Darstellungen in Form von Tabellen und Diagrammen diente das Programm Excel (Microsoft® Office Excel 2007, Microsoft Corporation).

Bei der Bewertung der Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau  $\alpha = 0,05$  angesetzt.

Signifikanzattribute:

$p \leq 0,001$	hoch signifikant,
$p \leq 0,01$	signifikant,
$p \leq 0,05$	schwach signifikant,
$p > 0,05$	nicht signifikant.

Für die Deskription der Daten wurden arithmetische Mittelwerte ( $\bar{x}_a$ ), Standardabweichungen ( $\pm s$ ), Minima (Min) und Maxima (Max) berechnet. Lag keine Normalverteilung vor, wurden die Daten logarithmisch transformiert und als geometrischer Mittelwert mit Streufaktor dargestellt. Dieser Sachverhalt lag bei der Auswertung der Grauwertanalyse im Zyklusverlauf und der Plasmakonzentration von Progesteron und Östradiol-17 $\beta$  vor.

Um die Zeitabhängigkeit des Grauwertes bzw. der Plasmaprogesteronkonzentration zu beschreiben, wurde eine einfaktorische Varianzanalyse durchgeführt.

Die Korrelationen zwischen dem Grauwert einerseits und der Plasmaprogesteronkonzentration bzw. der Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentration bzw. dem Progesteron-Estradiol-17 $\beta$ -Quotienten andererseits wurden mittels des Kreuzkorrelationskoeffizienten nach Pearson bestimmt. Zur Angabe der Korrelation zwischen der Formation des äußeren Muttermundes zum einen und dem Grauwert bzw. der Plasmaprogesteronkonzentration bzw. der Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -

Konzentration zum anderen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman angewandt.

Der fehlende Messwert von Stute 7 im ersten Zyklus wurde interpoliert.

### 3.5.2 SYNCHRONISATION DER ZYKLEN

Die Zyklusdauer der Stute differiert von Tier zu Tier und auch beim einzelnen Individuum in Folgezyklen. Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit wurden daher die in die vorliegende Untersuchung aufgenommenen Zyklen des Durchganges 1 hinsichtlich der Anzahl der in die Auswertung aufgenommenen Messpunkte vereinheitlicht und synchronisiert.

Aus jedem Zyklus wurden 15 Messpunkte in die Vergleichsuntersuchung aufgenommen. Da die deutlichsten Veränderungen der Hormonkonzentration und des Grauwertes eines Gelbkörpers am Anfang und am Ende eines Zyklus auftreten, wurde festgelegt, von jedem Zyklus die ersten und letzten 5 Tage zu analysieren und die übrigen 5 Messpunkte äquidistant auf die im jeweiligen Zyklus verbleibende Zeitspanne zu verteilen.

Zur Veranschaulichung der Vorgehensweise bei der Auswahl der mittleren 5 Tage dient ein fiktiver Beispielzyklus von 24 Tagen. Der Zyklus ist in Abbildung 10 als Zeitachse mit Tagesunterteilung dargestellt. Nach Abzug der ersten und letzten 5 Tage werden aus den verbleibenden 14 (Tages-) Messungen die restlichen 5 so ausgewählt, dass sich möglichst gleiche Zeitabstände zwischen den Messpunkten ergeben. Demnach muss die Zeitspanne zwischen der letzten Messung der Anfangsgruppe (Tag 5) und der ersten Messung der Schlussgruppe (Tag 20) in sechs Intervalle geteilt werden, an deren 5 Schnittstellen die restlichen Messungen berücksichtigt werden. Diese rein arithmetische Zuordnung führt zu Zwischenpunkten (Bruchteile von Tagen), die durch einfache Rundung korrigiert werden.

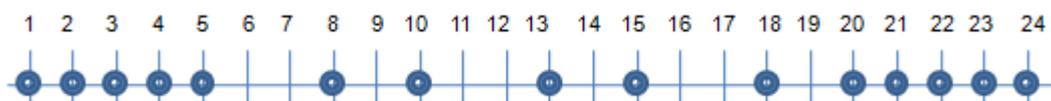


Abbildung 10: Graphische Darstellung der Synchronisation eines Zyklus von 24 Tagen Dauer

### 3.5.3 RELATIVER GRAUWERT

In einigen Darstellungen der vorliegenden Arbeit wird statt des tatsächlich gemessenen Grauwertes der „Relative Grauwert“ verwendet. Zu seiner Bestimmung wird zunächst der Mittelwert aller im Zyklus dieser Stute gemessenen Grauwerte gebildet. Es ergibt sich:

$$\text{Relativer Grauwert} = \frac{\text{Grauwert} - \text{Mittelwert}}{\text{Mittelwert}} \times 100$$

d. h.

$$\text{Relativer Grauwert} = \frac{\text{Abweichung vom Mittelwert}}{\text{Mittelwert}} \text{ in Prozent vom Mittelwert.}$$

Durch diese Definition werden bei jeder Stute die Grauwerte auf den Mittelwert null zentriert und die Abweichungsdifferenzen prozentual normiert. Auf diese Weise wird der Einfluss der unterschiedlichen Werteniveaus der Stuten eliminiert und die Vergleichbarkeit der Grauwertangaben aller Stuten hergestellt.

### 3.5.4 TRANSFORMIERTE PLASMAPROGESTERONKONZENTRATION

In einigen Abbildungen der Arbeit wird statt (des gemessenen Wertes) der Plasmaprogesteronkonzentration diese Variable logarithmiert und dann zentriert, d. h. die logarithmierte Variable wird so transformiert, dass sie den Mittelwert Null hat. Der gemessene Wert wird also ersetzt durch den Logarithmus dieses Wertes abzüglich des Mittelwertes der Logarithmen aller über dem Zyklus gemessenen Werte dieser Stute.

In diesem Sinn wird im Folgenden der Terminus „transformierte Plasmaprogesteronkonzentration“ verwendet. Zweck dieser Begriffsbildung ist, die wegen der unterschiedlichen Werteniveaus der sieben Stuten fehlende Vergleichbarkeit herzustellen (vgl. Abbildung 22, Abbildung 23, Abbildung 25).

### **3.5.5 TRANSFORMIERTE PLASMA-ÖSTRADIOL17 $\beta$ -KONZENTRATION**

Die „transformierte Plasma-Östradiol17 $\beta$ -Konzentration“ wird zum selben Zweck analog der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration gebildet durch Logarithmierung und anschließende Zentrierung um Null.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 VORVERSUCHE

#### 4.1.1 SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG AN SCHLACHTHOFORGANEN

Bei zehn von zwanzig Ovarien wurde per Ultraschall im Wasserbad ein Gelbkörper diagnostiziert (Abbildung 11). Alle zehn Gelbkörper konnten anschließend im aufgeschnittenen Präparat bestätigt werden (Abbildung 12). Auch die Gegenprobe war erfolgreich. Bei den übrigen zehn Ovarien wurde auch nach dem Aufschneiden kein Gelbkörper entdeckt.

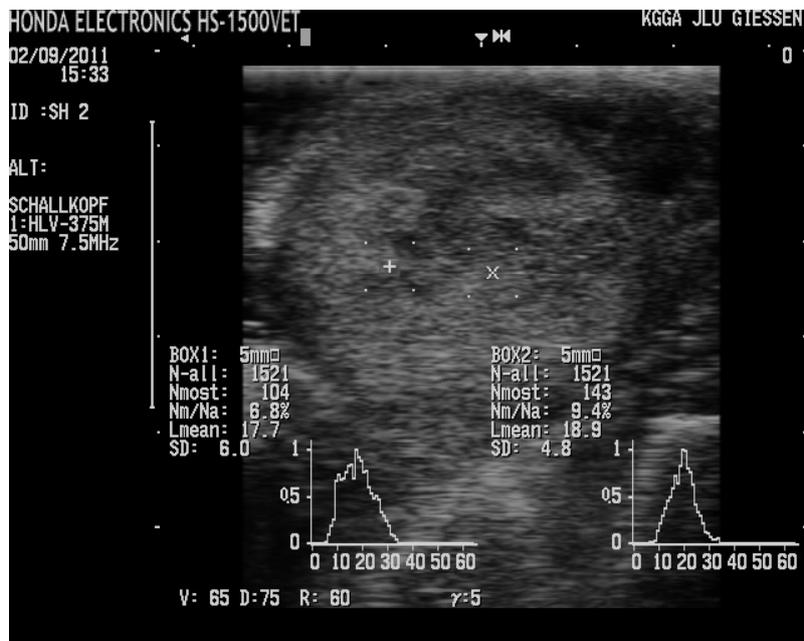


Abbildung 11: Sonographische Darstellung des Gelbkörpers einer Stute im Wasserbad.

Typisch für die sonographische Struktur des Gelbkörpers ist die Echogenität seiner Schnittfläche. Sie zeigt Graustufen, die für Reflexionen von mäßig dichtem Gewebe charakteristisch sind. Durch eine dünne echoschwache Begrenzungslinie wird der Gelbkörper zum umgebenden Ovarparenchym abgegrenzt, das durch seine höhere Dichte meist ein etwas intensiveres Echo zeigt und von echolosen Follikeln durchsetzt ist.

a



b



Abbildung 12: Dasselbe Ovarium mit Gelbkörper wie in Abbildung 11 in intaktem (a) und aufgeschnittenen (b) Zustand

#### 4.1.2 DRUCKEINWIRKUNG

Wurde der Ultraschallkopf mit normalem Druck auf das Ovar aufgesetzt, konnte in allen Fällen ein Bild des Gelbkörpers aufgenommen und zwei Graustufenanalysen durchgeführt werden. Wurde der Druck auf die Ultraschallsonde erhöht, ließ sich das Ovar in drei von zehn Fällen nicht ausreichend fixieren, so dass kein auswertbares Bild erstellt werden konnte. In weiteren drei Fällen konnte jeweils nur eine ROI festgelegt werden, da der Gelbkörper nicht in vollem Umfang eindeutig identifizierbar war. Bei vier Bildern konnten jeweils zwei Grauwerte gemessen werden. Wurde die Ultraschallsonde mit vermindertem Druck auf das Ovar aufgesetzt, konnte der Gelbkörper nur in zwei von zehn Fällen dargestellt und ein Grauwert gemessen werden (Tabelle 3).

Nach Verminderung des Druckes waren nur 2 von 20 ROI's (10 %) der Gelbkörper auswertungsfähig darstellbar. In diesen beiden Fällen wurde der Grauwert gegenüber dem bei Normaldruck annähernd halbiert.

Bei Erhöhung des Aufsetzdrucks waren 11 von 20 ROI's (55 %) auswertbar. Bei den vergleichbaren Messungen (gleiches Tier zur gleichen Zeit) ergab sich ein

durchschnittlicher Abfall des Grauwertes um 5 % bei Erhöhung des Drucks, es ergaben sich jedoch sowohl Erhöhungen als auch Verringerungen des Grauwertes.

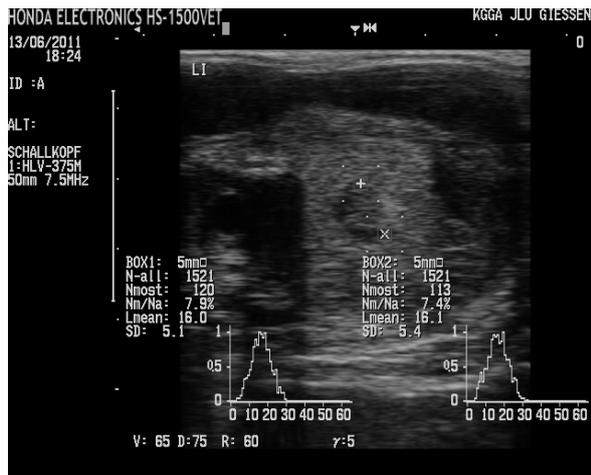
Tabelle 3: Grauwerte bei unterschiedlichem Druck der Ultraschallsonde auf das zu untersuchende Gewebe (n. a. = keine auswertbare Darstellung des Gelbkörpers möglich)

Tag	erhöhter Druck		Mittelwert	normaler Druck		Mittelwert	verminderter Druck		Mittelwert
1	12,1	11,5	11,8	12,6	12,3	12,45	n. a.	n. a.	n. a.
2	6,4	n. a.	6,4	10,5	10	10,25	n. a.	n. a.	n. a.
3	n. a.	n. a.	n. a.	15,4	15,9	15,65	8,8	n. a.	8,8
4	11,8	n. a.	11,8	10,6	10,6	10,6	n. a.	n. a.	n. a.
5	22,9	26	24,45	22,6	22,6	22,6	n. a.	n. a.	n. a.
6	22,3	20,3	21,3	18,4	18,3	18,35	n. a.	n. a.	n. a.
7	10,2	n. a.	10,2	12,9	13	12,95	7,3	n. a.	7,3
8	n. a.	n. a.	n. a.	17,2	17,1	17,15	n. a.	n. a.	n. a.
9	12	12,1	12,05	11,9	12,8	12,35	n. a.	n. a.	n. a.
10	n. a.	n. a.	n. a.	11,1	11,2	11,15	n. a.	n. a.	n. a.

#### 4.1.3 DIFFERENZIERBARKEIT VON OVARGEWEBE UND DEM *CORPUS LUTEUM* IN VIVO

Vom Gelbkörper konnten jeweils zwei Grauwerte erhoben werden. Beim Ovargewebe hingegen war dies nicht immer möglich, da oft nicht ausreichend Ovargewebe für zwei Messungen darstellbar war (Abbildung 13 b). Die Werte der Gelbkörper wurden gemittelt, die des Ovargewebes nur dann, wenn zwei Werte vorlagen (Tabelle 4).

a



b

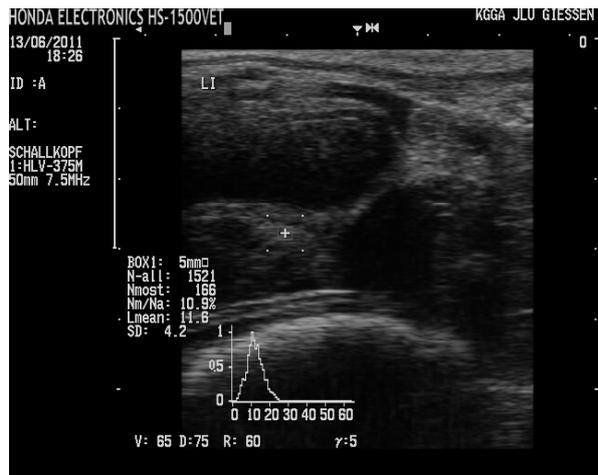


Abbildung 13: Ovarium von Stute 1 am Tag 5 im Zyklus. Bild a zeigt die Graustufenanalyse des Gelbkörpers, Bild b die des Ovargewebes.

Tabelle 4: Grauwerte von Ovar und *Corpus luteum* (C. l.) von 5 Stuten an den Tagen 5, 10 und 17 im Zyklus (n. a. = nicht ausreichend Ovargewebe für eine zweite Graustufenanalyse darstellbar)

Tiernummer	Tag im Zyklus	Ovar	Ovar	Ovar gemittelt	C. l.	C. l.	C. l. gemittelt
1	5	11,6	n. a.	11,6	16	16,1	16,05
1	10	7,6	n. a.	7,6	14,4	15	14,7
1	17	7,8	n. a.	7,8	12,6	12,3	12,45
2	5	9,7	n. a.	9,7	18,3	17,4	17,85
2	10	5,7	n. a.	5,7	15,4	15,9	15,65
2	17	5,2	8,9	7,05	11,4	10,4	10,9
4	5	6,8	9,4	8,1	13,5	13,9	13,7
4	10	10,7	n. a.	10,7	15,5	15,3	15,4
4	17	7,3	n. a.	7,3	10,4	8,9	9,65
5	5	10,2	7,3	8,75	24,5	25,7	25,1
5	10	8,0	9,6	8,8	17,2	17,1	17,15
5	17	9,1	10,6	9,85	16,7	18,5	17,6
6	5	6,9	n. a.	6,9	11,5	11,1	11,3
6	10	9,9	8,5	9,2	11,9	12,8	12,35
6	17	10,9	7,6	9,25	11,1	11,2	11,15

Die Mittelwerte der Grauwerte des Ovars der 5 Stuten an den Tagen 5, 10 und 17 unterscheiden sich statistisch signifikant ( $p = 0,01$ ) von den Mittelwerten der Grauwerte der Gelbkörper. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Tagen sind statistisch nicht signifikant ( $p = 0,108$ ) (Abbildung 14).

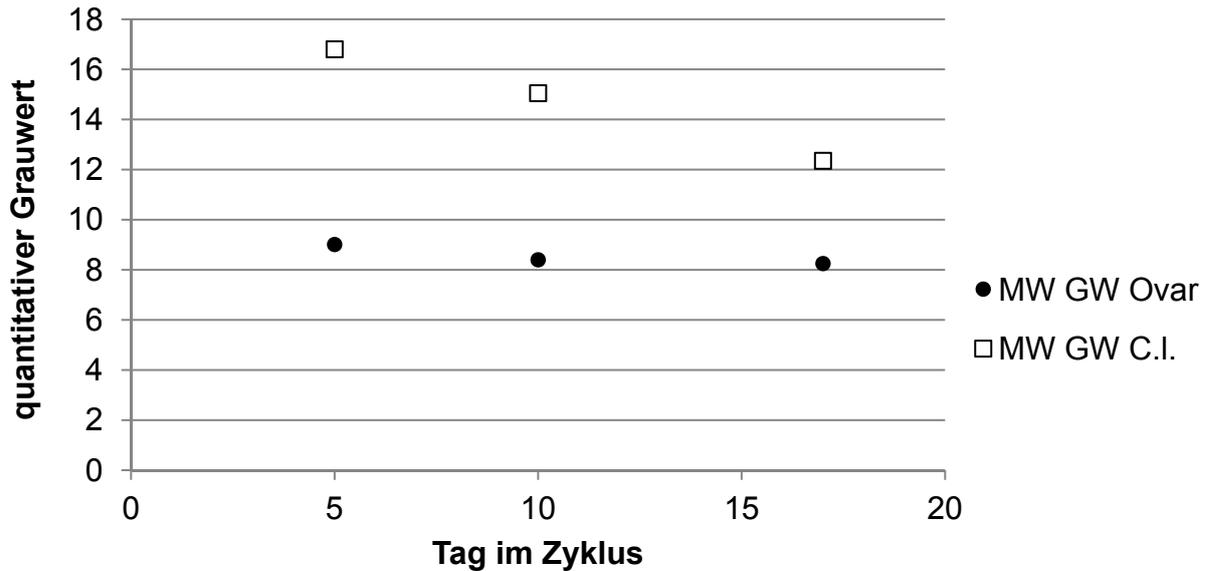


Abbildung 14: Mittelwerte (MW) der Grauwerte (GW) des Ovars bzw. des Gelbkörpers (C. I.) von 5 Stuten an den Tagen 5, 10 und 17 im Zyklus

## 4.2 SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG AM LEBENDEN TIER

### 4.2.1 SONOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DES *CORPUS LUTEUM* IM VERLAUF DES ZYKLUS

Die Dauer der Zyklen im Durchgang 1 variierte zwischen 17 und 36 Tagen, im Durchschnitt 23,1 Tage, die Standardabweichung beträgt 5,1 Tage (Tabelle 5). Bei Stute 6 wurde ein persistierendes *Corpus luteum* angenommen und der Zyklus durch eine einmalige Gabe von Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (1 ml Dinolytic<sup>®</sup> ad us. vet, Pfizer AG) nach 31 Tagen abgebrochen. Ohne diesen Zyklus liegt die durchschnittliche Dauer der Zyklen bei 21,6 Tagen, die Standardabweichung bei 2,5 Tagen.

Tabelle 5: Dauer der untersuchten Zyklen in Tagen

<b>Pferd</b>	<b>Dauer des ersten Zyklus (Tage)</b>	<b>Dauer des zweiten Zyklus (Tage)</b>
Stute 1	23	24
Stute 2	17	
Stute 3	20	
Stute 4	19	22
Stute 5	22	24
Stute 6	36	
Stute 7	24	

Von den 10 Zyklen konnte bei vier Zyklen der Gelbkörper über den gesamten Zyklus dargestellt werden (Tabelle 6). In einem Zyklus (Stute 4) konnte auf dem linken Ovar ein Gelbkörper von Tag 1 bis 7 dargestellt werden. Auf dem rechten Ovar konnte ein weiterer Gelbkörper von Tag 4 bis Tag 19 dargestellt werden. Dieser Zyklus dauerte insgesamt 19 Tage.

In den verbleibenden 5 Zyklen konnte der Gelbkörper nicht über den gesamten Zyklus dargestellt werden, der Gelbkörper bildete sich jeweils in einem Zeitraum von 4 - 7 Tagen vor Beginn des neuen Zyklus zurück (Tabelle 6).

In drei Zyklen bildete sich je ein Gelbkörper auf dem rechten und dem linken Ovar. Dabei blieb bei einem Zyklus ein Gelbkörper auf dem linken Ovar über den gesamten Zyklus bestehen, während der andere nach 13 (von insgesamt 20) Tagen nicht mehr darstellbar war. Dieser Gelbkörper zeigte eine netzartige echoarme Struktur, sodass von einem anovulatorischem luteinisierendem Follikel ausgegangen werden kann.

In einem Zyklus (von insgesamt 22 Tagen) war der Gelbkörper auf dem linken Ovar über den gesamten Zeitraum, der Gelbkörper auf dem rechten Ovar an den Tagen 1 – 16 darstellbar. In einem Zyklus (insgesamt 19 Tage) konnte auf dem linken Ovar ein Gelbkörper an den Tagen 1 – 7 dargestellt werden, auf dem rechten Ovar an den Tagen 4 – 19.

Tabelle 6: Sonographische Darstellung des *Corpus luteum* im Zyklusverlauf. In Klammern ist jeweils die Gesamtdauer des Zyklus angegeben und auf welchem Ovar das *Corpus luteum* darstellbar war (re = rechtes Ovar, li = linkes Ovar).

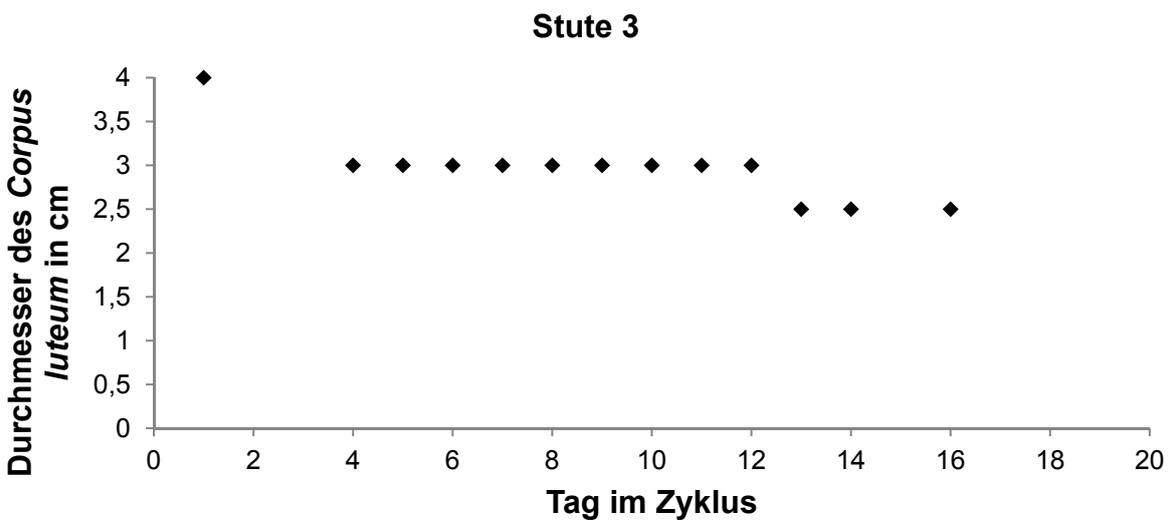
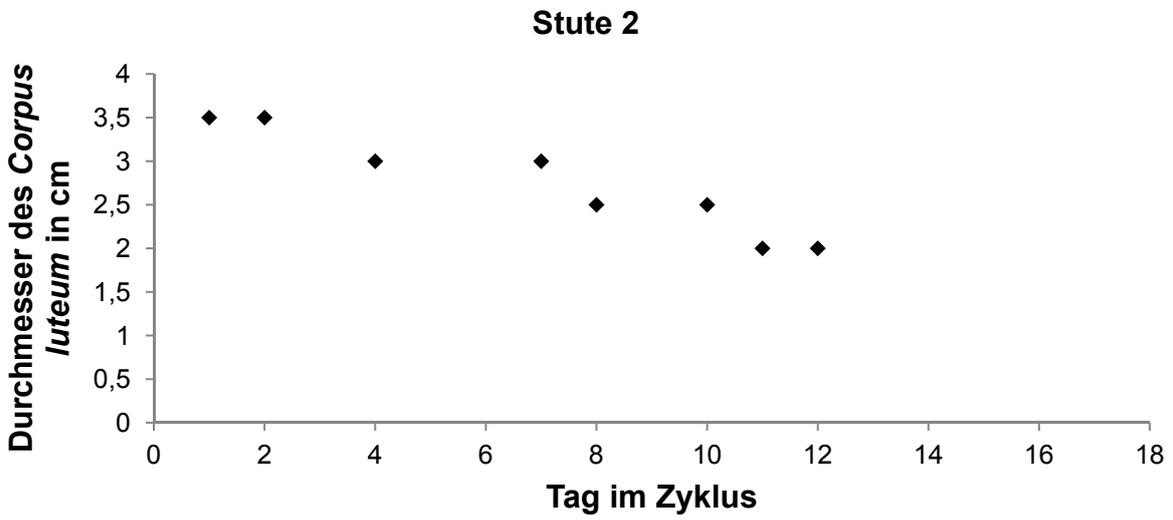
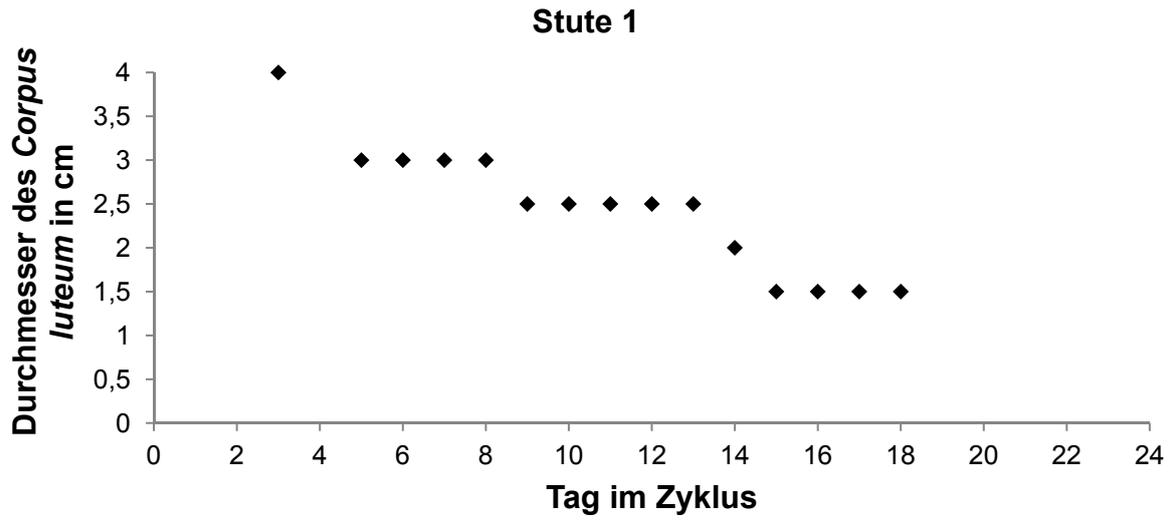
<b>Pferd</b>	<b>Zyklus 1</b>	<b>Zyklus 2</b>
Stute 1	1 - 17 (re; 23)	1 - 20 (re; 24)
Stute 2	1 - 17 (re; 17)	
Stute 3	1- 20 (li; 20), 1- 13 (re; 20)	
Stute 4	1 - 7 (li; 19), 4 – 19 (re; 19)	1 - 22 (li; 22), 1 - 16 (re; 22)
Stute 5	1 - 22 (re; 22)	1-18 (re; 24)
Stute 6	1 - 32 (re; 36)	
Stute 7	1 - 17 (li; 24)	

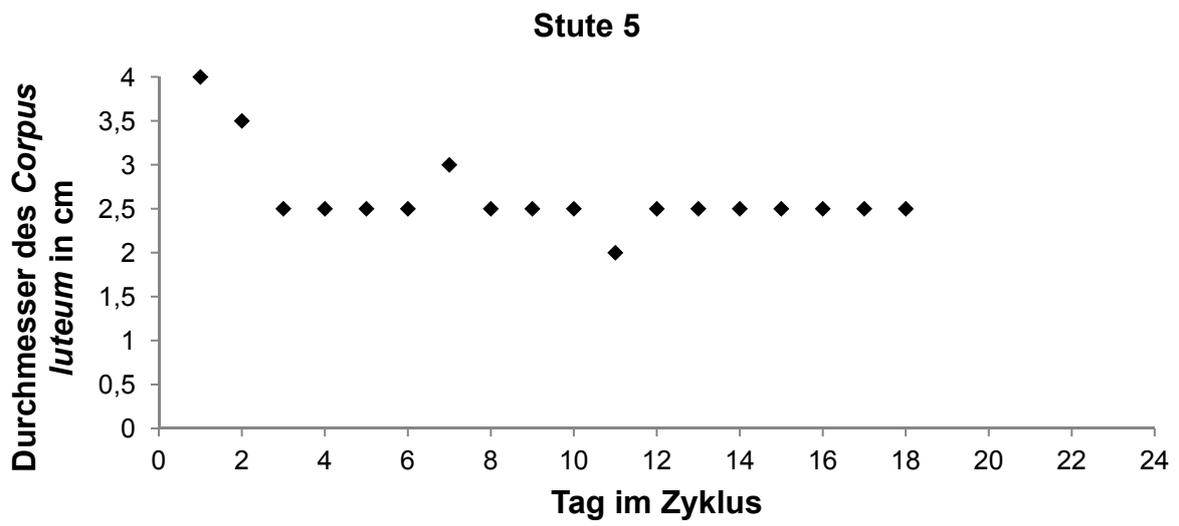
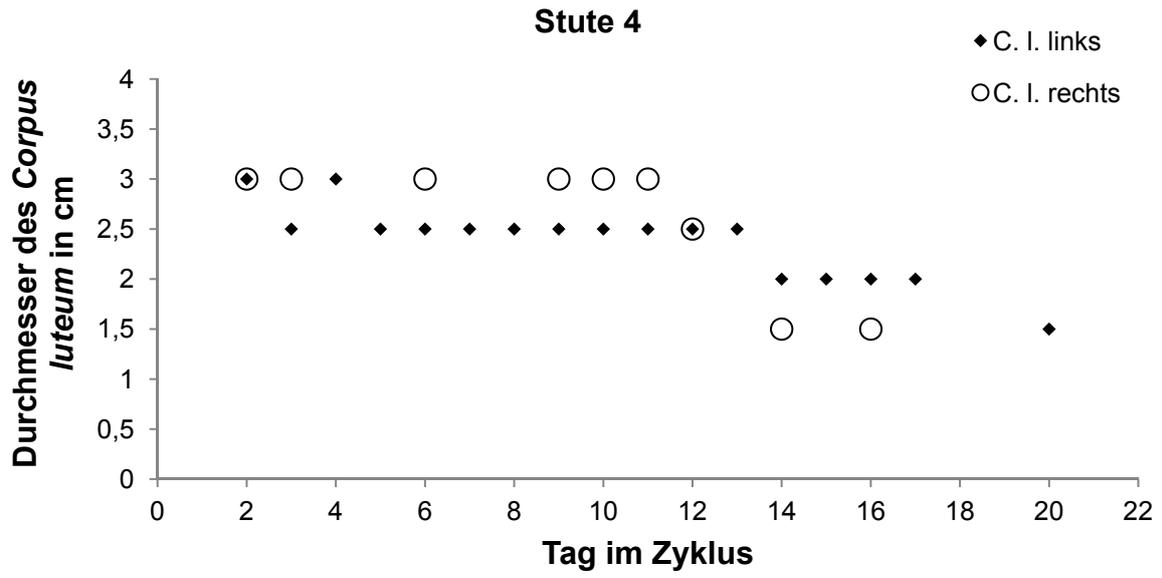
#### **4.2.2 DIFFERENZIERTE BETRACHTUNG DER CORPORA LUTEA IM VERLAUF DES ZYKLUS**

##### **4.2.2.1 GRÖÖE, ECHOGENITÄT UND HOMOGENITÄT**

###### **4.2.2.1.1 DURCHGANG 1**

In diesem Durchgang bildete Stute 4 auf beiden Ovarien je einen Gelbkörper. Bei allen Stuten schwankte der Durchmesser der Gelbkörper zwischen 1,5 und 4 cm. Er nahm, ausgenommen bei Stute 6, bei allen Stuten im Verlauf des Zyklus ab. Dabei begann die Größenabnahme bei den Stuten 1, 2, 3 und 5 innerhalb der ersten fünf Tage. Bei Stute 4 begann die Größenabnahme des linken Gelbkörpers ebenfalls innerhalb der ersten fünf Tage, die des rechten Gelbkörpers am zwölften Tag. Bei Stute 7 verringerte sich die Größe des Gelbkörpers ab dem zwölften Tag (Abbildung 15).





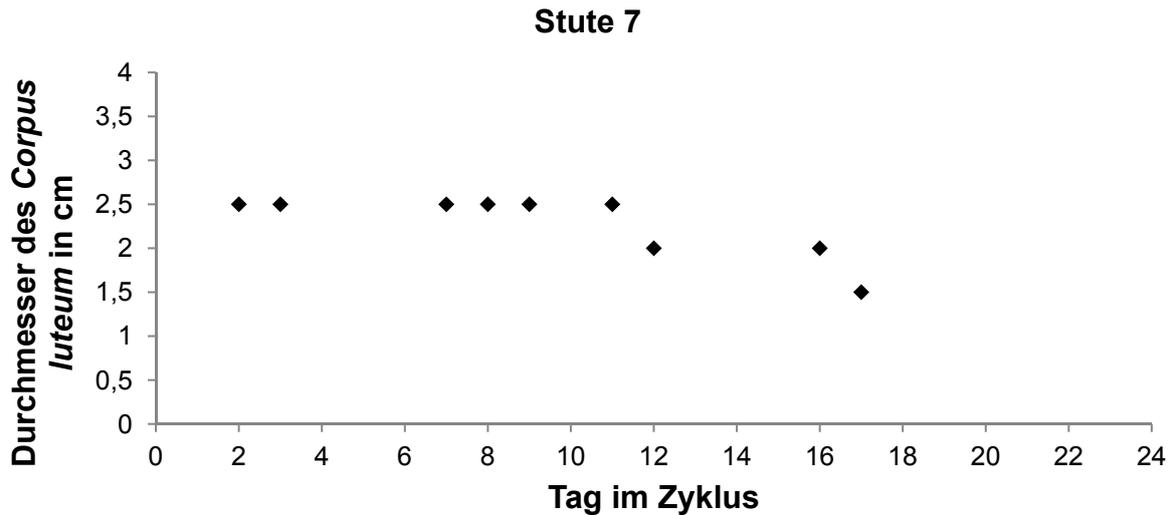


Abbildung 15: Größenentwicklung der *Corpora lutea* der Stuten im ersten Durchgang, ausgenommen Stute 6, dargestellt an den Tagen, an denen der Gelbkörper eindeutig vom umgebenden Ovargewebe abgrenzbar war. Abgebildet ist jeweils der gesamte Zyklus. Tag 0 entspricht dem Tag der Ovulation.

Bei Stute 6 entwickelte sich der Durchmesser des Gelbkörpers in den ersten sieben Tagen von 2,5 cm zu 2 cm am Tag 8. Am Tag 9 konnte ein Gelbkörper mit einem Durchmesser von 3,5 cm dargestellt werden. Im weiteren Verlauf des Zyklus verringerte sich der Durchmesser auf 3 cm und in den letzten Tagen auf 2,5 bzw. 2 cm (Abbildung 16).

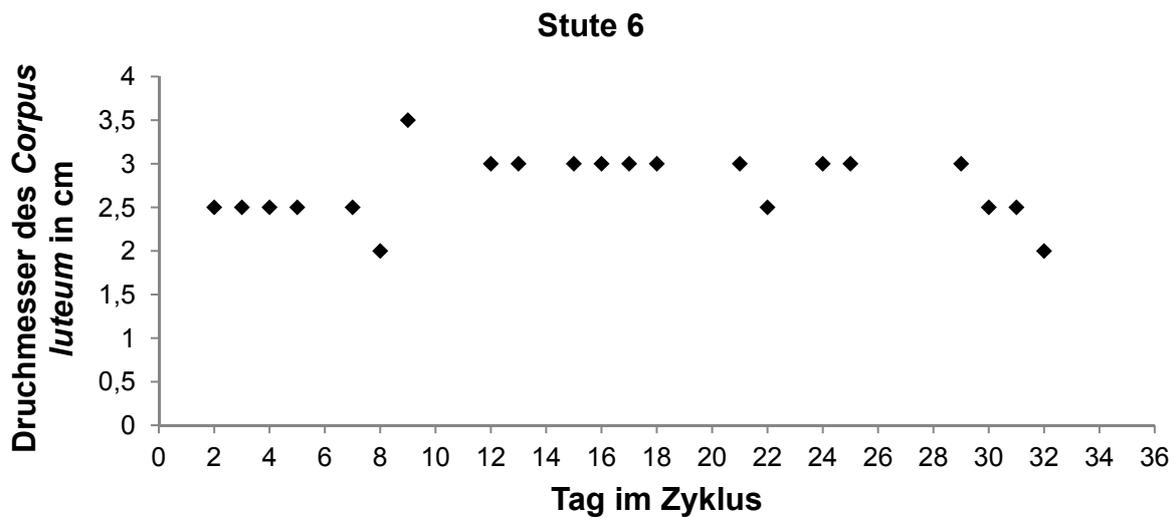


Abbildung 16: Größenentwicklung des *Corpus luteum* von Stute 6 im ersten Durchgang, dargestellt an den Tagen, an denen der Gelbkörper eindeutig vom umgebenden Ovargewebe abgrenzbar war.

Im Verlauf der Zyklen erschienen die Gelbkörper überwiegend mittelechogen. Zum Ende der Gelbkörperphase und bei abnehmender Größe verringerte sich die Echogenität von mittelechogen zu echoarm (Tabelle 7).

Tabelle 7: Echogenität der Gelbkörper in Versuchsdurchgang 1 (2 = echoarm (orange unterlegt), 3 = mittelechogen (gelb unterlegt), aufgeführt an den Tagen, an denen der Gelbkörper darstellbar war.

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4 links	Stute 4 rechts	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	3	3	3	3	2	3	3	2
2	3	3	3	3	3	3	3	2
3	3	3	3	3	3	3	3	3
4	3	3	3	3	3	3	3	3
5	3	3	3	3	3	3	3	
6	3	3	3	3	3	3	3	3
7	3	3	3	3	3	3	3	3

8	3	3	3	3	3	3	2	3
9	3	3	3	3	3	3	3	3
10	3	3	2	3	3	3	3	3
11	3	2	2	3	3	3	3	3
12	3	2	3	3	2	3	3	3
13	3	2	2	3	2	3	3	3
14	3	2	2	3	2	3	3	2
15	3	2	2	2	2	3	3	2
16	3	2	2	2	2	3	3	2
17	2	2	2	2		2	3	2
18	2		2	2		2	3	
19	2		2	2			3	
20	2		2	2			3	
21				2			3	
22				2			3	
23							3	
24							3	
25							3	
26							3	
27							3	
28							3	
29							3	
30							3	
31							2	
32							2	

Die Homogenität der Gelbkörper änderte sich je nach Stute unterschiedlich (Tabelle 8). Bei den Stuten 1 und 2 war der Gelbkörper während des gesamten Zyklus homogen. Bei den Stuten 3 und 4 zeigte er sich zu Beginn homogen, in den letzten 7 (Stute 3) bzw. 9 Tagen (Stute 4) nahmen Größe und Homogenität zugleich ab. Bei Stute 5 erschien er in den ersten zwei Tagen inhomogen, im weiteren Verlauf

homogen. Der Gelbkörper von Stute 6 zeigte sich in den ersten Tagen homogen, dann bis zur Mitte des Zyklus inhomogen. In der zweiten Hälfte des Zyklus erschien er homogen. Der Gelbkörper von Stute 7 war in der ersten Hälfte des Zyklus überwiegend inhomogen und in der zweiten Hälfte homogen.

Tabelle 8: Homogenität der Gelbkörper in Durchgang 1, (1 = homogen (lila unterlegt), 2 = inhomogen (türkis unterlegt)) aufgeführt an den Tagen, an denen der Gelbkörper darstellbar war

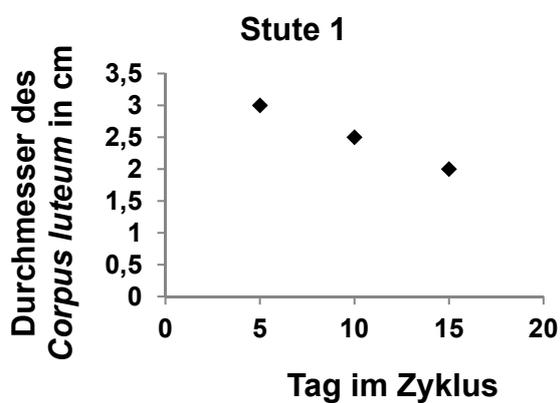
Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4 links	Stute 4 rechts	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	1	1	1	2	2	2	2	1
2	1	1	1	2	2	2	1	1
3	1	1	1	1	2	1	1	2
4	1	1	1	1	1	1	2	2
5	1	1	1	1	2	1	2	
6	1	1	1	1	2	1	2	2
7	1	1	1	1	2	1	2	2
8	1	1	1	1	2	1	2	1
9	1	1	1	1	1	1	2	2
10	1	1	1	1	2	1	2	2
11	1	1	1	1	2	1	2	1
12	1	1	1	1	2	1	2	1
13	1	1	1	1	2	1	2	1
14	1	1	2	2	2	1	2	1
15	1	1	2	1	2	1	1	1
16	1	1	2	2	2	1	1	1
17	1	1	2	2		1	1	1
18	1		2	1		1	1	
19	1		2	2			1	
20	1		2	2			2	
21				2			2	
22				2			1	

23							1	
24							1	
25							1	
26							1	
27							1	
28							1	
29							1	
30							1	
31							1	
32							1	

#### 4.2.2.1.2 DURCHGANG 2

Bei den Stuten 1 bis 6 konnte der Gelbkörper an den Tagen 1, 5, 10 und 15 dargestellt werden, einzig bei Stute 7 auch an Tag 20. Bei Stute 3 hatte an Tag 20 bereits ein neuer Zyklus begonnen.

Der Durchmesser der Gelbkörper der Stuten 1, 2, 3, 6 und 7 verringerte sich im Verlauf der Zyklen (Abbildung 17). Bei Stute 4 und Stute 5 änderte sich die Größe nicht. Der Gelbkörper von Stute 2 war an keinem der Untersuchungstage eindeutig abgrenzbar.



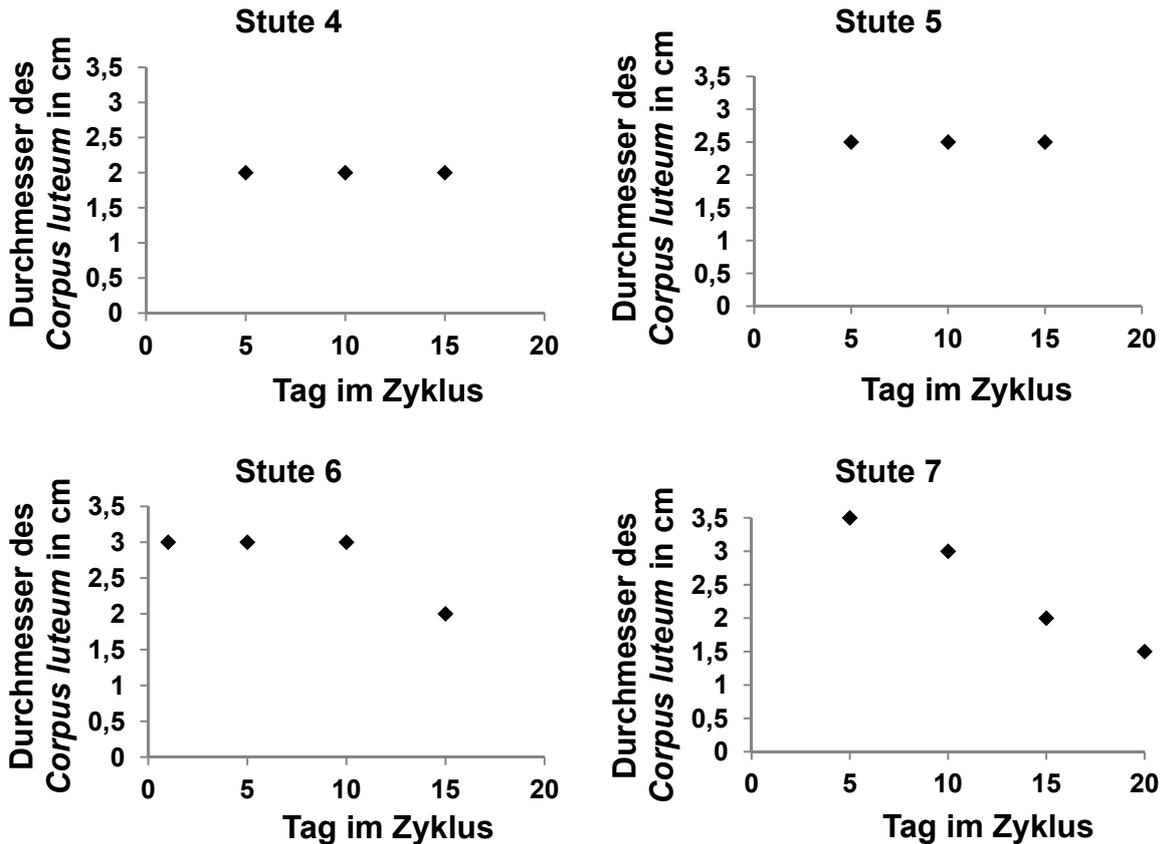


Abbildung 17: Größenentwicklung der Gelbkörper aller Stuten im zweiten Versuchsdurchgang, ausgenommen Stute 2, dargestellt an den Tagen, an denen der Gelbkörper eindeutig vom umgebenden Ovargewebe abgrenzbar war.

Die Echogenität der Gelbkörper war im Verlauf der Zyklen mittelechogen, einzig bei Stute 2 und Stute 4 an Tag 1 echoarm. An Tag 15 war sie bei den Stuten 1, 3, 5 und 7 echoarm. Am Tag 20 konnte bei den Stuten 1 bis 6 kein Gelbkörper mehr nachgewiesen werden. Der Gelbkörper von Stute 7 zeigte sich echoarm (Tabelle 9).

Tabelle 9: Echogenität der Gelbkörper in Durchgang 2 (2 = echoarm (orange unterlegt), 3 = mittelechogen (gelb unterlegt), aufgeführt an den Tagen, an denen der Gelbkörper darstellbar war.

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	3	2	3	2	3	3	3
5	3	3	3	3	3	3	3
10	3	3	2	3	3	3	3
15	2	3	2	3	2	3	2
20							2

Die Homogenität der Gelbkörper veränderte sich je nach Stute unterschiedlich (Tabelle 10). Bei den Stuten 1 und 2 zeigte er sich am Tag 1 inhomogen und im weiteren Verlauf homogen. Bei Stute 3 erschien er am Tag 1 homogen, im weiteren Verlauf dann inhomogen. Die Gelbkörper der Stuten 4 und 5 waren im gesamten Zyklus homogen, die der Stuten 6 und 7 inhomogen.

Tabelle 10: Homogenität der Gelbkörper in Durchgang 2, (1 = homogen (lila unterlegt), 2 = inhomogen (türkis unterlegt) aufgeführt an den Tagen, an denen der Gelbkörper darstellbar war

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	2	2	1	1	1	2	2
5	1	1	2	1	1	2	2
10	1	1	2	1	1	2	2
15	1	1	2	1	1	2	2
20							2

## 4.2.3 GRAUWERTANALYSE ÜBER DEN ZYKLUSVERLAUF

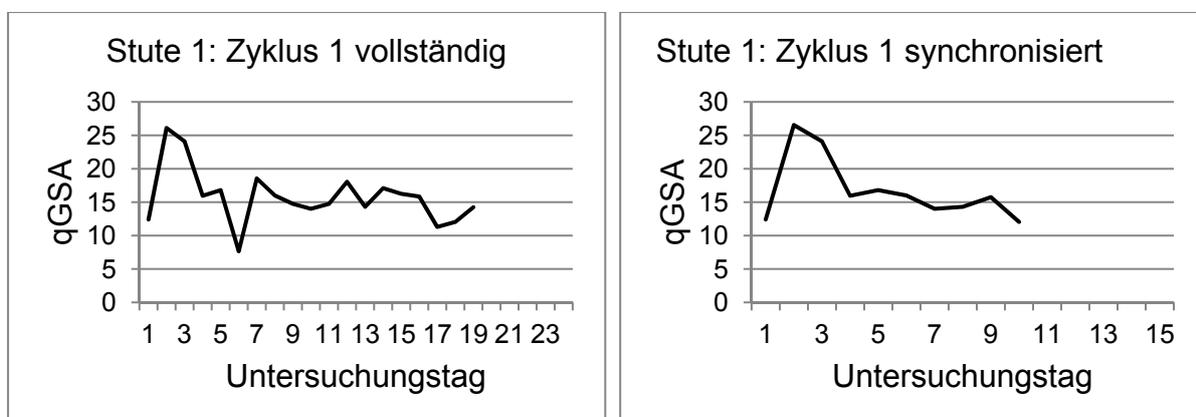
### 4.2.3.1 DURCHGANG 1

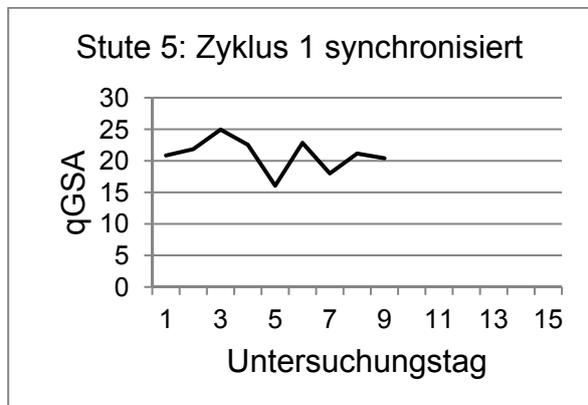
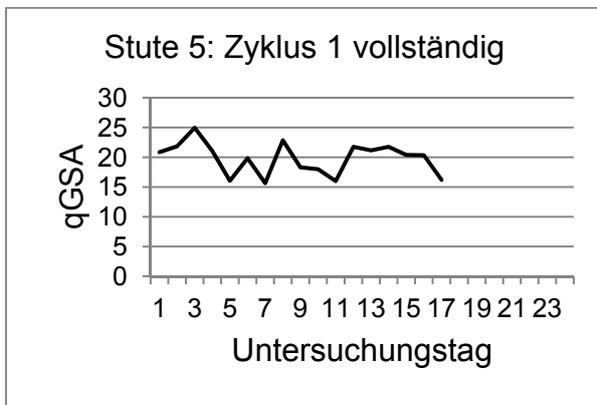
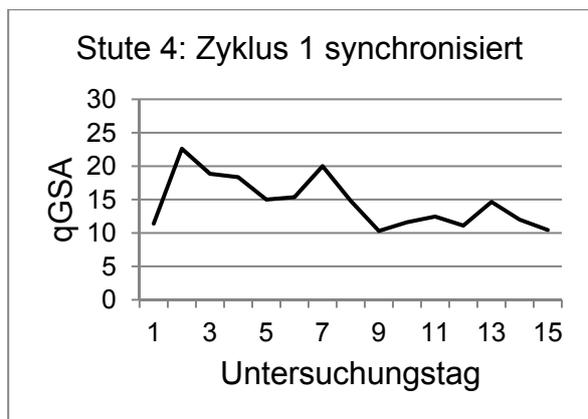
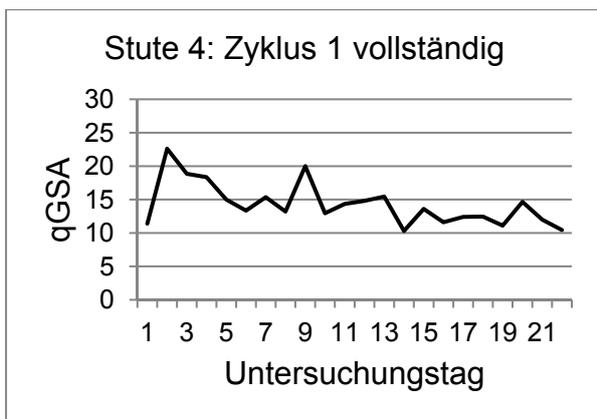
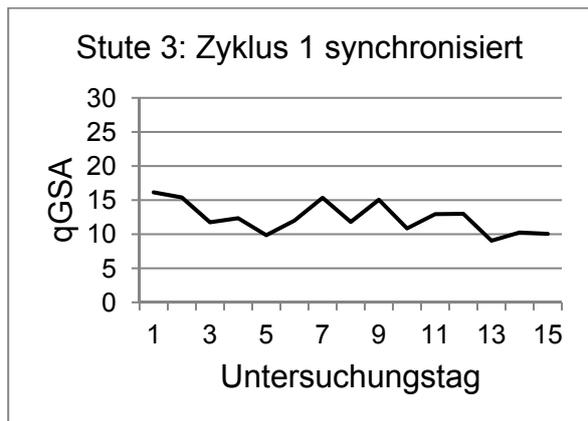
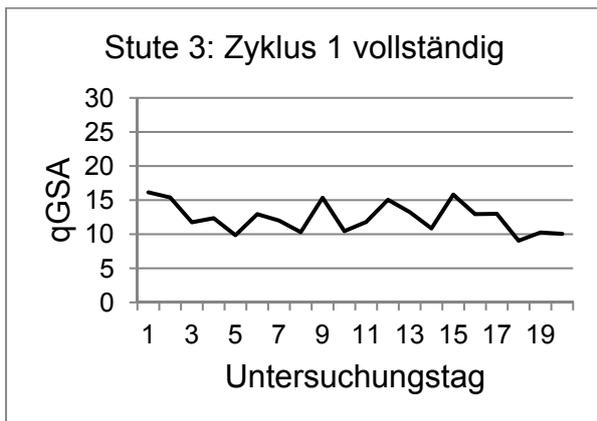
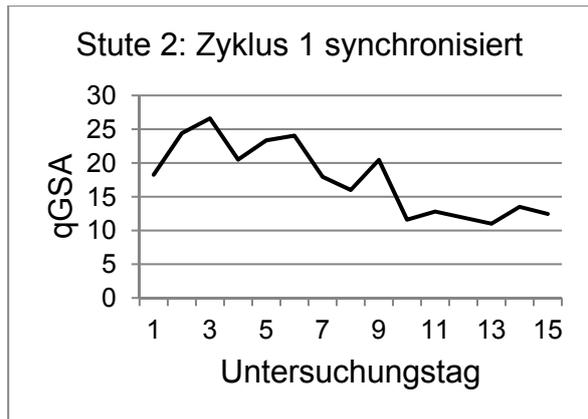
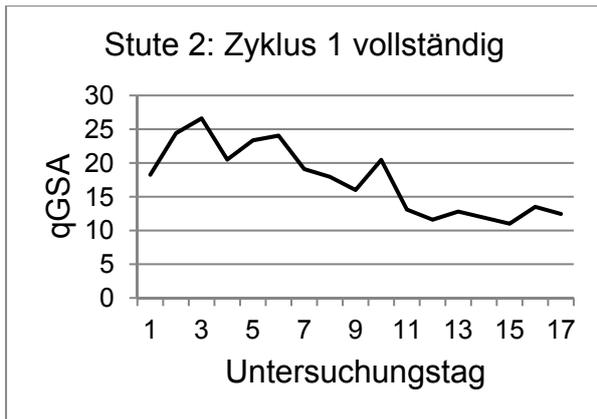
In Abbildung 18 sind für jede Stute die Werte der Graustufenanalyse über der Zeitachse in Zyklustagen eingetragen und durch lineare Interpolation zu stetigen Funktionsgraphen ergänzt. Tabelle 11 enthält die zugehörigen numerischen Analysewerte.

Mit Ausnahme von Stute 3 kommt es bei allen Tieren zu einer Steigerung des quantitativen Grauwertes vom ersten zum zweiten Tag. Bei den Stuten 1, 3, 4 und 6 fällt der Grauwert bereits am dritten Tag ab. Bei den Stuten 2, 5 und 7 steigt der Grauwert bis zum dritten Tag und fällt dann am vierten Tag ab, das heißt es kommt zu Beginn des Zyklus zu einer Steigerung des Grauwertes, der dann im Verlauf des Zyklus abfällt (Tabelle 11, Abbildung 18). Mit Ausnahme von Stute 1 fällt der Grauwert bei allen Stuten in den letzten ein bis zwei Tagen ab, an denen der Gelbkörper noch darstellbar war.

Es fällt auf, dass bei qualitativ annähernd gleichem Verlauf die Werte von Tier zu Tier in der Höhe (Maximal- und Minimalwert) und in der Schwankungsbreite unterschiedlich sind.

Zusammengefasst lässt sich auf diese Weise mit Ausnahme des Zyklus von Stute 3 stets derselbe idealisierte Funktionsverlauf erkennen. Die Veränderungen des Grauwertes über die Zeit waren statistisch signifikant ( $p = 0,0066$ ) (Abbildung 19).





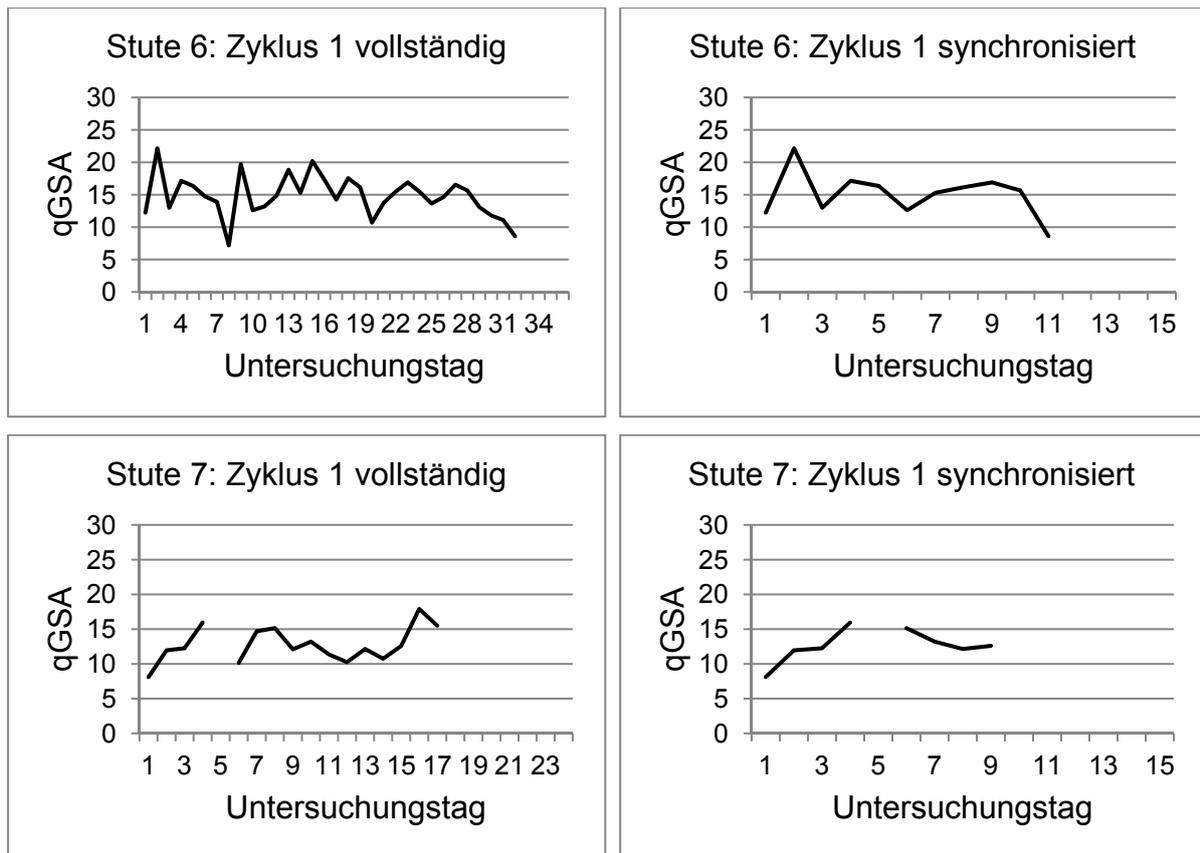


Abbildung 18: Darstellung der quantitativen Graustufenanalyse (qGSA) im Verlauf des Zyklus aus Versuchsdurchgang 1 der einzelnen Stuten. In der linken Grafik ist der vollständige Zyklus, in der rechten Grafik der synchronisierte Zyklus dargestellt.

Tabelle 11: Quantitative Graustufenanalyse der Gelbkörper aller Stuten im Durchgang 1

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	12,40	18,25	16,15	11,40	20,85	12,25	8,10
2	26,10	24,40	15,40	22,60	21,85	22,15	11,95
3	24,10	26,60	11,75	18,85	24,95	13	12,25
4	15,95	20,50	12,35	18,35	21,05	17,15	15,95
5	16,80	23,35	9,85	15	16,05	16,35	
6	7,65	24,05	12,95	13,35	19,85	14,75	10,15
7	18,55	19,10	12	15,35	15,65	13,90	14,70
8	16	17,95	10,30	13,20	22,85	7,20	15,15

<b>9</b>	14,75	16	15,35	20	18,30	19,70	12,10
<b>10</b>	14	20,45	10,45	12,95	18	12,60	13,20
<b>11</b>	14,75	13,10	11,80	14,35	16	13,20	11,35
<b>12</b>	18,05	11,60	15,05	14,80	21,75	14,85	10,25
<b>13</b>	14,30	12,80	13,25	15,45	21,15	18,85	12,15
<b>14</b>	17,10	11,90	10,85	10,30	21,75	15,30	10,75
<b>15</b>	16,25	11	15,80	13,60	20,40	20,20	12,60
<b>16</b>	15,85	13,5	12,95	11,60	20,35	17,35	17,90
<b>17</b>	11,30	12,45	13	12,40	16,20	14,25	15,50
<b>18</b>	12,05		9,05	12,45		17,55	
<b>19</b>	14,25		10,25	11,10		16,15	
<b>20</b>			10,05	14,65		10,70	
<b>21</b>				12		13,80	
<b>22</b>				10,45		15,50	
<b>23</b>						16,90	
<b>24</b>						15,45	
<b>25</b>						13,65	
<b>26</b>						14,65	
<b>27</b>						16,55	
<b>28</b>						15,65	
<b>29</b>						13,10	
<b>30</b>						11,80	
<b>31</b>						11,10	
<b>32</b>						8,60	

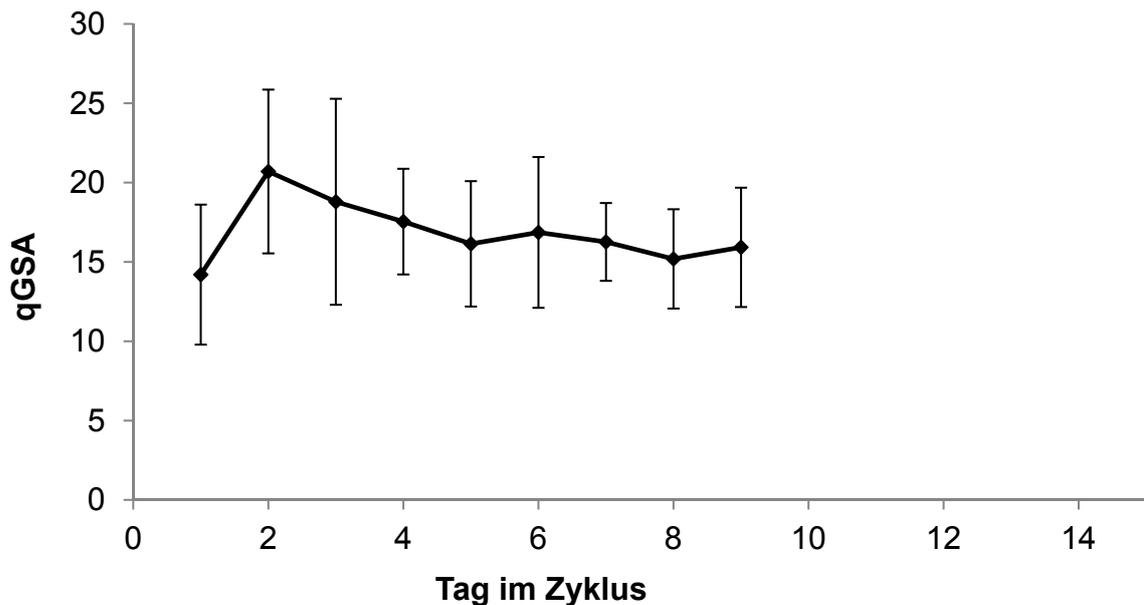


Abbildung 19: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Grauwerte (qGSA) aller Stuten im synchronisierten Versuchsdurchgang 1. Auf der Abszisse sind alle 15 Tage des Zyklus dargestellt, an denen untersucht wurde, dargestellt. In den letzten 5 Tagen konnte kein Gelbkörper dargestellt und somit auch kein Grauwert erhoben werden.

#### 4.2.3.2 DURCHGANG 2

Abbildung 20 zeigt den Verlauf der quantitativen Graustufenanalyse im Zyklus der einzelnen Stuten im Durchgang 2, also an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20 im Zyklus. Tabelle 12 enthält die entsprechenden Messwerte.

Der Gelbkörper konnte jeweils bis zum 15. Tag dargestellt werden, bei Stute 7 auch am 20.Tag. Mit Ausnahme von Stute 3 kommt es bei allen Stuten zu einem Anstieg des Grauwertes vom 1. bis zum 5. Tag, bei Stute 1 und Stute 5 kommt es zu einem Abfall des Grauwertes vom 10. bis zum 15.Tag.

Die Grauwerte schwanken zwischen 8,45 und 16,6, ausgenommen Stute 5 zeigt am 5. Tag einen deutlich höheren Grauwert von 25,1.

Die Veränderungen des Grauwertes über die Zeit waren nicht statistisch signifikant ( $p = 0,2945$ ) (Abbildung 21).

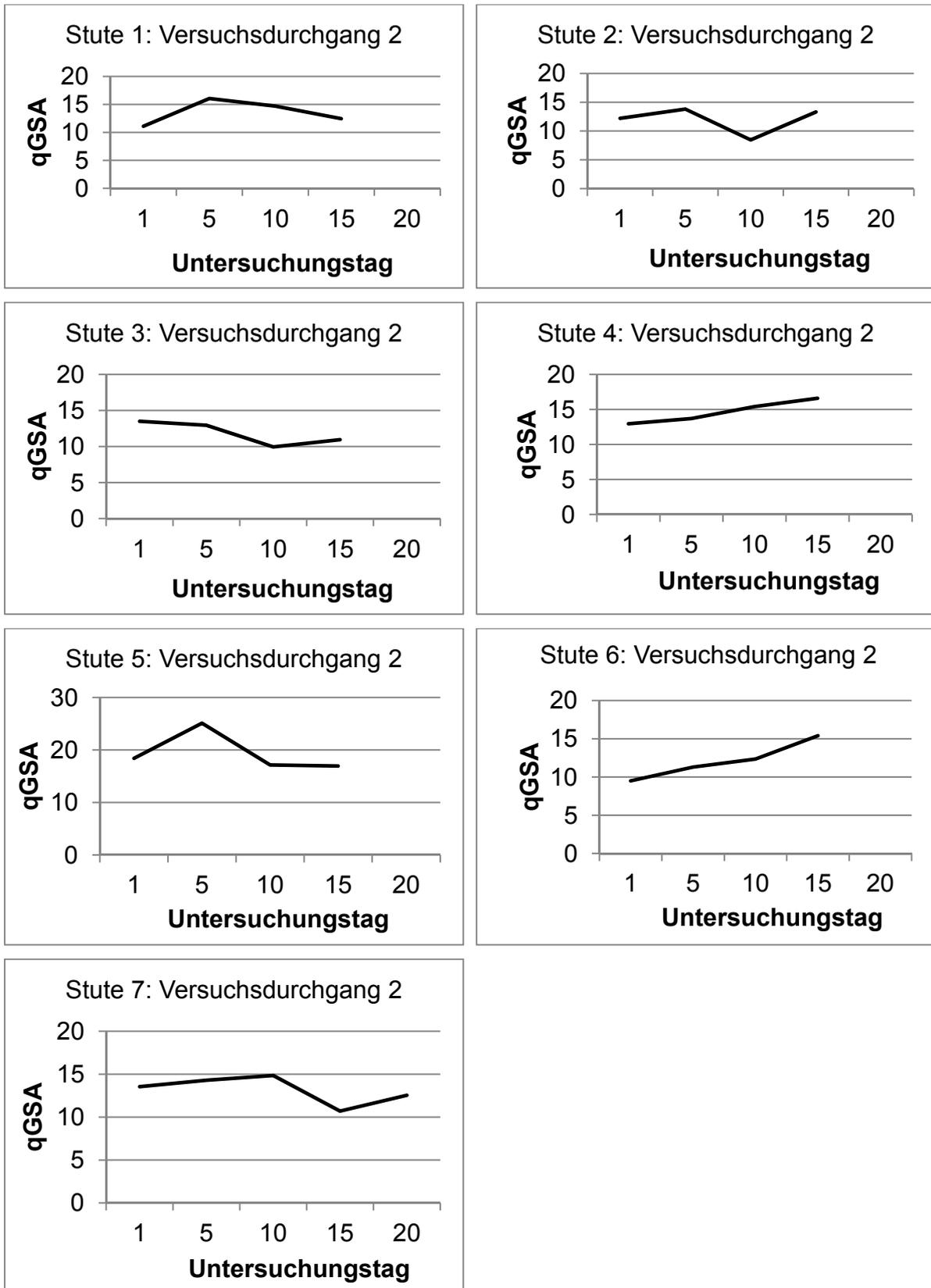


Abbildung 20: Darstellung der quantitativen Graustufenanalyse (qGSA) des Gelbkörpers der einzelnen Stuten im Durchgang 2.

Tabelle 12: Quantitative Graustufenanalyse der Gelbkörper aller Stuten im Durchgang 2

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	11,10	12,20	13,50	12,95	18,40	9,50	13,55
5	16,05	13,80	12,95	13,70	25,10	11,30	14,30
10	14,70	8,45	9,95	15,40	17,15	12,35	14,85
15	12,45	13,30	10,95	16,60	16,95	15,40	10,70
20							12,55

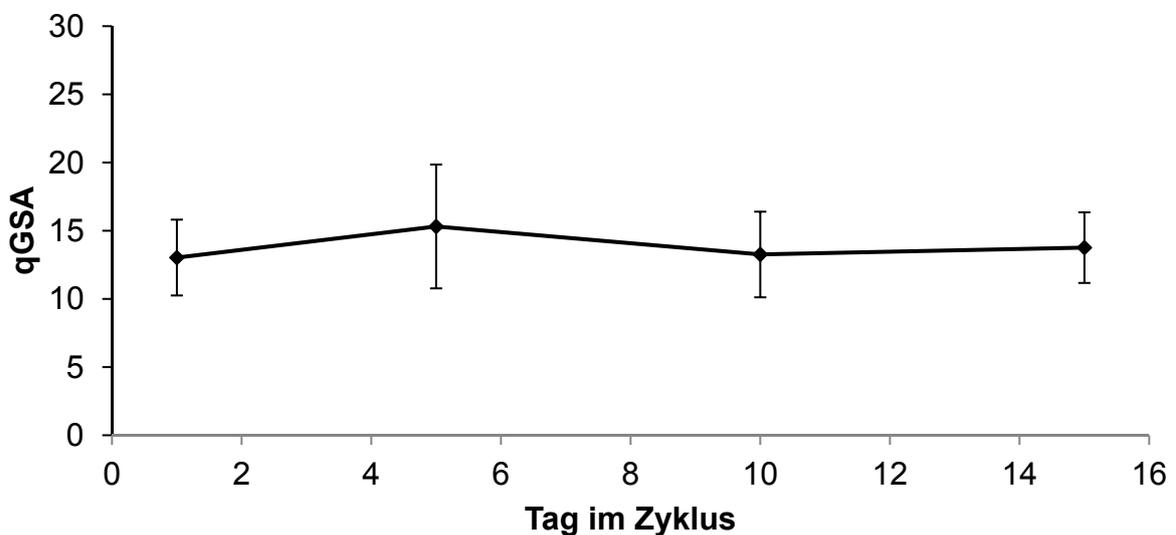


Abbildung 21: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Grauwerte (qGSA) aller Stuten im Versuchsdurchgang 2

#### 4.3 MUTTERMUND

Zur besseren Vergleichbarkeit wird Durchgang 1 in der synchronisierten Version beschrieben.

In diesem Durchgang wird die Portio vaginalis cervicis bei allen Stuten in den Tagen vor der Rosse zunehmend weich und schlaff bis verlaufend und nach der Rosse schnell fester. Dabei unterscheiden sich die einzelnen Stuten hinsichtlich der

Ausprägung dieser Veränderungen. Am auffälligsten ist der Unterschied zwischen Stute 6 und den anderen Stuten. Einzig bei dieser Stute wird die Zervix zapfenförmig und bei nahender Rosse nicht verlaufend sondern nur schlaff. Bei den anderen Stuten zeigt sich die Zervix nie zapfenförmig, bei den Stuten 1, 3, 5 und 7 wird sie bei nahender Rosse schlaff, bei den Stuten 2 und 4 verlaufend (Tabelle 13).

Tabelle 13: Formation der Zervix im Verlauf des synchronisierten Durchgangs 1 (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

<b>Tag im Zyklus</b>	<b>Stute 1</b>	<b>Stute 2</b>	<b>Stute 3</b>	<b>Stute 4</b>	<b>Stute 5</b>	<b>Stute 6</b>	<b>Stute 7</b>
<b>1</b>	2	3	2	2	1	4	2
<b>3</b>	3	2	3	3	2	4	3
<b>5</b>	3	3	3	3	2	4	3
<b>7</b>	3	3	2	3	2	3	3
<b>9</b>	2	3	3	3	1	3	3
<b>11</b>	2	2	2	3	1	2	1
<b>13</b>	2	2	1	2	1	2	1
<b>15</b>	1	2	2	2	1	2	2

Auch im zweiten Durchgang wurde einzig bei Stute 6 die Zervix zapfenförmig und bei nahender Rosse schlaff aber nicht verlaufend. Im Gegensatz dazu ist die Zervix von Stute 3 im gesamten zweiten Versuchsdurchgang ausschließlich rosettenförmig. Die Zervix von Stute 2 ist sowohl in zeitlicher Nähe zur Rosse als auch in der Mitte des Zyklus verlaufend. Bei den Stuten 1, 4, 5 und 7 ist die Zervix bei nahender Rosse schlaff oder verlaufend und in der Mitte des Zyklus rosettenförmig (Tabelle 14).

Tabelle 14: Formation der Zervix im Verlauf des Versuchsdurchgangs 2 (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	1	1	3	2	3	2	2
5	3	2	3	2	2	3	3
10	3	1	3	3	2	4	3
15	2	3	3	3	1	2	3
20	2	1		3	1	3	1

#### 4.4 HORMONELLER VERLAUF

Da die Auswertung der endokrinologischen Daten eine rechtsschiefe Verteilung ergibt, wird nachfolgend der geometrische Mittelwert und der Streufaktor angegeben.

##### 4.4.1 PROGESTERONKONZENTRATION IM BLUTPLASMA

Die Progesteronwerte im Blutplasma liegen am ersten Tag des Durchgang 1 bei den Stuten 1, 4, 5, 6 und 7 unter 1 ng/ml, bei Stute 2 bei 6,19 ng/ml und bei Stute 3 bei 1,27 ng/ml. Im Laufe der folgenden 3 bis 5 Tage zeigt sich bei allen Stuten ein Anstieg auf Werte zwischen 5 und 20 ng/ml. Es folgt eine Plateauphase mit Werten zwischen 5 und 20 ng/ml, einzig bei Stute 6 bis 25 ng/ml. Diese Phase variiert je nach Stute in der Dauer. Mit beginnender Luteolyse fallen die Werte bei gleichzeitiger Größenabnahme und Verringerung der Echogenität des Gelbkörpers ab und bleiben in den letzten Tagen der Zyklen bei unter 1 ng/ml, leicht erhöht bei Stute 4 bis 2 ng/ml (Abbildung 22, Tabelle 15).

Der geometrische Mittelwert der Progesteronkonzentrationen aller sieben Stuten ändert sich im synchronisierten Zyklus im Verlauf des Zyklus statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ) (Abbildung 24).

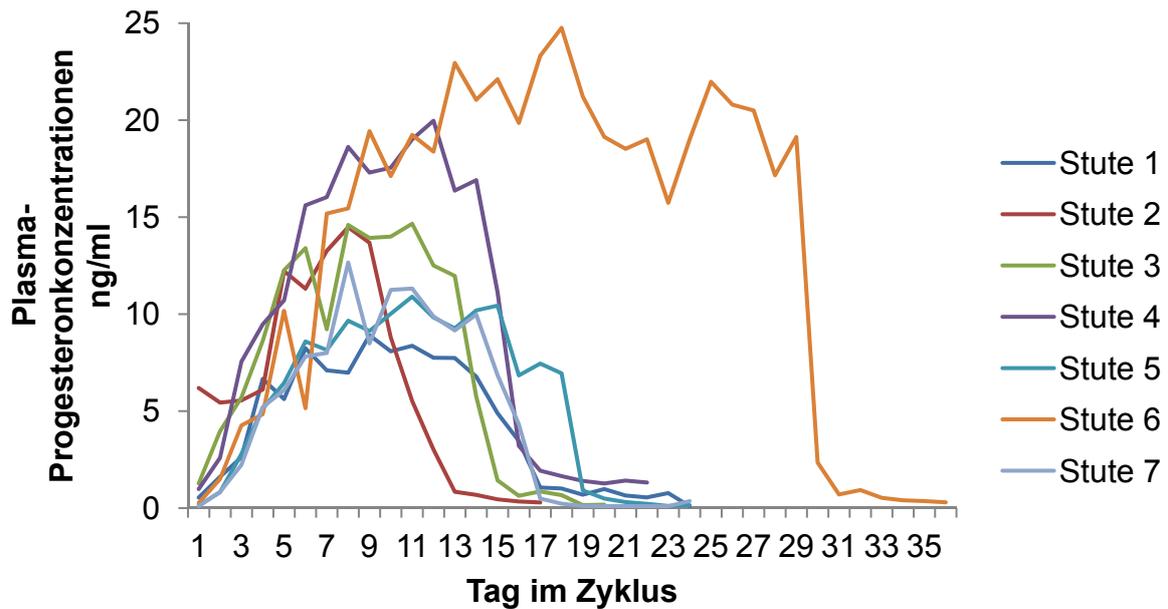


Abbildung 22: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der 7 Stuten im Verlauf des Durchgang 1

Tabelle 15: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der 7 Stuten im Verlauf des Durchgang 1

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	0,54	6,19	1,27	0,98	0,13	0,27	0,10
2	1,61	5,44	3,96	2,59	0,82	1,50	0,83
3	2,62	5,55	5,70	7,55	2,79	4,26	2,23
4	6,66	6,11	8,62	9,47	5,12	4,84	5,21
5	5,62	12,22	12,26	10,71	6,45	10,17	6,08
6	8,24	11,31	13,40	15,61	8,59	5,15	7,82
7	7,10	13,26	9,22	16,03	8,15	15,19	8
8	6,98	14,48	14,60	18,62	9,66	15,45	12,66
9	8,91	13,68	13,93	17,30	9,13	19,43	8,49
10	8,08	8,80	14	17,55	10,02	17,12	11,25
11	8,37	5,52	14,66	19,01	10,90	19,24	11,32
12	7,75	3,02	12,51	19,97	9,83	18,38	9,88
13	7,74	0,84	11,97	16,37	9,27	22,95	9,16

<b>14</b>	6,78	0,68	5,75	16,91	10,19	21,05	9,98
<b>15</b>	4,89	0,45	1,43	11,14	10,44	22,11	6,86
<b>16</b>	3,46	0,34	0,63	3,21	6,84	19,86	4,32
<b>17</b>	1,06	0,29	0,86	1,93	7,45	23,32	0,49
<b>18</b>	1,01		0,67	1,65	6,95	24,76	0,23
<b>19</b>	0,69		0,15	1,40	0,91	21,21	0,11
<b>20</b>	0,98		0,18	1,27	0,49	19,14	0,10
<b>21</b>	0,65			1,42	0,31	18,52	0,10
<b>22</b>	0,55			1,32	0,22	19,01	0,10
<b>23</b>	0,77				0,11	15,74	0,10
<b>24</b>	0,10				0,15	19	0,36
<b>25</b>						21,98	
<b>26</b>						20,80	
<b>27</b>						20,50	
<b>28</b>						17,16	
<b>29</b>						19,13	
<b>30</b>						2,35	
<b>31</b>						0,70	
<b>32</b>						0,93	
<b>33</b>						0,53	
<b>34</b>						0,40	
<b>35</b>						0,36	
<b>36</b>						0,30	

Zur besseren Vergleichbarkeit zeigen die folgende Abbildung und Tabelle (Abbildung 23, Tabelle 16) den Durchgang 1 in synchronisierter Form.

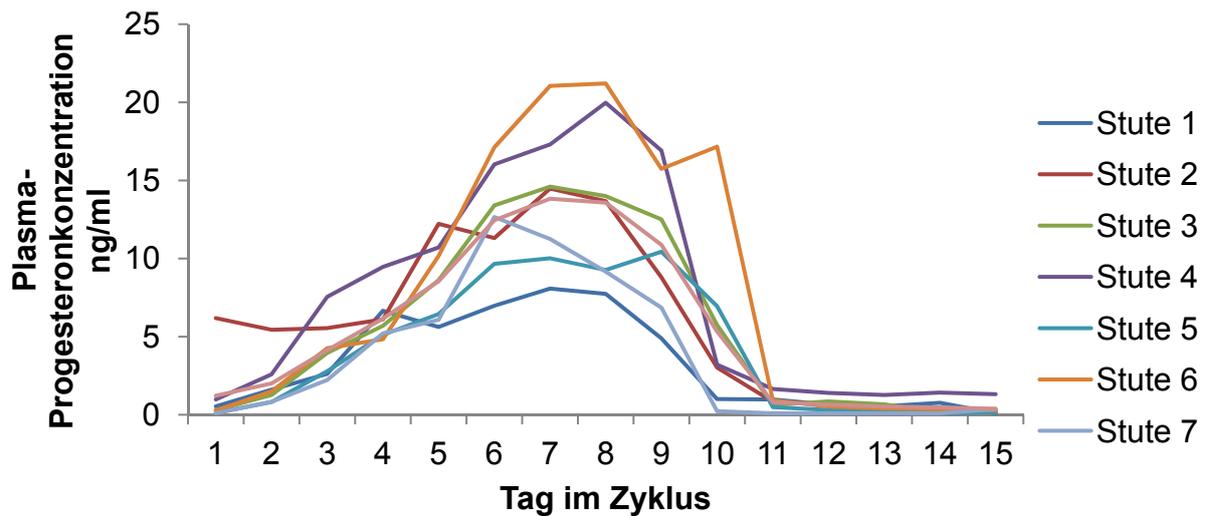


Abbildung 23: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der 7 Stuten im Verlauf des synchronisierten Durchgangs 1

Tabelle 16: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der 7 Stuten im Verlauf des synchronisierten Durchgangs 1

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	0,54	6,19	0,31	0,98	0,13	0,27	0,1
2	1,61	5,44	1,27	2,59	0,82	1,5	0,83
3	2,62	5,55	3,96	7,55	2,79	4,26	2,23
4	6,66	6,11	5,7	9,47	5,12	4,84	5,21
5	5,62	12,22	8,62	10,71	6,45	10,17	6,08
6	6,98	11,31	13,4	16,03	9,66	17,12	12,66
7	8,08	14,48	14,6	17,3	10,02	21,05	11,25
8	7,74	13,68	14	19,97	9,27	21,21	9,16
9	4,89	8,8	12,51	16,91	10,44	15,74	6,86
10	1,01	3,02	5,75	3,21	6,95	17,16	0,23
11	0,98	0,84	0,63	1,65	0,49	0,93	0,1
12	0,65	0,68	0,86	1,4	0,31	0,53	0,1
13	0,55	0,45	0,67	1,27	0,22	0,4	0,1
14	0,77	0,34	0,15	1,42	0,11	0,36	0,1
15	0,1	0,29	0,18	1,32	0,15	0,3	0,36

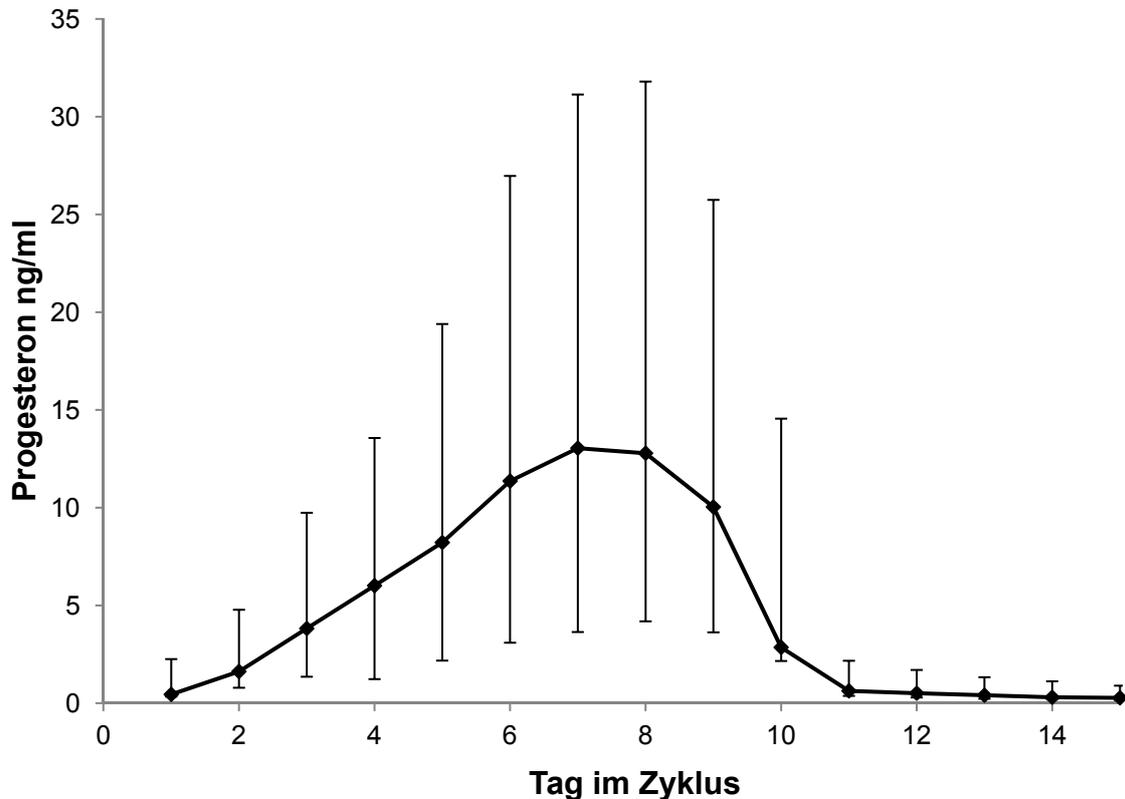


Abbildung 24: Geometrische Mittelwerte und Streufaktoren der Plasma- Progesteronkonzentrationen (ng/ml) der 7 Stuten im synchronisierten Durchgang 1

Zu Beginn des Durchgangs 2 ist die Plasma-Progesteronkonzentration der Stuten unter 1 ng/ml, leicht erhöht bei Stute 4 bei 1,67 ng/ml. Es folgt an den Tagen 5, 10 und 15 jeweils ein Plateau mit Konzentrationen zwischen 4 und 15 ng/ml. Am Tag 20 ist die Plasma-Progesteronkonzentration bei den Stuten 1, 2, 3, 5 und 7 wieder unter 1 ng/ml, bei Stute 4 bei 2,18 ng/ml und bei Stute 6 bei 9,9 ng/ml (Abbildung 25, Tabelle 17).

Der geometrische Mittelwert der Progesteronkonzentration aller 7 Stuten ändert sich im Verlauf des Durchgang 2 statistisch hoch signifikant ( $p < 0,0001$ ) (Abbildung 26).

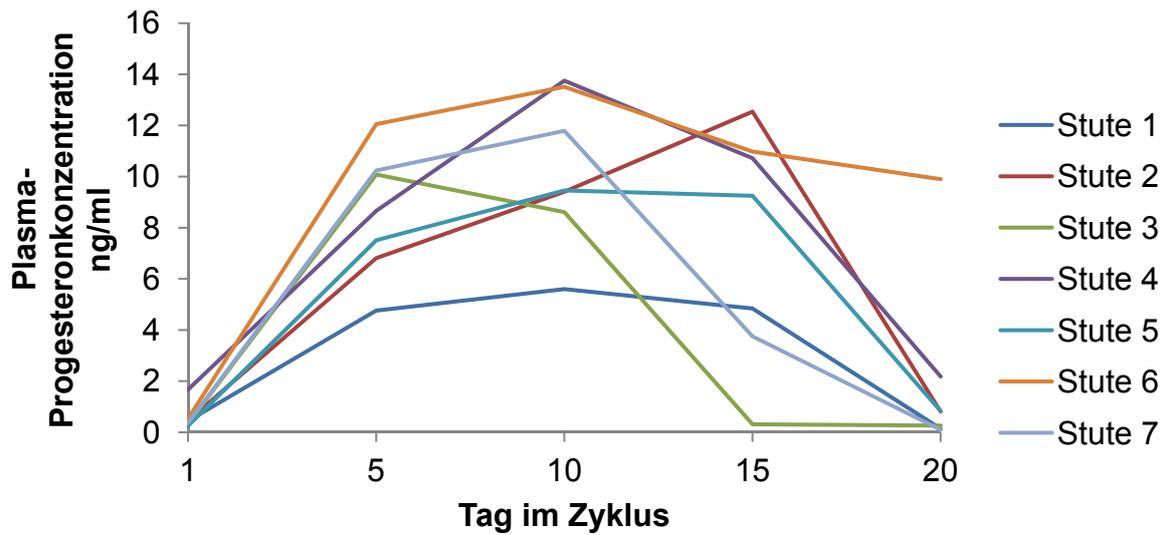


Abbildung 25: Plasma-Progesteronkonzentration (ng/ml) aller 7 Stuten an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20 des Durchgangs 2

Tabelle 17: Plasma-Progesteronkonzentration (ng/ml) aller 7 Stuten an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20 des Durchgangs 2

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	0,44	0,45	0,34	1,67	0,25	0,53	0,36
5	4,76	6,81	10,08	8,66	7,51	12,05	10,24
10	5,6	9,41	8,61	13,75	9,46	13,51	11,79
15	4,84	12,54	0,31	10,72	9,25	10,98	3,75
20	0,14	0,81	0,26	2,18	0,83	9,9	0,1

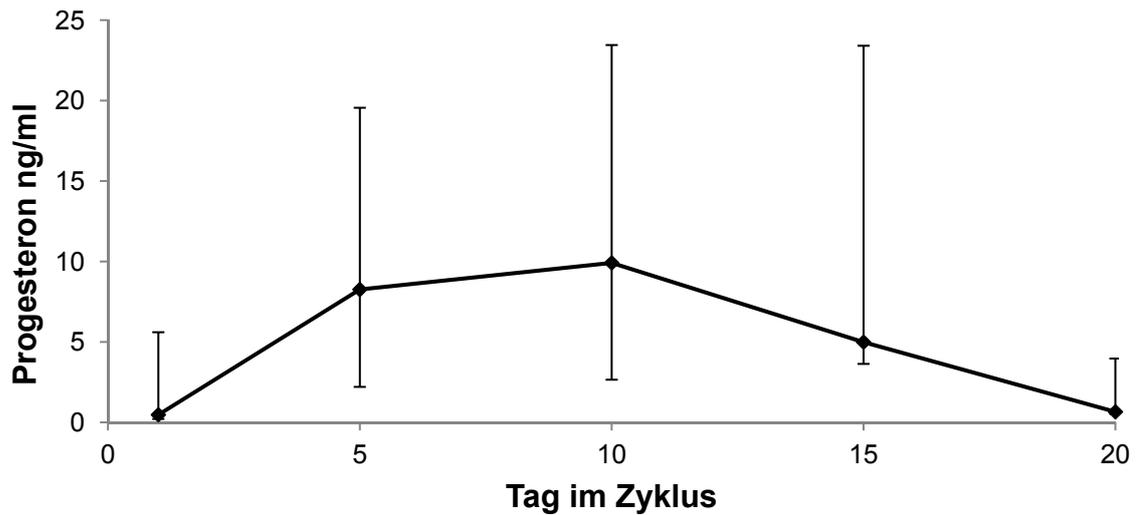


Abbildung 26: Geometrische Mittelwerte und Streufaktoren der Plasma- Progesteronkonzentration (ng/ml) aller 7 Stuten im Durchgang 2

#### 4.4.2 ÖSTRADIOL-17B IM BLUTPLASMA

Die Zu- und Abnahme von Östradiol-17 $\beta$  schwankt im Verlauf des Durchgang 1 zwischen 2,5 pg/ml und 10 pg/ml. Einzig bei Stute 3 liegt der niedrigste Wert bei 1,6 pg/ml am Tag 3 und bei Stute 7 der höchste Wert bei 12,8 pg/ml am Tag 5. In den letzten ein bis zwei Tagen vor der Ovulation steigt die Konzentration bei den Stuten auf über 15 pg/ml, ausgenommen Stute 2 bis 11,2 pg/ml (Abbildung 27, Tabelle 18).

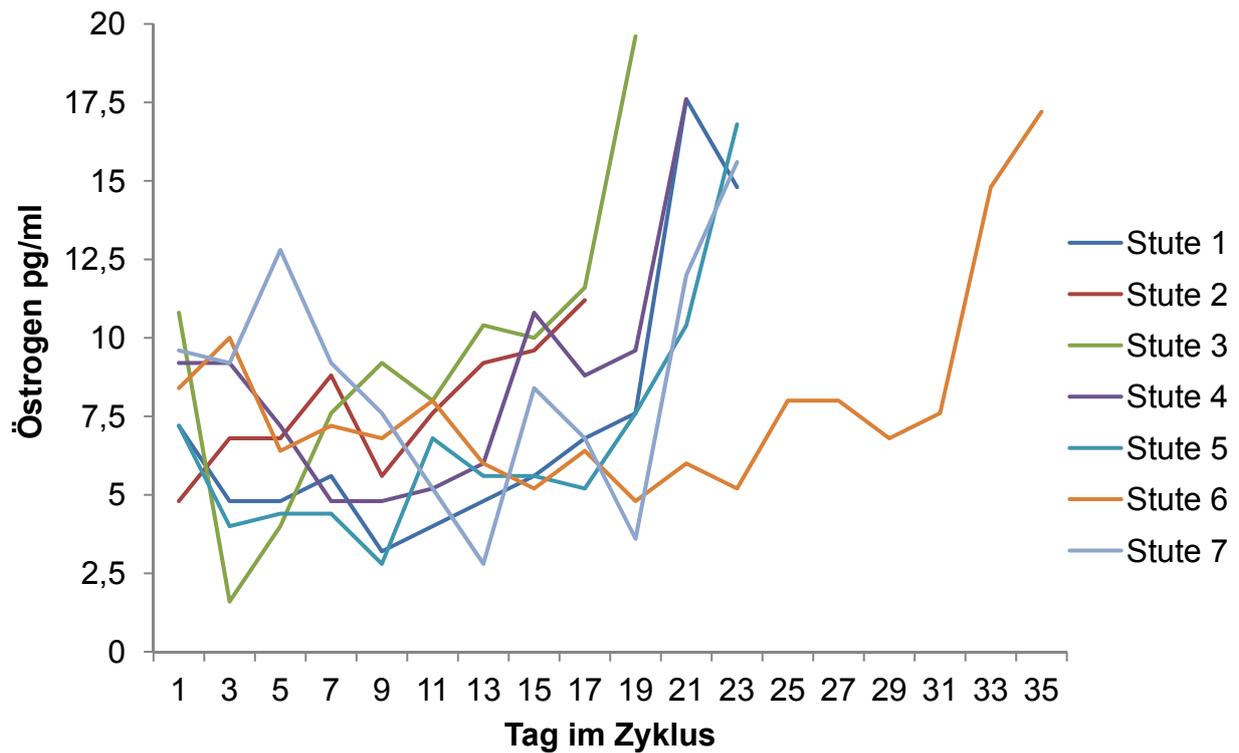


Abbildung 27: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) der 7 Stuten in Durchgang 1

Tabelle 18: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) der 7 Stuten in Durchgang 1

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	7,2	4,8	10,8	9,2	7,2	8,4	9,6
3	4,8	6,8	1,6	9,2	4	10	9,2
5	4,8	6,8	4	7,2	4,4	6,4	12,8
7	5,6	8,8	7,6	4,8	4,4	7,2	9,2
9	3,2	5,6	9,2	4,8	2,8	6,8	7,6
11	4	7,6	8	5,2	6,8	8	5,2
13	4,8	9,2	10,4	6	5,6	6	2,8
15	5,6	9,6	10	10,8	5,6	5,2	8,4
17	6,8	11,2	11,6	8,8	5,2	6,4	6,8
19	7,6		19,6	9,6	7,6	4,8	3,6
21	17,6			17,6	10,4	6	12
23	14,8				16,8	5,2	15,6

<b>25</b>						8	
<b>27</b>						8	
<b>29</b>						6,8	
<b>31</b>						7,6	
<b>33</b>						14,8	
<b>35</b>						17,2	

Im Durchgang 2 liegt die Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration am Tag 1 zwischen 4 pg/ml und 12 pg/ml, bei Stute 3 bei 16 pg/ml. An den Tagen 5, 10 und 15 schwanken die Werte der Stuten 1, 2, 4, 5 und 7 zwischen 4 pg/ml und 10 pg/ml. Die Konzentration von Stute 6 liegt am Tag 5 bei 12,8 pg/ml, an den Tagen 10 und 15 zwischen 4 und 10 pg/ml. Die Werte von Stute 3 sind in diesen Tagen stets über 10 ng/ml. Am Tag 20 steigen die Werte der Stuten auf 8 bis 16 pg/ml mit Ausnahme des Wertes von Stute 5: er fällt auf 3,6 pg/ml ab (Abbildung 28, Tabelle 19).

Der geometrische Mittelwert der Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration aller Stuten ändert sich im Verlauf des Durchgang 2 statistisch nicht signifikant ( $p = 0,2658$ ) (Abbildung 29).

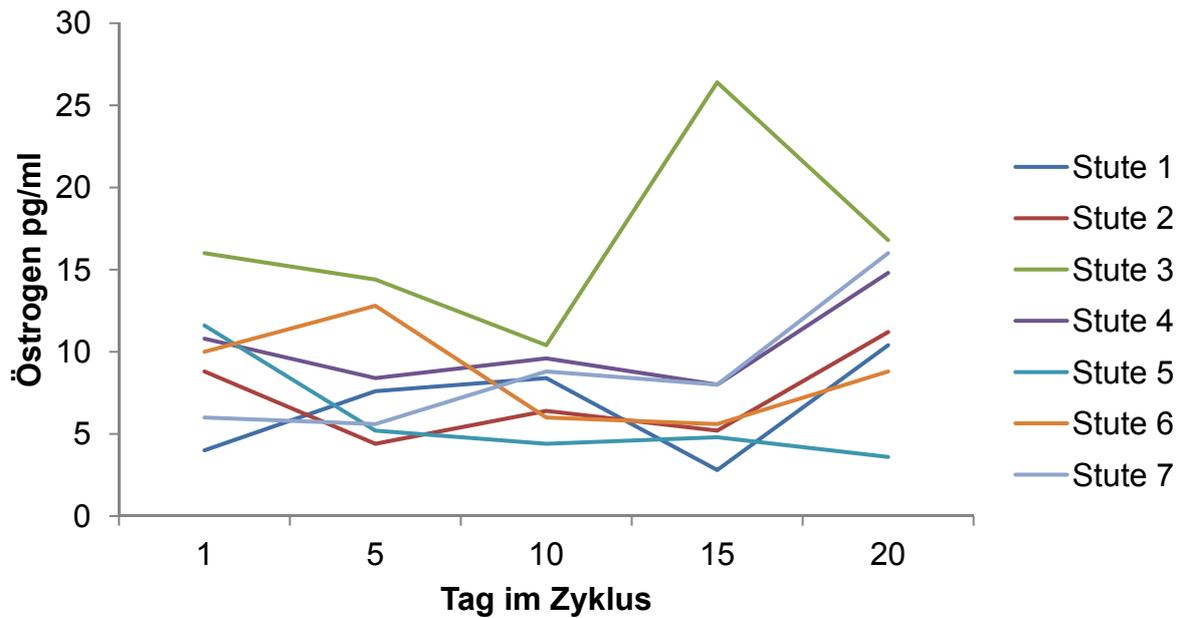


Abbildung 28: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) der 7 Stuten im Durchgang 2, gemessen an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20

Tabelle 19: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) der 7 Stuten im Durchgang 2, gemessen an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20

Tag im Zyklus	Stute 1	Stute 2	Stute 3	Stute 4	Stute 5	Stute 6	Stute 7
1	4	8,8	16	10,8	11,6	10	6
5	7,6	4,4	14,4	8,4	5,2	12,8	5,6
10	8,4	6,4	10,4	9,6	4,4	6	8,8
15	2,8	5,2	26,4	8	4,8	5,6	8
20	10,4	11,2	16,8	14,8	3,6	8,8	16

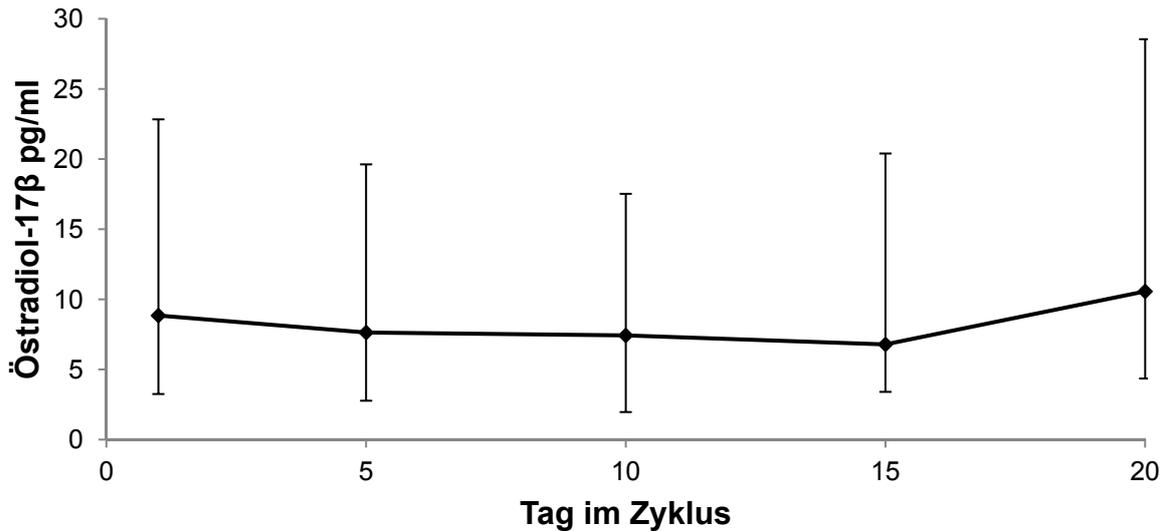


Abbildung 29: Geometrischer Mittelwert und Streufaktor der Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) der 7 Stuten im Durchgang 2

## 4.5 KORRELATIONEN

### 4.5.1 DURCHGANG 1 SYNCHRONISIERT

#### 4.5.1.1 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DEM HORMONELLEN VERLAUF

Der Kreuzkorrelationskoeffizient zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml beträgt  $r = 0,301$ . Dieser Zusammenhang ist statistisch signifikant ( $p = 0,006$ ), sodass von einem positiven Zusammenhang des Grauwertes und der Plasmaprogesteronkonzentration ausgegangen werden kann. Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist also die Plasmaprogesteronkonzentration hoch (resp. niedrig), wenn der Grauwert hoch (resp. niedrig) ist (Abbildung 30).

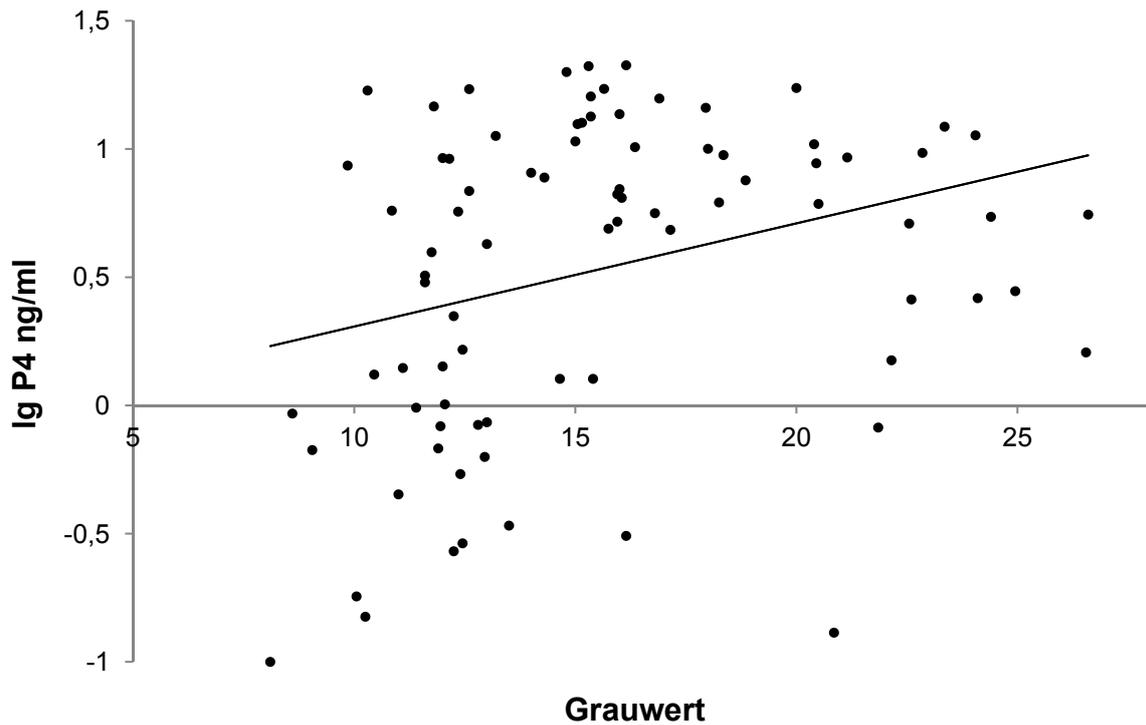


Abbildung 30: Korrelation zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml)

Der Zusammenhang zwischen dem relativen Grauwert und der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration ist ebenfalls statistisch signifikant ( $r = 0,333$ ,  $p = 0,002$ ) (Abbildung 31).

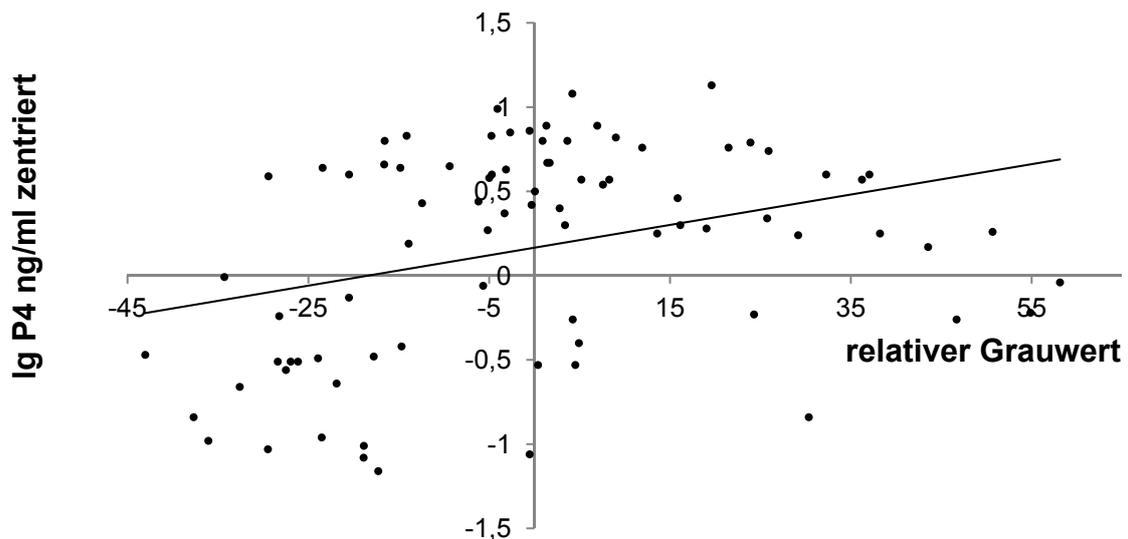


Abbildung 31: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und dem relativen Grauwert

#### 4.5.1.2 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DER FORMATION DES ÄUßEREN MUTTERMUNDES

Die Korrelationsanalyse des Grauwertes und der Formation des äußeren Muttermundes lieferte keinen signifikanten Zusammenhang ( $r_s = 0,1635$ ,  $p = 0,2889$ ) (Abbildung 32). Betrachtet man den relativen Grauwert anstelle des gemessenen Grauwertes, zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang ( $r_s = 0,3665$ ,  $p = 0,0144$ ) (Abbildung 33).

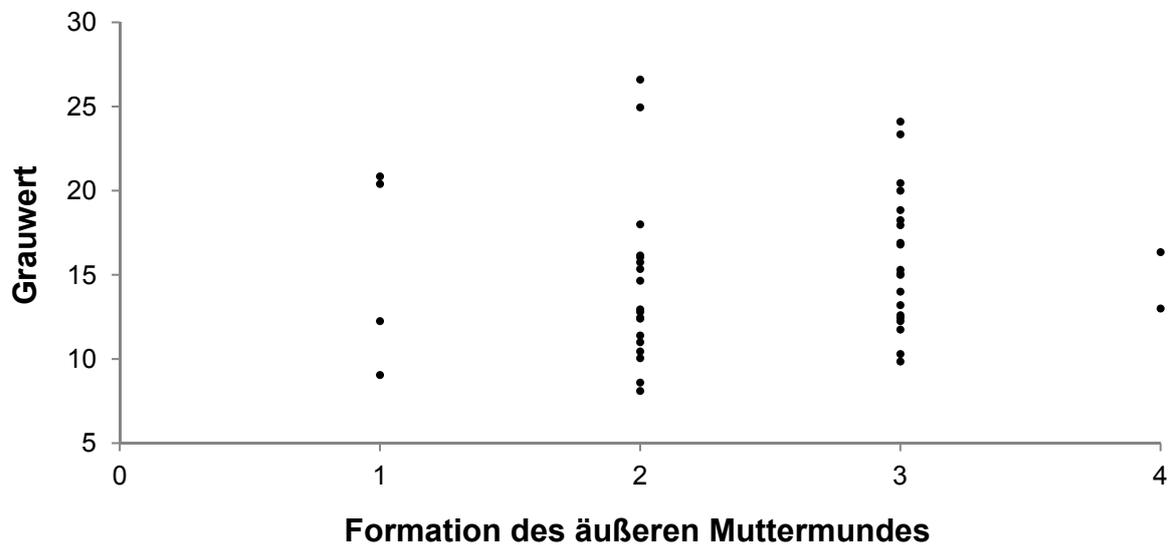


Abbildung 32: Korrelation zwischen dem Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

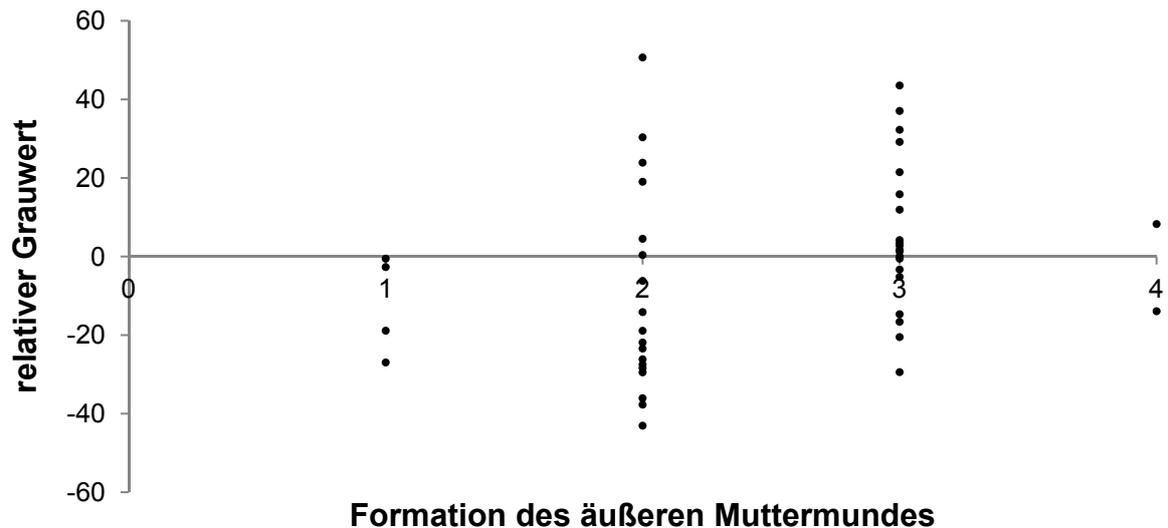


Abbildung 33: Korrelation zwischen dem relativen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

#### 4.5.1.3 KORRELATION ZWISCHEN DER PLASMAPROGESTERONKONZENTRATION UND DER FORMATION DES ÄUßEREN MUTTERMUNDES

Aus den Ergebnissen der Korrelationsanalyse kann auf einen statistisch hoch signifikanten Zusammenhang zwischen der logarithmierten Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes geschlossen werden ( $p < 0,0001$ ,  $r_s = 0,7239$ ) (Abbildung 34). Eine niedrige Plasmaprogesteronkonzentration korreliert mit einem schlaffen oder verlaufenden Muttermund, bei hohen Konzentrationen ist der Muttermund fester, also rosetten- bzw. zapfenförmig.

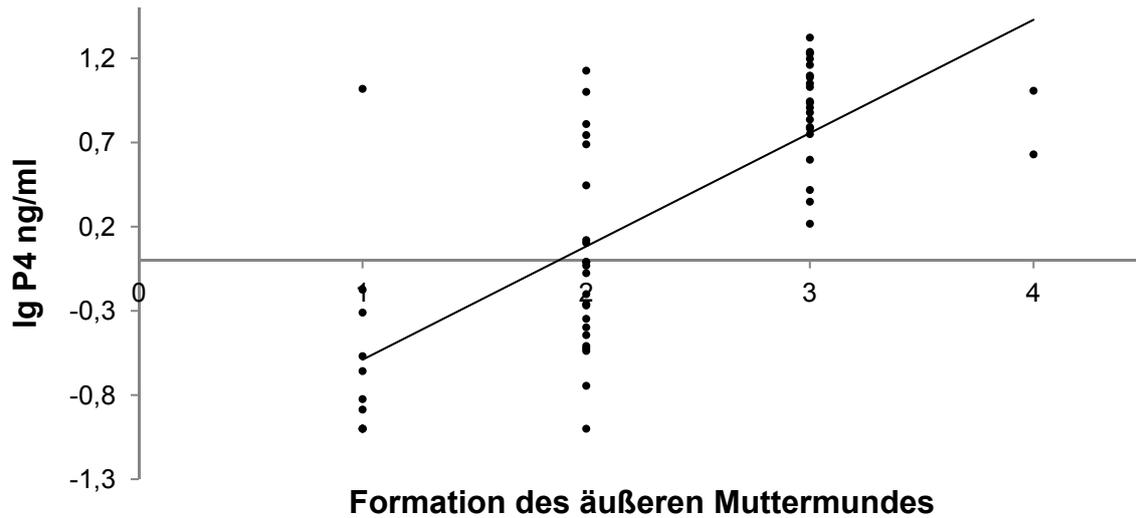


Abbildung 34: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

Nach der Korrelationsanalyse besteht ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes ( $r_s = 0,6456$ ,  $p < 0,0001$ ) (Abbildung 35).

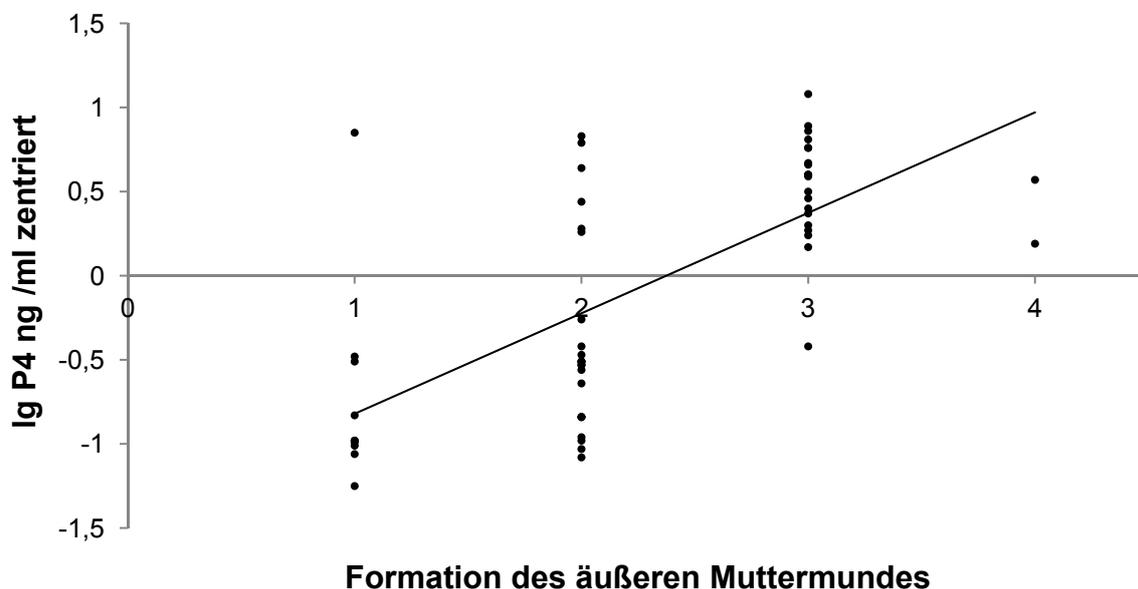


Abbildung 35: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

## 4.5.2 DURCHGANG 2

### 4.5.2.1 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DEM HORMONELLEN VERLAUF

Die Auswertung der Korrelationsanalyse an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20 zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml ergibt keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,192$ ,  $p = 0,317$ ) (Abbildung 36). Auch der Zusammenhang zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmakonzentration von E17 $\beta$  ist statistisch nicht signifikant ( $r = -0,237$ ,  $p = 0,215$ ) (Abbildung 37).

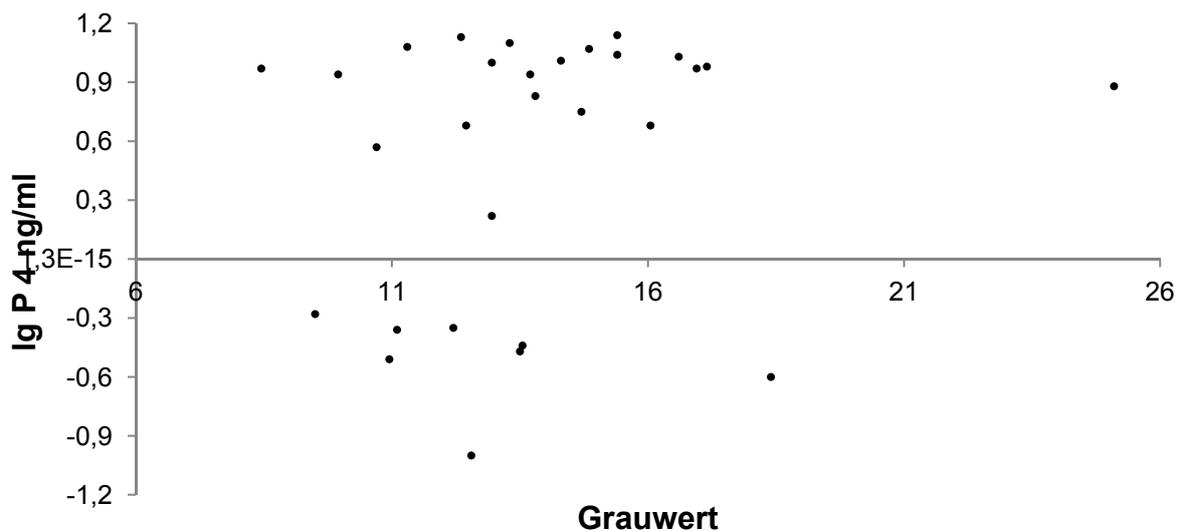


Abbildung 36: Korrelation zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml (lg P4 ng/ml) an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20

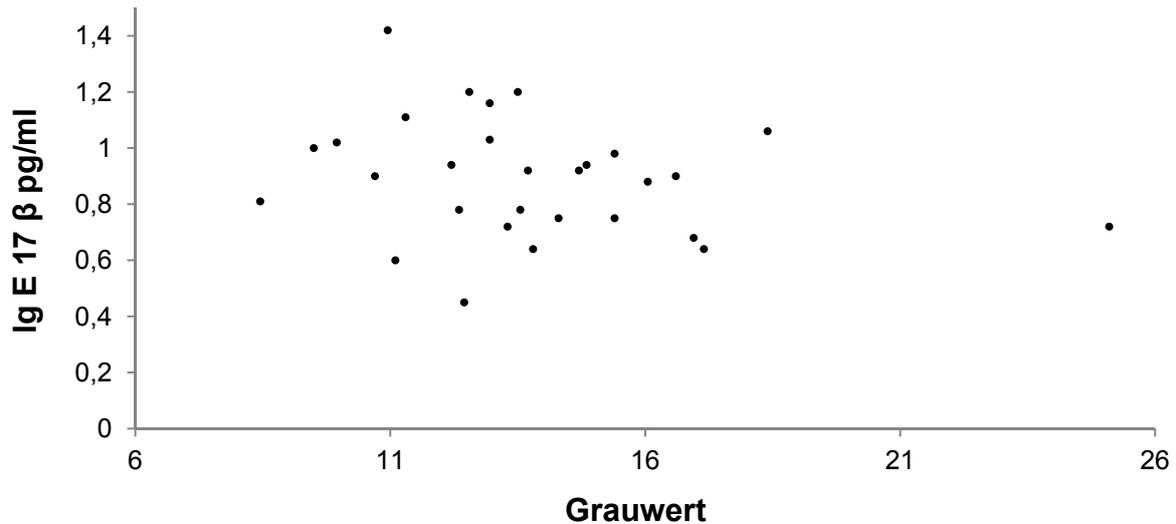


Abbildung 37: Korrelation zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmakonzentration E17β (lg E17 β) an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20

Zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration und dem relativen Grauwert ( $r = 0,251$ ,  $p = 0,190$ ) (Abbildung 38) bzw. der transformierten Plasmaöstradiol-17β-Konzentration und dem relativen Grauwert ( $r = -0,087$ ,  $p = 0,652$ ) (Abbildung 39) besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

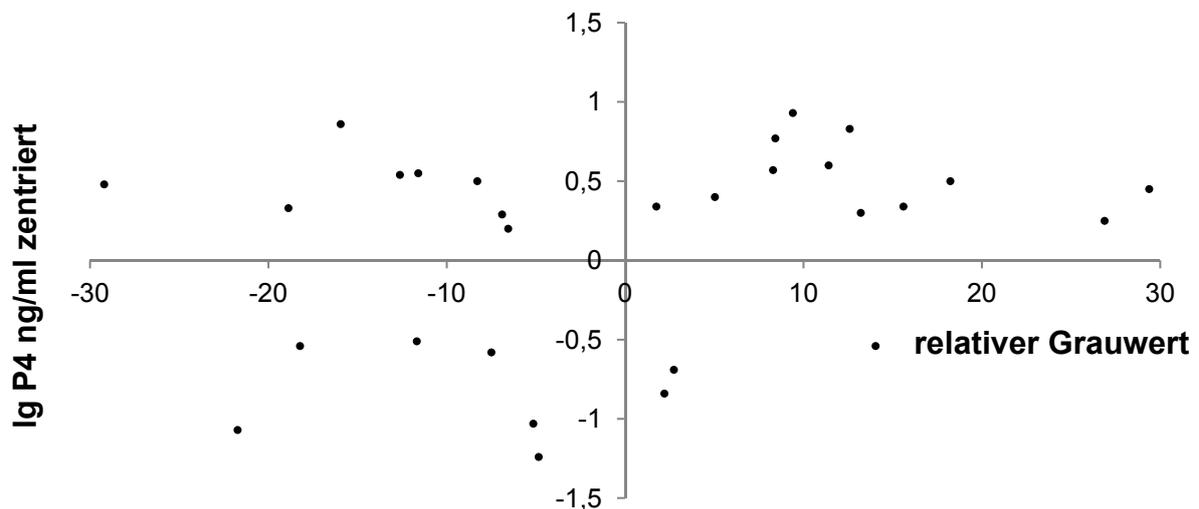


Abbildung 38: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und dem relativen Grauwert

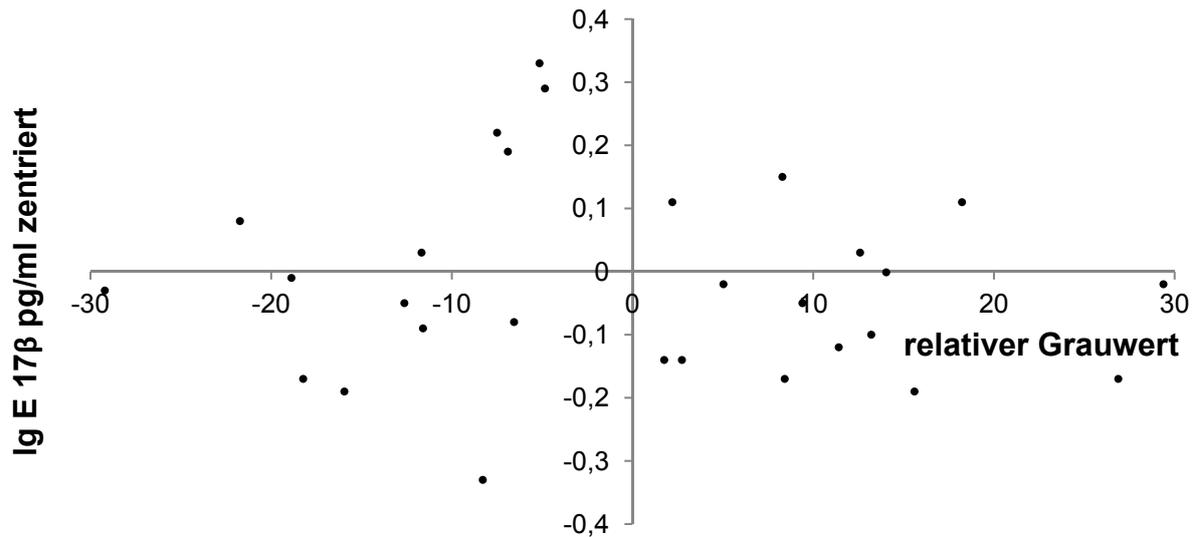


Abbildung 39: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentration (Ig E 17 $\beta$  pg/ml zentriert) und dem relativen Grauwert

#### 4.5.2.2 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DER FORMATION DES ÄUßEREN MUTTERMUNDES

Sowohl die Korrelationsanalyse zwischen dem gemessenen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes ( $r_s = 0,0864$ ,  $p = 0,6558$ ) (Abbildung 40), als auch die Korrelationsanalyse zwischen dem relativen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes ( $r_s = 0,3170$ ,  $p = 0,0938$ ) (Abbildung 41) ergab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang.

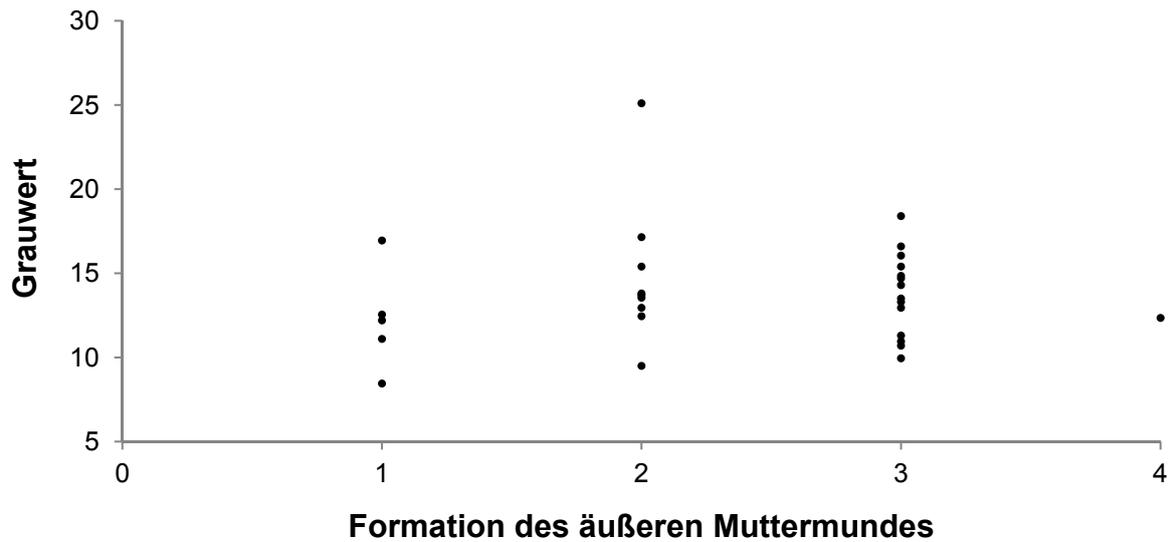


Abbildung 40: Korrelation zwischen gemessenem Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

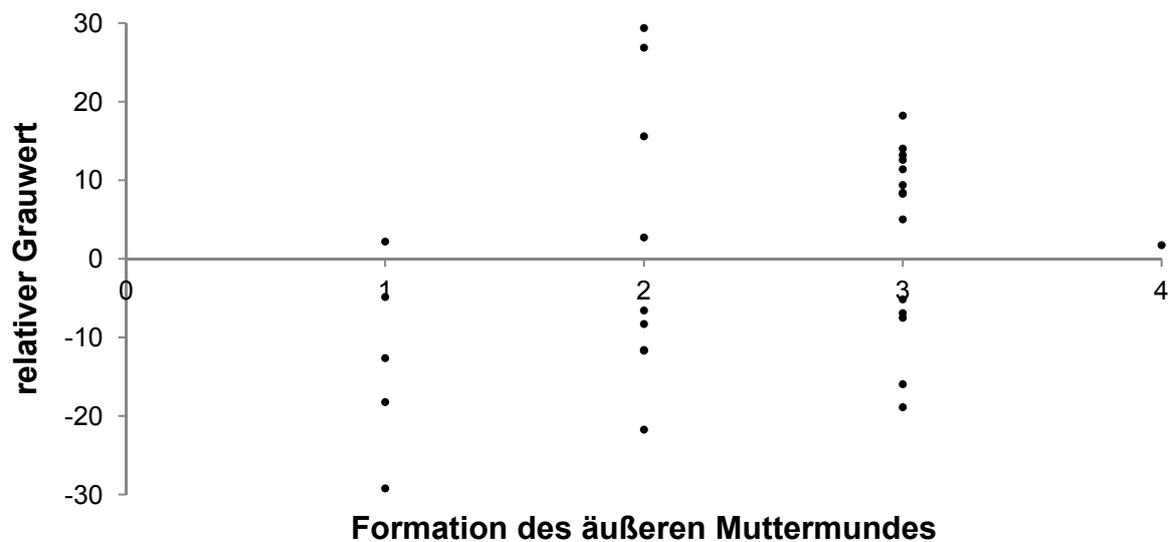


Abbildung 41: Korrelation zwischen dem relativen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

#### 4.5.2.3 KORRELATION ZWISCHEN DER PROGESTERON- BZW. ÖSTRADIOL-17B KONZENTRATION IM BLUT UND DER FORMATION DES ÄUßEREN MUTTERMUNDES

Der Zusammenhang zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes ist statistisch schwach signifikant ( $r_s = 0,4112$ ,  $p = 0,0157$ ) (Abbildung 42). Zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes besteht ein schwach signifikanter Zusammenhang ( $r_s = 0,3679$ ,  $p = 0,0323$ ) (Abbildung 43).

Der Zusammenhang zwischen der Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration und der Formation des äußeren Muttermundes ist statistisch nicht signifikant ( $r_s = 0,3126$ ,  $p = 0,719$ ) (Abbildung 44). Auch zwischen der transformierten Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration und der Formation des äußeren Muttermundes besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang ( $r_s = 0,0786$ ,  $p = 0,6587$ ) (Abbildung 45).

Die Korrelationsanalyse zwischen dem Progesteron-Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten und der Formation des äußeren Muttermundes ergibt keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ( $r_s = 0,1609$ ,  $p = 0,3633$ ) (Abbildung 46).

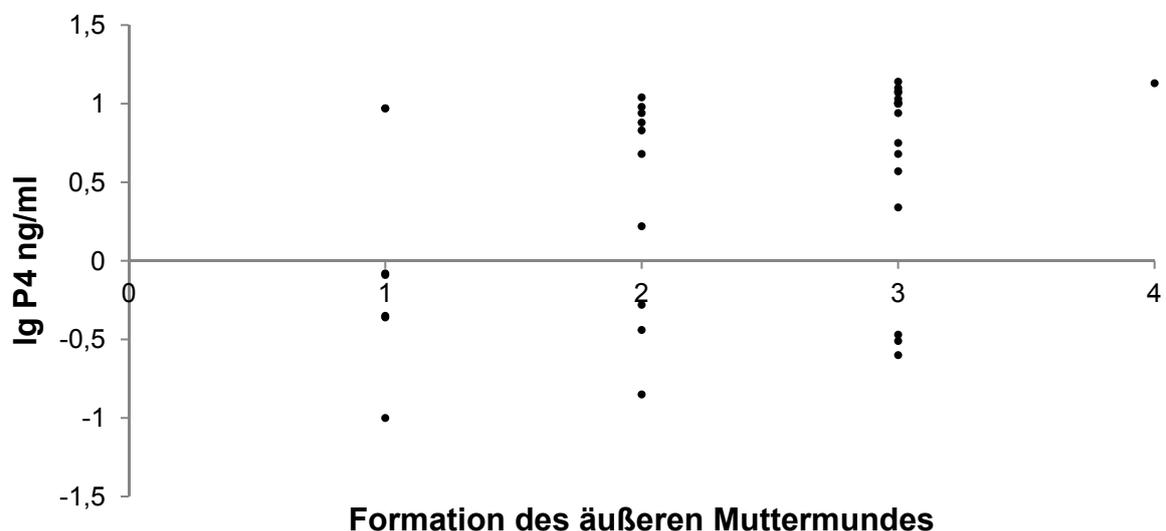


Abbildung 42: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

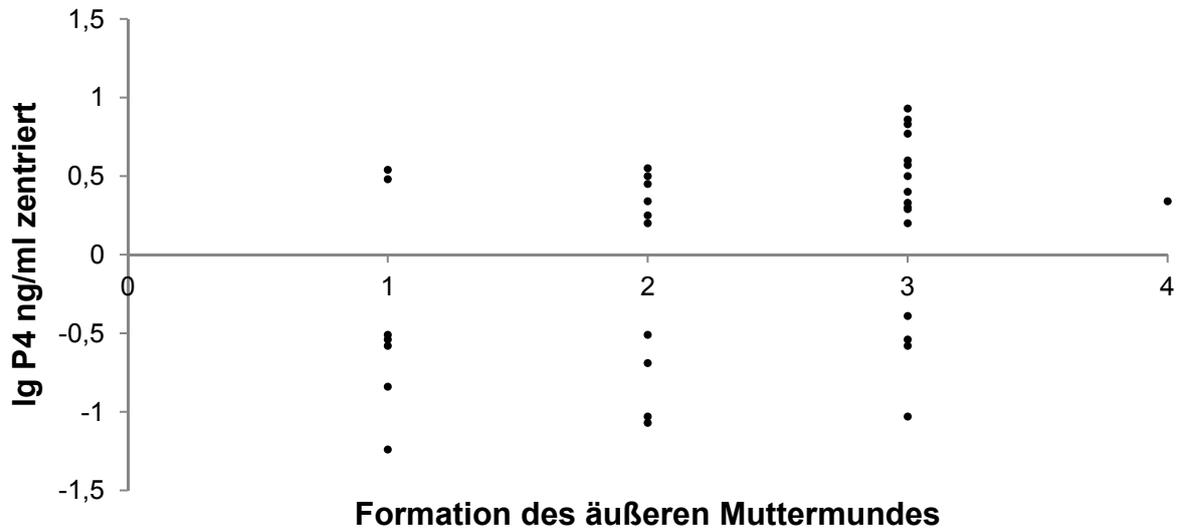


Abbildung 43: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

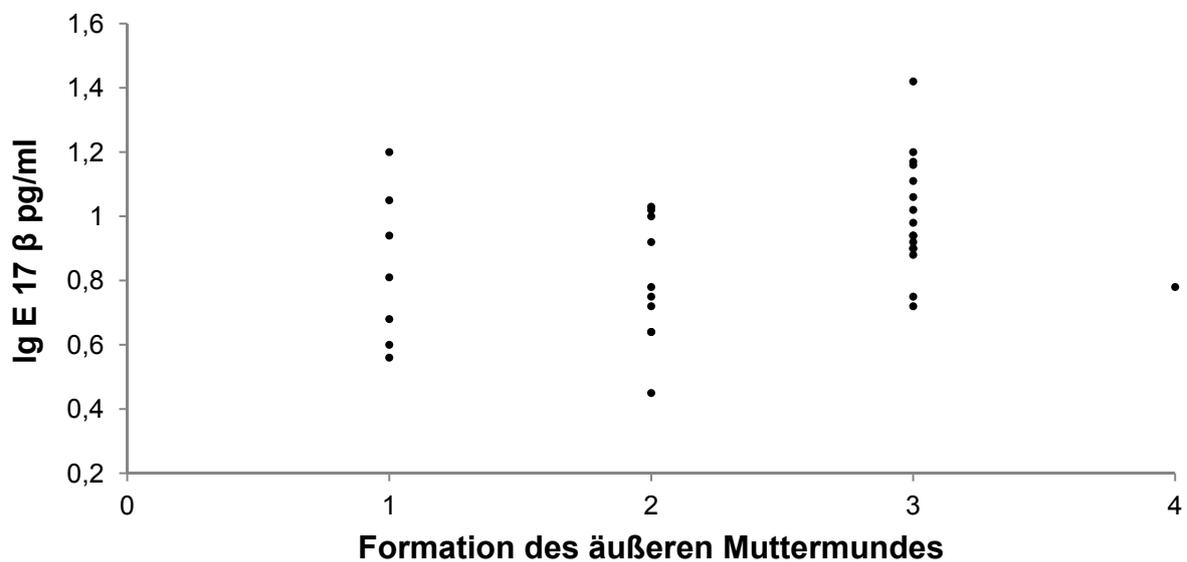


Abbildung 44: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasma-Östradiol-17β-Konzentration (lg E17β pg/ml) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

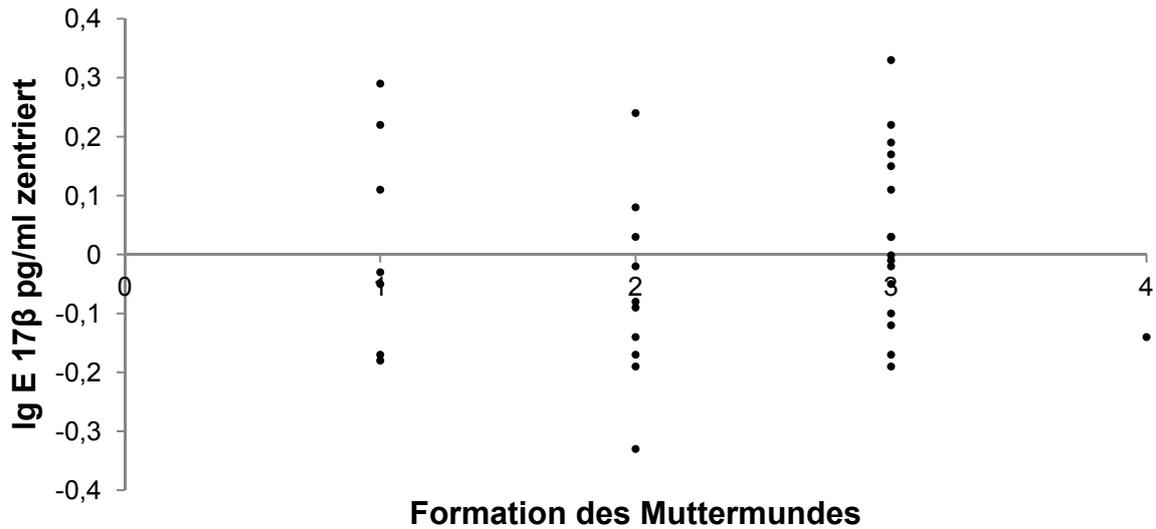


Abbildung 45: Korrelation zwischen der transformierten Plasma-Östradiol-17β-Konzentration (lg E17β pg/ml zentriert) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

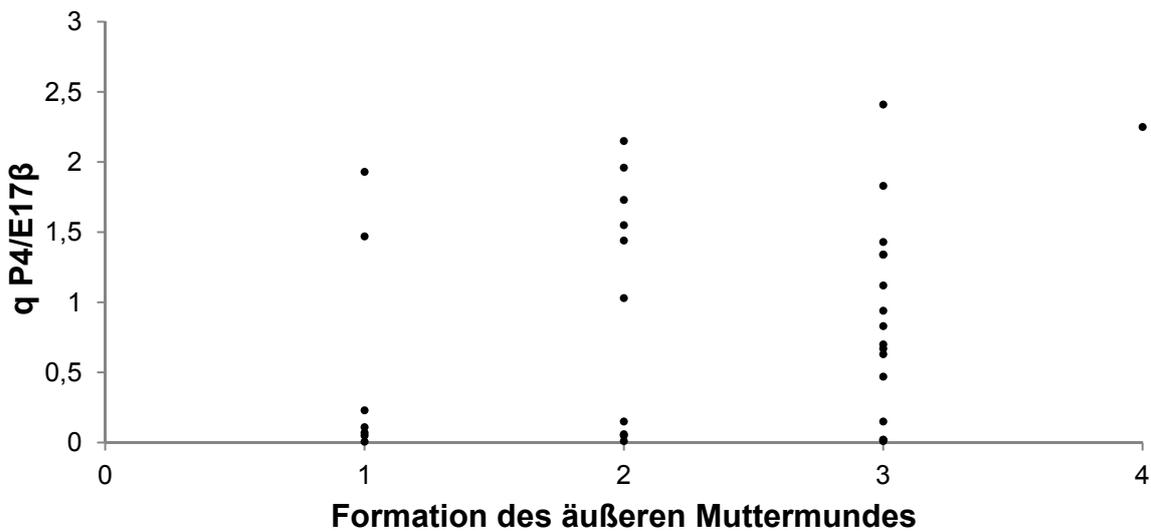


Abbildung 46: Korrelation zwischen dem Progesteron-Östradiol-17β-Quotienten Quotienten der Plasmaprogesteron- Östradiol-17β-Konzentration (q P4/E17β) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

### 4.5.3 DURCHGANG 1 NICHT SYNCHRONISIERT

In den folgenden Korrelationsanalysen ging es nicht um eine vergleichende Betrachtung der Zyklen aller Stuten, sondern um Zusammenhänge in den einzelnen Datenpaaren. Daher konnte auf die Synchronisation der Zyklen vorab verzichtet und auf die original gemessenen Datenpaare zurückgegriffen werden.

#### 4.5.3.1 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DEM HORMONELLEN VERLAUF

Bei der Korrelationsanalyse zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration und dem gemessenen Grauwert zeigt sich ein schwach signifikanter Zusammenhang ( $r = 0,190$ ,  $p = 0,023$ ) (Abbildung 47). Wird die transformierte Plasmaprogesteronkonzentration ausgewertet, zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zum relativen Grauwert ( $r = 0,235$ ,  $p = 0,005$ ) (Abbildung 48).

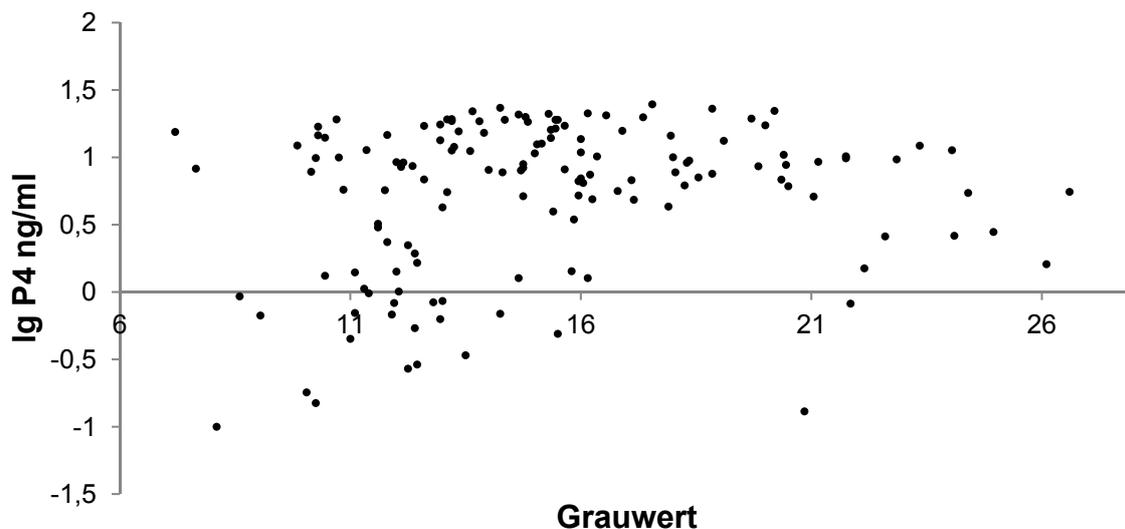


Abbildung 47: Korrelationen zwischen dem Grauwert und dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml)

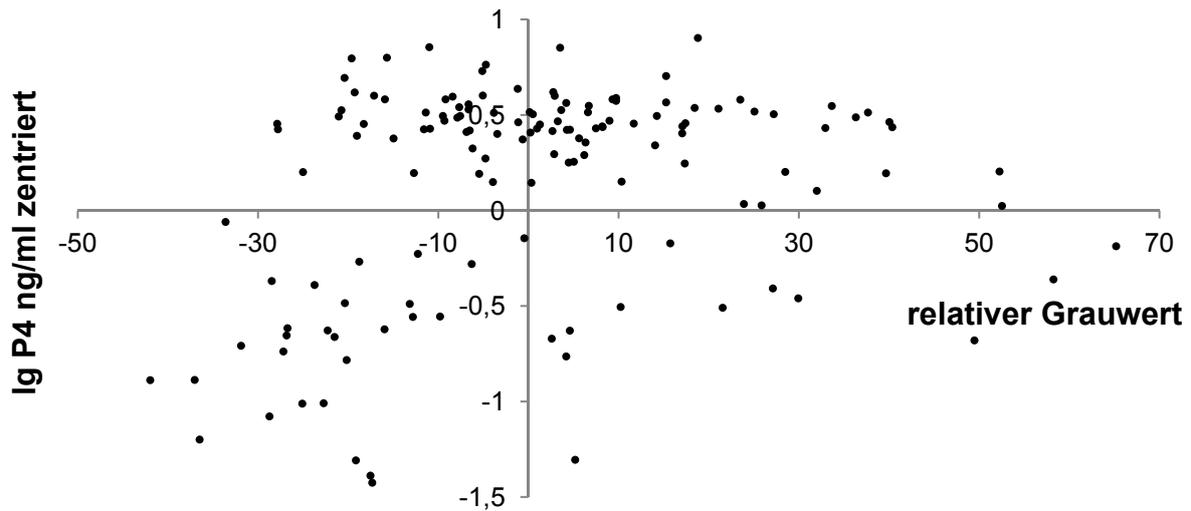


Abbildung 48: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und dem relativen Grauwert

Auch bei der Korrelationsanalyse zwischen dem Logarithmus der Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration im Plasma und dem Grauwert konnte ein schwach signifikanter Zusammenhang festgestellt werden ( $r = -0,291$ ,  $p = 0,013$ ) (Abbildung 49). Die Korrelation zwischen der transformierten Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentration und dem relativen Grauwert ergibt keinen signifikanten Zusammenhang ( $r = -0,167$ ,  $p = 0,158$ ) (Abbildung 50).

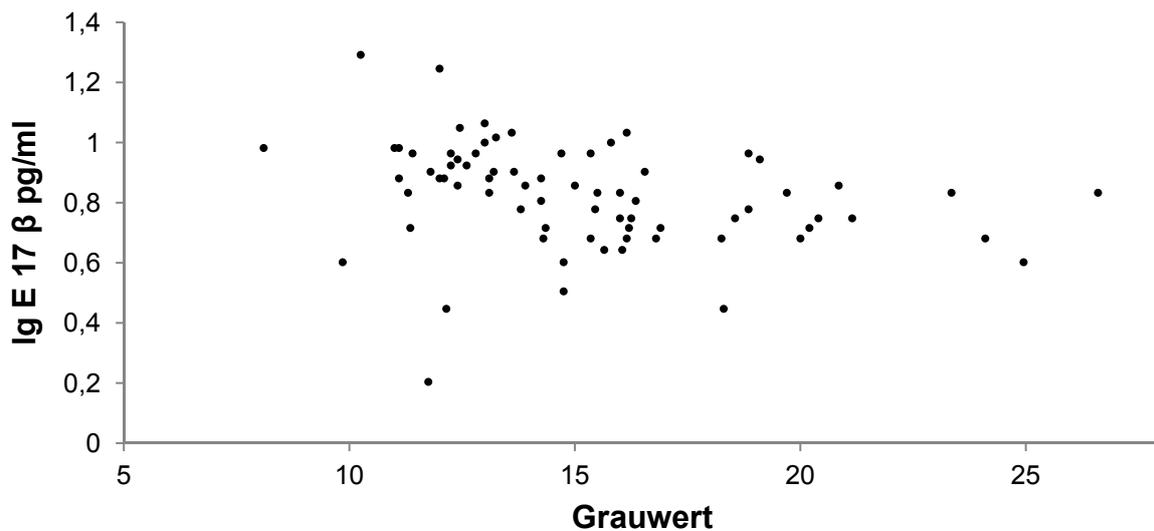


Abbildung 49: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasmakonzentration Östradiol-17 $\beta$  (lg E 17  $\beta$ ) und dem Grauwert

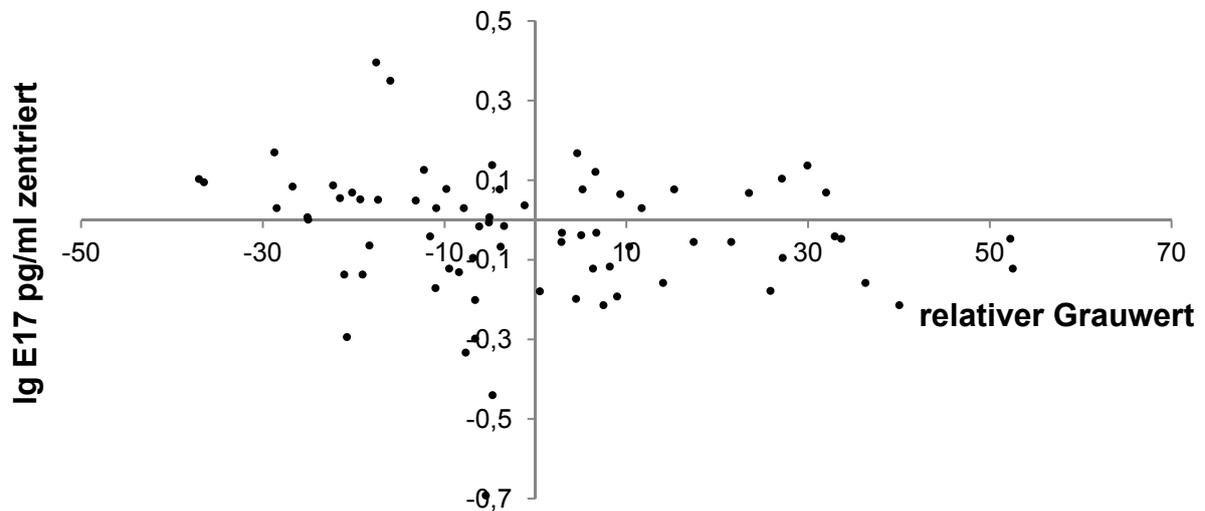


Abbildung 50: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentration (lg E 17 $\beta$  pg/ml zentriert) und dem relativen Grauwert

Die Untersuchung der Korrelation zwischen dem Logarithmus des Progesteron-Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten und dem gemessenen Grauwert liefert einen statistisch signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,328$ ,  $p = 0,005$ ) (Abbildung 51).

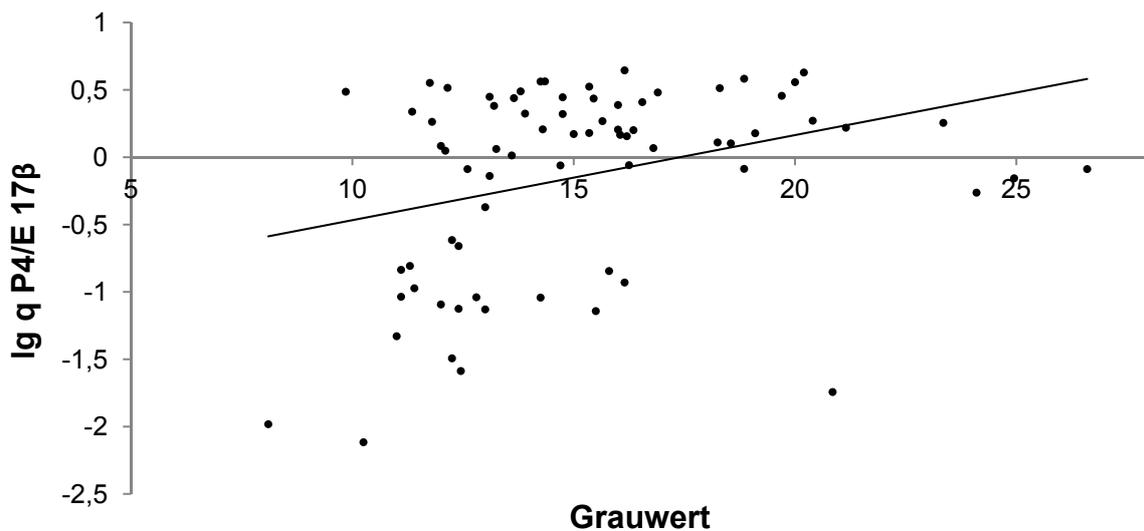


Abbildung 51: Korrelation zwischen dem Logarithmus des Progesteron-Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten (lg q P4/E17 $\beta$ ) und dem Grauwert

#### 4.5.3.2 KORRELATION ZWISCHEN DER QGSA UND DER FORMATION DES MUTTERMUNDES

Die Korrelationsanalyse zwischen dem gemessenen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes ergibt keinen signifikanten Zusammenhang ( $r_s = -0,0347$ ,  $p = 0,7709$ ) (Abbildung 52). Bei der Korrelationsanalyse zwischen dem relativen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes kann ein schwach signifikanter Zusammenhang dargestellt werden ( $r_s = 0,2781$ ,  $p = 0,0172$ ) (Abbildung 53).

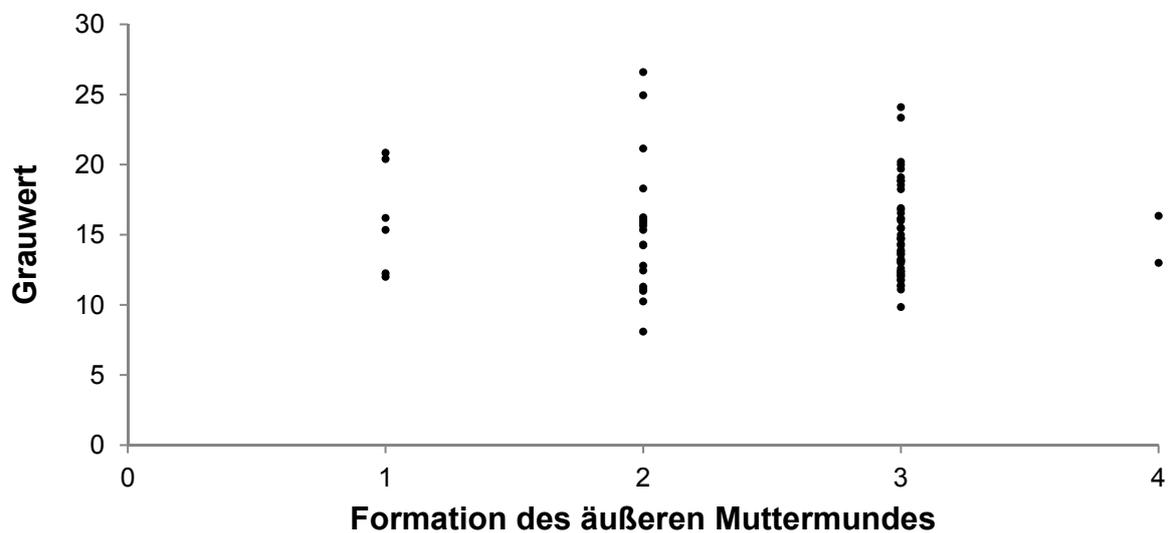


Abbildung 52: Korrelation zwischen dem Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

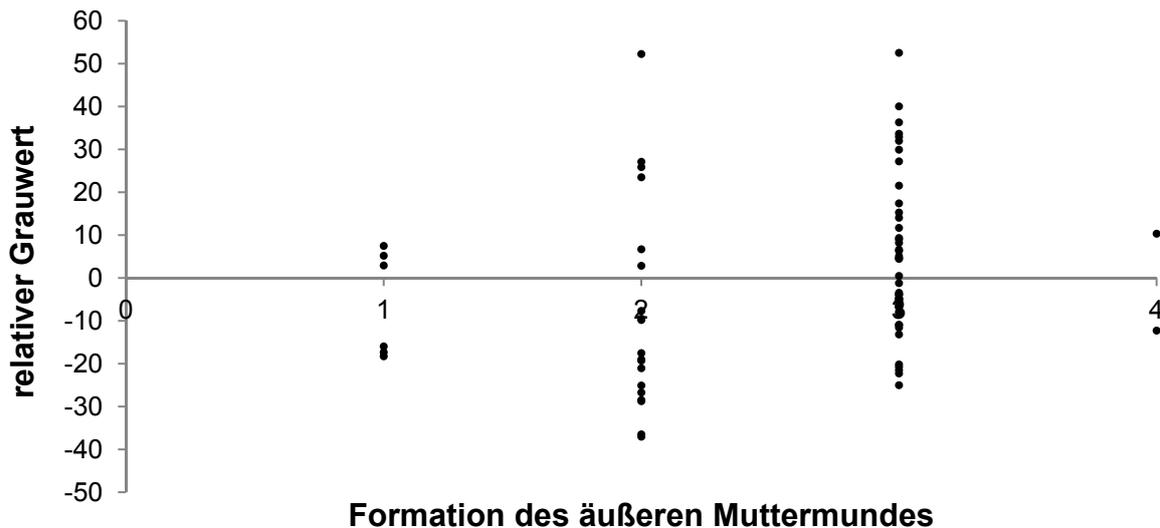


Abbildung 53: Korrelation zwischen dem relativen Grauwert und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

#### 4.5.3.3 KORRELATION ZWISCHEN DER PROGESTERON- BZW. DER ÖSTRADIOL-17 $\beta$ - KONZENTRATION IM BLUT UND DER FORMATION DES ÄUßEREN MUTTERMUNDES

Zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes besteht ein hoch signifikanter Zusammenhang ( $r_s = 0,5098$ ,  $p < 0,0001$ ) (Abbildung 54). Der Zusammenhang zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des äußeren Muttermundes ist ebenfalls hoch signifikant ( $r_s = 0,3964$ ,  $p = 0,0002$ ) (Abbildung 55). Im Gegensatz dazu besteht zwischen dem Logarithmus der Plasma-Östradiol17 $\beta$ -Konzentration und der Formation des äußeren Muttermundes kein statistisch signifikanter Zusammenhang ( $r_s = -0,1497$ ,  $p = 0,1742$ ) (Abbildung 56). Der Zusammenhang zwischen der transformierten Plasma-Östradiol17 $\beta$ -Konzentration und der Formation des äußeren Muttermundes ist schwach signifikant ( $r_s = -0,2775$ ,  $p = 0,0106$ ) (Abbildung 57).

Die Korrelationsanalyse zwischen dem Logarithmus des Progesteron-Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten und der Formation des äußeren Muttermundes ergibt einen statistisch hoch signifikanten Zusammenhang ( $r_s = 0,4610$ ,  $p < 0,001$ ) (Abbildung 58).

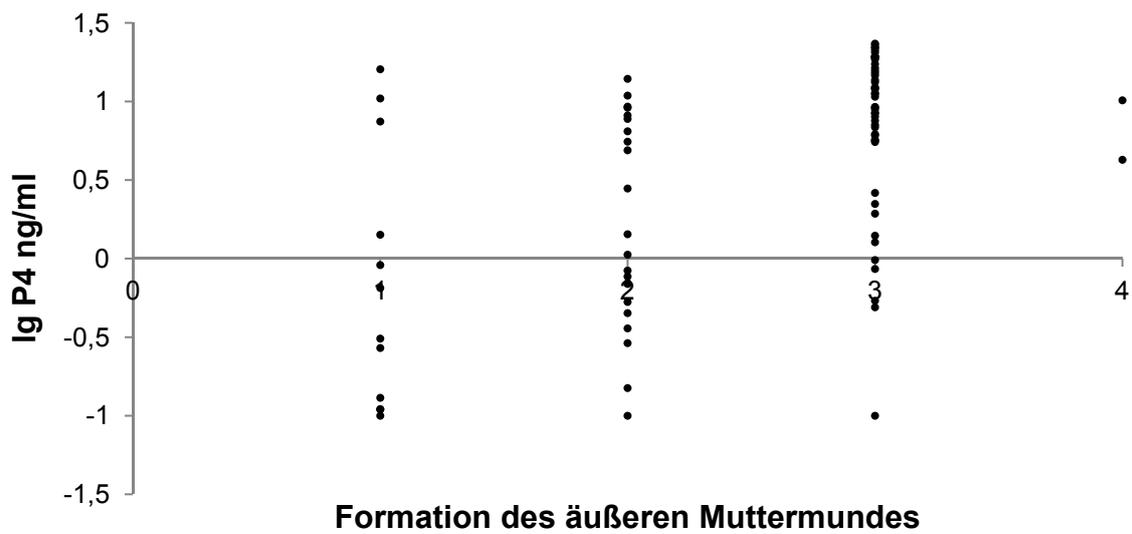


Abbildung 54: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

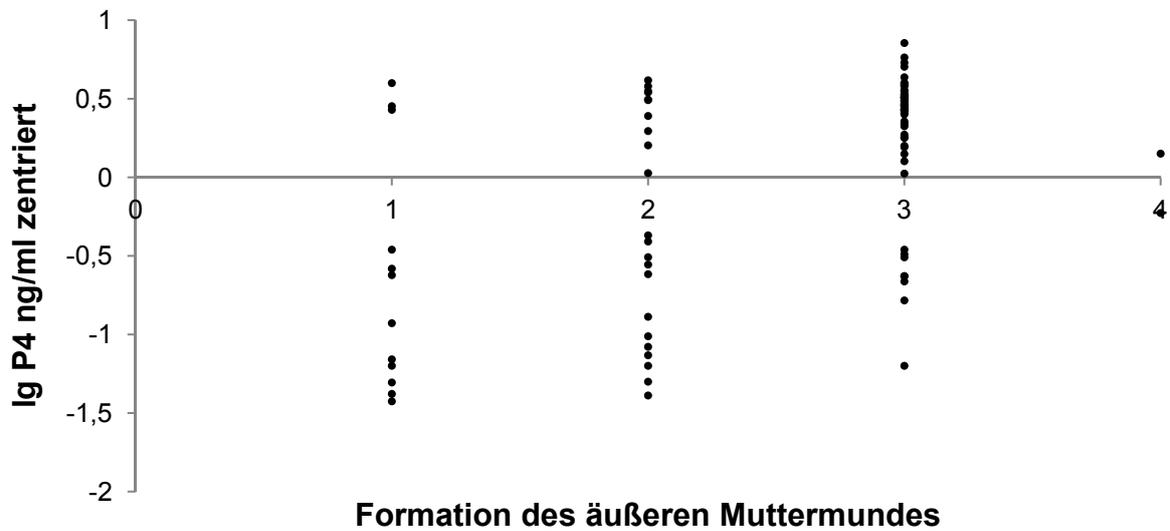


Abbildung 55: Korrelation zwischen der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration (lg P4 ng/ml zentriert) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

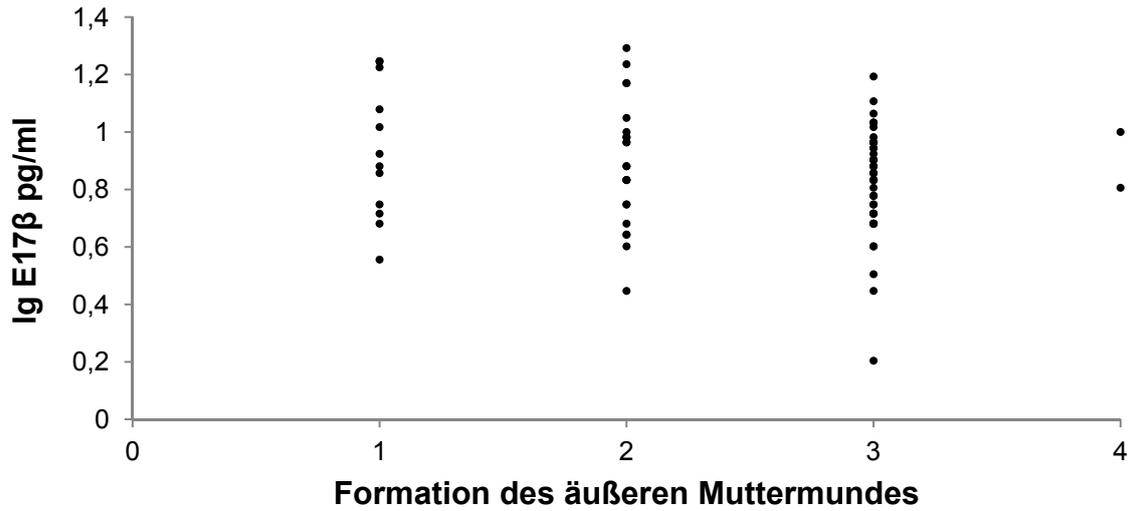


Abbildung 56: Korrelation zwischen dem Logarithmus der Plasma-Östradiol-17β-Konzentration (lg E17β pg/ml) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

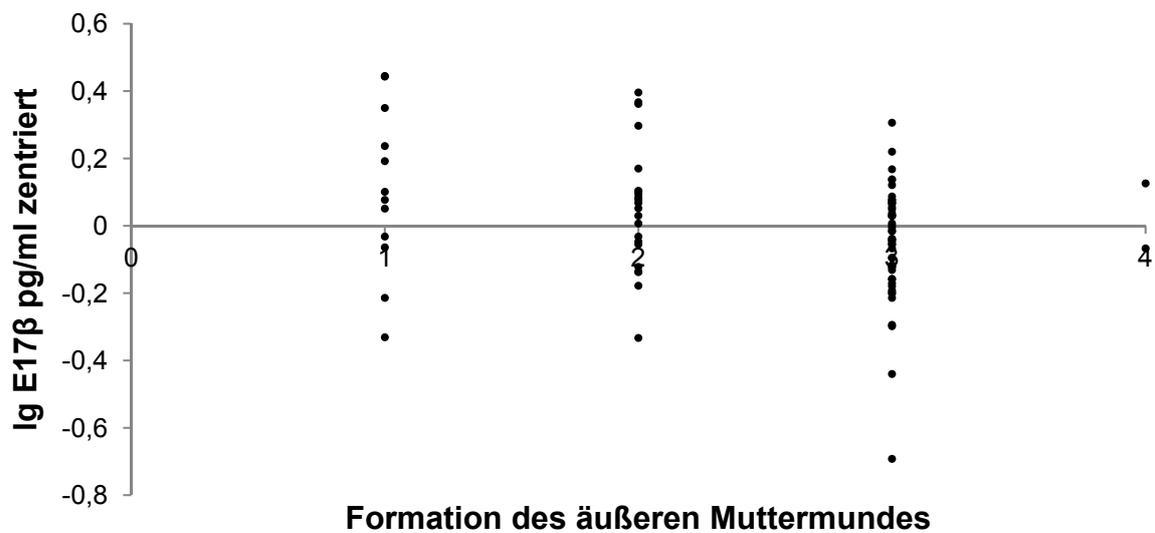


Abbildung 57: Korrelation zwischen der transformierten Plasma-Östradiol-17β-Konzentration (lg E17β pg/ml zentriert) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

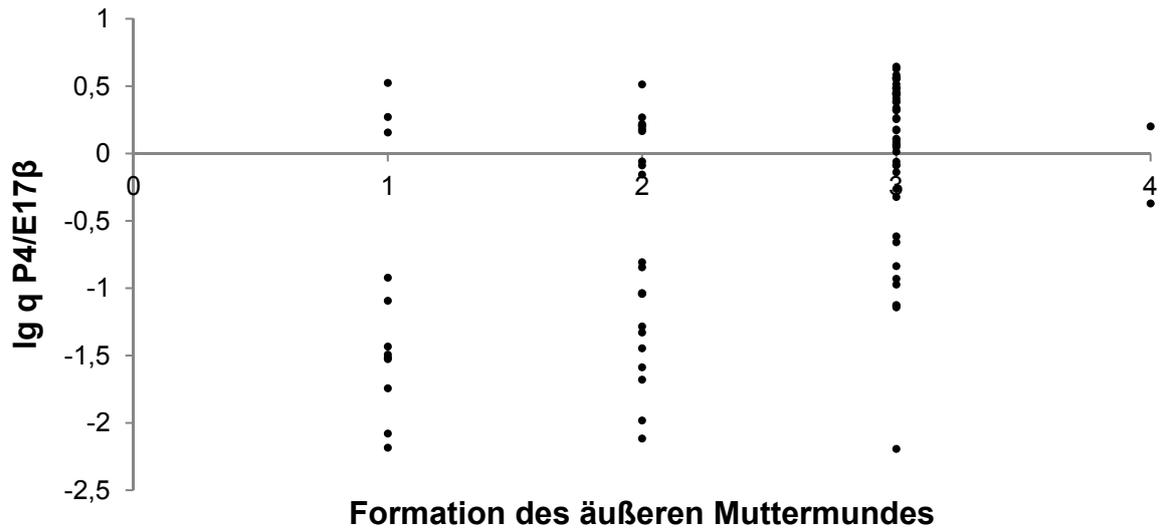


Abbildung 58: Korrelation zwischen dem Logarithmus des Progesteron-Östradiol-17β-Quotienten ( $\lg q P4/E17\beta$ ) und der Formation des äußeren Muttermundes (1 = verlaufend, 2 = schlaff, 3 = rosettenförmig, 4 = zapfenförmig)

## 5 DISKUSSION

### 5.1 DISKUSSION DER FRAGESTELLUNG

Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten des Ovars bei der Stute dehnt sich der Gelbkörper überwiegend in das Innere des Ovars aus und überragt die Oberfläche nicht. Dadurch ist die transrektale Palpation des Gelbkörpers der Stute, im Vergleich zum Rind nur sehr eingeschränkt möglich (HOHENHAUS und LEHMANN, 1990). Zur Beurteilung der Bildung und Entwicklung des Gelbkörpers ist der Untersuchende auf die Sonographie angewiesen. Mit Hilfe dieser Technik ist es möglich, das *Corpus luteum* und den Zyklusstand der Stute zu beurteilen (GINTHER und PIERSON, 1984; KÄHN und LEIDL, 1987; MONTAVON, 1994; TISCHNER, 2008). Außerdem kann die Regression des *Corpus luteum* während der Trächtigkeit dargestellt werden (GINTHER, 1988).

Ein Nachteil der Sonographie ist, dass die Echogenität je nach Untersuchungsperson unterschiedlich beurteilt wird (RÄTH et al., 1984). Außerdem entsteht bei der rein visuellen Beurteilung von Ultraschallbildern ein erheblicher Informationsverlust (HERMES, 1998). In Analogie zu anderen medizinischen Bereichen, in denen die digitale Graustufenanalyse als nicht-invasiver Parameter wertvolle Zusatzinformationen bringt, sollte in der vorliegenden Arbeit überprüft werden, ob die Graustufenanalyse am Gelbkörper eine Objektivierung der sonographisch erhobenen Befunde und damit Rückschlüsse auf den Zyklusstand ermöglicht. Außerdem sollte der Zusammenhang zwischen der Graustufenanalyse von Lutealgewebe und der Plasmakonzentration von Progesteron bzw. Östradiol-17 $\beta$  bzw. der Formation des äußeren Muttermundes untersucht werden.

### 5.2 DISKUSSION DER METHODE

Zur Durchführung der Arbeit mussten die Stuten für die Dauer von mindestens zwei Zyklen einmal täglich für die Untersuchungen zur Verfügung stehen. Weiterhin war es von Vorteil, die Probanden bereits vor Beginn der Untersuchungen an die Räumlichkeiten, die Instrumente und die Untersucherin zu gewöhnen.

Ein wesentlich größeres Patientenkollektiv war unter den gegebenen Umständen aus personellen und räumlichen Gründen nur schwer zu realisieren.

TESCHNER (2008) untersuchte die Entwicklung des Grauwertes des Gelbkörpers bei 53 Stuten ab der Ovulation im Abstand von fünf Tagen und konnte Aussagen über die Luteolyse und eine neu zu erwartende Rosse treffen. Es konnten keine Aussagen über die funktionellen Eigenschaften der *Corpora lutea* gemacht werden. Das Untersuchungsintervall von fünf Tagen ist vor allem zu Beginn der Gelbkörperentwicklung und während der Luteolyse, wenn deutliche Veränderungen am Gelbkörper zu erwarten sind, recht lang. TOWNSON und GINTHER (1989) untersuchten den Gelbkörper mittels Graustufenanalyse in den ersten fünf Tagen des Zyklus bei 12 Ponystuten in den ersten 12 Stunden in dreistündigem Abstand, dann jeweils nach weiteren 12 Stunden.

Da in der vorliegenden Arbeit die sonographische Entwicklung des Gelbkörpers über den gesamten Zyklus betrachtet werden sollte, wurden die Untersuchungen durchgängig im 24-Stunden-Rhythmus durchgeführt. Die Plasmaprogesteronkonzentration wurde stets zum gleichen Zeitpunkt erhoben, um Aussagen über die funktionellen Eigenschaften des Gelbkörpers zu treffen.

Da die Veränderungen der Formation des Muttermundes langsamer voranschreiten (HANDLER und AURICH, 2009; McCUE, 2011), wurde zu ihrer Beurteilung ein Untersuchungsintervall von 48 Stunden gewählt. Gleichzeitig wurde die Plasmaöstradiol-17 $\beta$ -Konzentration erhoben, um einen Zusammenhang zwischen diesen beiden Größen aufzuzeigen. Zudem musste das Untersuchungsintervall der studentischen Ausbildung in der gynäkologischen Untersuchung des Pferdes angepasst werden.

Die Beurteilung der *Corpora lutea* erfolgte mittels Graustufenanalyse. Das menschliche Auge ist in der Lage ca. 20 bis 30 Graustufen zu unterscheiden (CLAUSSEN und LOCHNER, 1985; ZINK, 1996). Dagegen erkennen die zurzeit eingesetzten gängigen Ultraschallgeräte 256 verschiedene Graustufen. Bei der rein visuellen Beurteilung sonographischer Bilder entsteht also ein erheblicher Informationsverlust (ZINK, 1996) dem durch die Graustufenanalyse entgegengewirkt werden kann.

Allerdings wird die Graustufenanalyse durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. So kommt es bereits bei der Veränderung von nur einer Variablen bei der Bildentstehung zu starken Abweichungen, so dass unterschiedliche Ergebnisse in denselben Befund resultieren (WIESNER, 1984; LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Es ist also von entscheidender Bedeutung die beeinflussbaren Faktoren für jede Untersuchung möglichst konstant zu halten (LORBER et al., 1999). Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden daher stets mit dem gleichen Gerät, dem gleichen Schallkopf, den gleichen Geräteeinstellungen und durch den gleichen Untersucher durchgeführt. Nach GÄRTNER et al. (1998) beeinflusst auch die Lage der ROI's die berechneten Parameter. Die Autoren sind jedoch der Meinung, dass in der klinischen Diagnostik die zusätzliche Fixierung der ROI's eine unpraktikable Einschränkung der Anwendung darstellt. Sie fordern, dass die ROI jeweils in Gewebeabschnitte gelegt wird, die die Organgrenzen nicht überschreiten und keine größeren Inhomogenitäten aufweisen. Diese Forderung wurde in der vorliegenden Arbeit erfüllt.

In den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurde ein Vorversuch durchgeführt, mittels dem gezeigt werden konnte, dass sich Ovar- und Gelbkörpergewebe eindeutig mittels Graustufenanalyse unterscheiden lässt.

Für die Platzierung der ROI's wurden im Fokusbereich zwei artefaktfreie, visuell möglichst helle homogene Stellen ausgewählt und je ein 5 x 5 mm großes Quadrat als ROI markiert. So konnte gewährleistet werden, dass die ROI's zweifelsfrei auf dem *Corpus luteum* lagen.

KRETZSCHMAR (2004) untersuchte unter anderem, ob Größe und Platzierung der ROI's Auswirkungen auf die Ergebnisse der Echostrukturanalyse am Endometrium der Stute haben. Sie folgerte aus ihren Untersuchungen, dass quantitative Graustufenanalyse einer möglichst großen Fläche unter visueller Elimination von qualitativ schlechteren Bildregionen und Artefakten der Festlegung einzelner ROI's vorzuziehen ist.

In der vorliegenden Arbeit war die Analyse einer größeren Fläche durch Umfahren des Gelbkörpers nicht sinnvoll, da die Organgrenzen nicht immer eindeutig erkennbar waren.

In der Humanmedizin kommt in verschiedenen Bereichen sowohl die eindimensionale als auch die mehrdimensionale Graustufenanalyse zum Einsatz

(RÄTH et al., 1984; McPHERSON et al., 1986; PINAMONTI et al., 1989; SKORTON und COLLINS, 1988; LIEBACK et al., 1989; FERDEGHINI et al., 1991; HARDOUIN et al., 1994; LIEBACK et al., 1996; BADER et al., 2000; CHEN et al., 2000; TEKESIN et al., 2002). In der Veterinärmedizin kommt überwiegend die eindimensionale Graustufenanalyse zum Einsatz (CHANDOLIA et al., 1997; HERMES, 1998; TOM et al., 1998a + b; LORBER, 1999; KASTELIC et al., 2001; GRAUE, 2002; HÖHNE, 2002; VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, 2007; KESSLER, 2010; BANGEN, 2011; SCHLOMM, 2013; BÖHM, 2013). Bei der Auswertung mehrdimensionaler Graustufenanalysen konnte nicht immer ein Informationsgewinn erzielt werden (GERTSCH, 1997; SCHMAUDER, 2003; KRETZSCHMAR, 2004; BERTMANN, 2005).

In den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurde als Analyseverfahren die eindimensionale Graustufenanalyse gewählt und der mittlere Grauwert erhoben, sodass die Gesamthelligkeit der Region of interest ausgewertet wurde. Die räumliche Anordnung der Pixel im Bildausschnitt wurde nicht berücksichtigt. Der mittlere Grauwert ist in den Untersuchungen von KRETZSCHMAR (2004) ein Parameter, der die zyklusabhängigen Veränderungen am Endometrium zuverlässig wiedergibt. Er zeigt eine geringe Varianz gegenüber nicht beeinflussbaren biologischen Faktoren (KRETZSCHMAR, 2004).

## **5.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE**

### **5.3.1 VORVERSUCHE**

Graustufenanalysen sind immer dann möglich, wenn die zu untersuchende Struktur mittels Ultraschall eindeutig ansprechbar ist. Für die sonographische Struktur des Gelbkörpers ist die Echogenität seiner Schnittfläche typisch. Diese zeigt Graustufen, die für die Reflexionen von mäßig dichtem Gewebe charakteristisch sind. Ein weiteres Kriterium zur Differenzierung ist eine dünne echoschwache Begrenzungslinie, durch die der Gelbkörper zum umgebenden Ovarparenchym abgegrenzt wird (KÄHN und LEIDL, 1987). Dies konnte anhand von Vorversuchen an Organen von geschlachteten Tieren bestätigt werden.

In einem weiteren Vorversuch sollte der Einfluss des Drucks durch den Schallkopf auf das zu untersuchende Ovargewebe und auf das *Corpus luteum* im Hinblick auf die Graustufenanalyse untersucht werden.

Verschiedene Autoren weisen auf die Bedeutung von standardisierten Bedingungen bei der Erstellung von Ultraschallbildern für die Graustufenanalyse hin (ZIELKE et al., 1985; ZUNA, 1991; DELORME und ZUNA, 1995). Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit zeigen, dass der Druck einen Einfluss auf die Graustufenanalyse hat, am Ovar jedoch von untergeordneter Bedeutung ist, da in der Mehrzahl der Fälle kein auswertbares Bild erstellt und somit auch keine Graustufenanalyse durchgeführt werden konnte. Durch eine Verminderung des Druckes nahm die Echogenität des Gelbkörpers so weit ab, dass dieser nicht mehr identifizierbar war. Bei vermindertem Druck konnten nur 10 % der Gelbkörper ausgewertet werden. Eine Erhöhung des Druckes führte dazu, dass das Ovar nicht mehr ausreichend fixiert werden konnte und der untersuchenden Hand entglitt. In diesem Fall konnten nur 55 % der erstellten Bilder ausgewertet werden.

Für die Untersuchungen war es wichtig zu klären, ob sich Ovargewebe vom *Corpus luteum* mittels Graustufenanalyse eindeutig differenzieren lässt. Da sich die Mittelwerte der Grauwerte des Ovars statistisch signifikant ( $p = 0,01$ ) von den Mittelwerten der Grauwerte der Gelbkörper unterscheiden, kann davon ausgegangen werden, dass eine Differenzierung möglich ist. Die Unterschiede der Messungen am Ovargewebe zwischen den Tagen 5, 10 und 17 sind statistisch nicht signifikant ( $p = 0,108$ ). Dies deutet darauf hin, dass sich der Grauwert des Ovargewebes im Verlauf des Zyklus nicht gravierend ändert.

### **5.3.2 SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG INKLUSIVE GRAUSTUFENANALYSE**

Die mittlere Dauer des Zyklus bei der Stute wird in der Literatur mit 21 bis 22 Tagen angegeben (PIERSON und GINTHER, 1985a; BUSCH und BADER, 2006; HANDLER und AURICH, 2009; McCUE et al., 2011) und wurde in der vorliegenden Arbeit ebenfalls in dieser Länge, im Durchschnitt von 21,6 Tagen mit einer

Standardabweichung von 2,5 Tagen, festgestellt. Allerdings weichen einzelne Zyklen mit 17 oder 24 Tagen davon stark ab.

Der Zyklus von Stute 6 wurde z. T. gesondert ausgewertet, da diese Stute ein persistierendes *Corpus luteum* zeigte und der Zyklus medikamentös abgebrochen wurde.

Mögliche Ursachen für die Persistenz eines *Corpus luteum* können entweder eine mangelnde Prostaglandinfreisetzung am Tag 14 - 15 des Zyklus, ein ovulierter Mitzyklusfollikel oder eine chronische Veränderung des Endometriums sein (McCUE 1998). Kommt ein Mitzyklusfollikel relativ spät in der Lutealphase zur Ovulation oder luteinisiert, so sind die Lutealzellen dieses Gelbkörpers zum Zeitpunkt der endogenen PGF<sub>2α</sub>-Sekretion noch unreif. Das PGF<sub>2α</sub> führt zur Luteolyse des aus der Rosseovulation entstandenen Gelbkörpers, bei den unreifen Lutealzellen des Zwischenrossefollikels bleibt es jedoch folgenlos. Dieser Gelbkörper blockiert durch die fortwährende Progesteronsynthese die Rosse. Ein solcher Gelbkörper kann bis zu drei Monaten persistieren (McCUE, 1998; HANDLER und AURICH, 2009). Im Falle einer entzündlichen Veränderung am Endometrium kommt es zu einer Verminderung oder dem Ausbleiben der Sekretion von PGF<sub>2α</sub>, sodass die Luteolyse nicht stattfinden kann (McCUE, 1998). GINTHER und PIERSON (1989) fanden bei 102 untersuchten Stuten zwei verlängerte Zyklen (30 und 33 Tage) ohne Veränderungen an Ovarien oder Uterus.

Da bei Stute 6 keine Anzeichen für eine Entzündung des Endometriums vorlagen, wurde der Zyklus medikamentös unterbrochen. Die Stute wurde nicht von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen. Im nachfolgenden Zyklus verlief die Entwicklung des Gelbkörpers inklusive der Luteolyse physiologisch.

Im ersten Durchgang war in 4 von 10 Zyklen der Gelbkörper über den Zeitraum des gesamten Zyklus darstellbar. PIERSON und GINTHER (1985a) untersuchten insgesamt 55 vollständige Zyklen an 40 Stuten, wobei die mittlere Länge der Zyklen bei 21,7 Tagen lag. Sie konnten den Gelbkörper im Mittel über 17 Tage sonographisch abbilden. In 5 der 55 Zyklen konnten sie den Gelbkörper bis zum Beginn des folgenden Zyklus zeigen, von diesen 5 konnte in 3 dieser Zyklen der Gelbkörper auch am Tag nach der Ovulation noch dargestellt werden. Dass in den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit der Gelbkörper in 40 Prozent der Zyklen

über den gesamten Zeitraum darstellbar war, kann darauf zurückzuführen sein, dass alle Untersuchungen stets von derselben Person durchgeführt wurden, wodurch der Gelbkörper auch bei verminderter Größe leichter wiederauffindbar war. Außerdem verwendeten PIERSON und GINTHER (1985a) eine 5 MHz-Ultraschallsonde, in den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurde eine Frequenz von 7,5 MHz gewählt mit der Folge einer höheren Detaillierbarkeit.

HOHENHAUS und BOSTEDT (1992) stellten in ihren Untersuchungen bei 14 % der Stuten (105 Stuten mit insgesamt 135 Östren) eine Doppelovulation fest. In älteren Studien schwanken die Angaben von Doppel- und Mehrfachovulationen zwischen 14 und 40 % (WARZAWSKY et al., 1972; GINTHER und PIERSON, 1989). In den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden in 2 der 10 Zyklen in Folge einer Doppelovulation jeweils zwei Gelbkörper dargestellt. Dabei zeigte eine Stute jeweils eine Doppelovulation in zwei aufeinanderfolgenden Zyklen. Die Anzahl der Doppelovulationen entspricht mit 20 % den Angaben in der Literatur (WARZAWSKY et al., 1972; GINTHER und PIERSON, 1989). Eine weitere Stute zeigte im Durchgang 1 einen normalen Gelbkörper und einen anovulatorischen luteinisierenden Follikel.

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass die einzelnen Zyklen in Bezug auf Länge und Darstellbarkeit der Gelbkörper sehr variabel waren. Auch zwei aufeinanderfolgende Zyklen ein und derselben Stute variierten. Zu diesem Ergebnis kam auch TESCHNER (2008).

Bisher gibt es keine Veröffentlichungen zur Größenentwicklung des Gelbkörpers im Verlauf des gesamten Zyklus beim Pferd.

In einer Studie von TOWNSON und GINTHER (1989) zu flüssigkeitsgefüllten und nicht-flüssigkeitsgefüllten Gelbkörpern wurden 12 Ponystuten 2, 5, 8 und 12 Stunden nach Beginn der lutealen Entwicklung und im Folgenden im Abstand von 12 Stunden über 5 Tage untersucht. Dabei wurde auch die Größe der Gelbkörper erhoben. Sie stellten eine Zunahme der Größe im Verlauf der ersten ein bis drei Tage nach der Ovulation fest. Nach ihren Ergebnissen ist die maximale Größe des Gelbkörpers am dritten Tag erreicht und es kommt bis zum Tag 5 zur Verminderung der Größe.

In den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit konnte keine Zunahme der Größe des Gelbkörpers festgestellt werden. Allerdings wurde die Größe nur bei eindeutig

abgrenzbarem Gelbkörper erfasst. Da dies oft erst an Tag 3 oder 4 der Untersuchungen gegeben war, ist es möglich, dass die Größe des Gelbkörpers in den ersten Tagen zunahm, dies aber nicht festgehalten wurde.

Bei 5 von 7 Gelbkörpern verringerte sich die Größe innerhalb der ersten 5 Tage des Zyklus. Bei den übrigen 2 Gelbkörpern begann die Reduzierung der Größe erst am Tag 12 des Zyklus.

Nach KÄHN (2004) wird der Gelbkörper während der Luteolyse deutlich kleiner. Dies konnte in den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Allerdings gab es bei 4 von 7 Zyklen bereits Schwankungen der Größe während der Gelbkörperphase. Dies deutet darauf hin, dass bei abnehmender Größe des Gelbkörpers nicht zwangsläufig auf den Beginn der Luteolyse geschlossen werden kann.

Die Echogenität änderte sich jeweils zum Ende der Gelbkörperphase von mittelechogen zu echoarm, allerdings variierte der Zeitraum, in dem der Gelbkörper echoarm darstellbar war, von Stute zu Stute deutlich. Es lassen sich also aus Änderungen der Echogenität nicht unmittelbar Aussagen über den Zeitpunkt der Luteolyse ableiten.

Je nach Geschwindigkeit der Entwicklung des Gelbkörpers entwickelt sich dieser homogen oder mit einem zentralen Anteil von Flüssigkeit und Blutbestandteilen. Die Angaben über die Häufigkeit von *Corpora lutea* mit zentralem flüssigkeitsgefüllten Hohlraum schwanken in der Literatur zwischen 50 und 68 % (GINTHER, 1979; PIERSON und GINTHER, 1985a; ALLEN et al., 1987; GINTHER, 1988; TOWNSON und GINTHER, 1988, 1989; NEWCOMBE, 1997; MIRO, 2012). Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit ergaben einen Anteil der homogenen Gelbkörper von 66 % (6 von 8 *Corpora lutea* im ersten Durchgang, 4 von 7 im zweiten Durchgang). Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die erhobenen Daten Informationen darüber geben, wie lange und wie sich der Gelbkörper im B-Mode-Verfahren während des Zyklus der Stute darstellt.

Die Ergebnisse der Grauwertanalysen im ersten Versuchsdurchgang in synchronisierter Form zeigen eine statistisch signifikante Steigerung des Grauwertes von Tag 1 zu Tag 2 und in den folgenden Tagen des Zyklus eine Verminderung des

Grauwertes. Dies entspricht den Ergebnissen der Arbeit von TOWNSON und GINTHER (1989), in der 12 Ponystuten in den ersten 5 Tagen nach der Ovulation untersucht und ebenfalls eine Steigerung des Grauwertes in den ersten 48 Stunden des Zyklus beobachtet wurde. TESCHNER (2008) beschreibt einen Anstieg des Grauwertes von besamten Stuten sogar bis Tag 5 und eine nachfolgende Verminderung der Echogenität. Im Gegensatz dazu wird bei PIERSON und GINTHER (1985a) der höchste Grauwert bereits am ersten Tag nach der Ovulation gemessen. Jedoch wurde in dieser Arbeit die Zuordnung eines Grauwertes ohne Computerunterstützung anhand einer subjektiv gewählten Skala von 1 - 8 vorgenommen. Beurteilt wurden nur die besonders stark echogenen Anteile der *Corpora lutea*. In den Arbeiten von TOWNSON und GINTHER (1989) und TESCHNER (2008) wurde die Auswertung jeweils an einem Computer mit einem Bildbearbeitungsprogramm durchgeführt, während in den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit die Graustufenanalyse unmittelbar im Ultraschallgerät durchgeführt wurde und daher der Situation einer zukünftigen Nutzung in der Praxis eher entspricht.

Im Durchgang 2 sind die Änderungen der Grauwerte bezüglich des zeitlichen Verlaufs nicht statistisch signifikant. Untersucht wurde in diesem Zyklus an den Tagen 1, 5, 10, 15 und 20. Da die eigenen Ergebnisse zeigen, dass die Zyklen der einzelnen Stuten deutliche Unterschiede in der Länge aufweisen, werden bei der Auswertung dieses Versuchsdurchgangs die Gelbkörper an unterschiedlichen Zeitpunkten ihrer Entwicklung miteinander verglichen. Somit kommt es zu keinen statistisch signifikanten Ergebnissen.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigen, dass es möglich ist, den Grauwert des Gelbkörpers im Verlauf des Zyklus zu bestimmen. Einzelne Messwerte eines Tieres lassen sich jedoch nicht einem bestimmten Zyklusstand bzw. Funktionszustand des Gelbkörpers zuordnen.

### **5.3.3 MUTTERMUND**

Trotz der großen Bedeutung der equinen Zervix für die Reproduktion ist diese bisher nur wenig erforscht (KATILA, 2012).

Die Ergebnisse der Untersuchungen am Muttermund zeigen, dass dieser während des Östrus relaxiert und im Diöstrus fester formiert ist, allerdings mit von Stute zu Stute unterschiedlicher Manifestation. Damit werden die Angaben von RÖDIGER und BOSTEDT (2004) sowie ZENT und STEINER (2011) bestätigt. Darüber hinaus fällt auf, dass im Diöstrus einzig bei Stute 6 der Muttermund zapfenförmig, bei allen anderen Stuten rosettenförmig wird. Da am Muttermund ein Untersuchungsintervall von 2 Tagen gewählt wurde, könnte es sein, dass der Muttermund in zapfenförmiger Form bei den anderen Stuten aufgetreten ist, aber nicht beobachtet wurde. Ein anderer Grund könnte der persistierende Gelbkörper dieser Stute sein. Dafür spricht, dass diese Stute in diesem Durchgang die höchste Plasmaprogesteronkonzentration zeigte. Im zweiten Versuchsdurchgang war die Plasmaprogesteronkonzentration nicht höher als die der anderen Stuten. Allerdings wurden die Untersuchungen nur an jedem fünften Tag durchgeführt. Ein möglicher Zusammenhang müsste in weiteren Studien untersucht werden.

### **5.3.4 HORMONELLER VERLAUF**

TOWNSON et al. (1989) beschreiben den Anstieg der Plasmaprogesteronkonzentration in den ersten 96 Stunden der Gelbkörperentwicklung als statistisch signifikant. In den Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit änderte sich sowohl im synchronisierten Zyklus des Durchgangs 1 als auch im Durchgang 2 der geometrische Mittelwert der Progesteronkonzentrationen aller 7 Stuten im Verlauf des gesamten Zyklus statistisch signifikant ( $p < 0,0001$ ) und bestätigt somit die Ergebnisse von TOWNSON et al. (1989).

Die Plasmaprogesteronwerte der Stuten 2 und 3 lagen bereits am ersten Tag der Untersuchungen über 1 ng/ml (Stute 2: 6,19 ng/ml, Stute 3: 1,27 ng/ml). Ursache dafür könnte eine bereits weit fortgeschrittene Luteinisierung der Granulosazellen des Follikels zum Zeitpunkt der Untersuchungen sein. KAISER (1998) konnte in ihren

Untersuchungen ähnliche Streuungen der Steroidkonzentrationen im Serum bei Stuten mit persistierenden Follikeln beobachten. Die Follikel der beiden oben genannten Stuten ovulierten allerdings normal.

Bei den zwei Zyklen mit Doppelovulationen erfolgte einmal eine beidseitig asynchrone und einmal eine beidseitig synchrone Ovulation. Bei der asynchronen Ovulation bildete sich der Gelbkörper aus der ersten Ovulation bereits nach 7 Tagen zurück. Die Plasmaprogesteronkonzentration reduzierte sich deutlich von 12,8 ng/ml an Tag 6 auf 3,47 ng/ml an Tag 8 des Zyklus und stieg im weiteren Verlauf des Zyklus nicht mehr über 3,62 ng/ml.

Bei der beidseitig synchronen Ovulation konnte der eine Gelbkörper bis Tag 16, der andere bis Tag 22 und somit über den gesamten Zyklus dargestellt werden. Auch in diesem Zyklus verringerte sich die Plasmaprogesteronkonzentration nach Luteolyse des ersten Gelbkörpers deutlich von 11,14 ng/ml auf 3,21 ng/ml an Tag 16 und unter 2 ng/ml ab Tag 17 des Zyklus. In diesem Zyklus war die maximale Plasmaprogesteronkonzentration mit 19,97 ng/ml höher als in den Zyklen der anderen Stuten (maximale Plasmaprogesteronkonzentrationen zwischen 8,91 ng/ml und 14,66 ng/ml). Eine Ausnahme bildet der Zyklus von Stute 6 mit persistierendem Gelbkörper, in diesem Zyklus wurden Werte bis 24,76 ng/ml gemessen.

HOHENHAUS und BOSTEDT (1992) konnten in ihren Untersuchungen in acht Zyklen von 135 untersuchten Zyklen je eine Doppelovulation beobachten. Sie stellten fest, dass die Progesteronkonzentration bei asynchroner Ovulation nach Ovulation des ersten Follikels nur gering und erst nach Ovulation des zweiten Follikels deutlich über 1 ng/ml anstieg. Da sie die Plasmaprogesteronkonzentration nur bis zur Ovulation des zweiten Follikels untersuchten, konnten keine Aussagen über den weiteren Verlauf der Progesteronkonzentration im Zyklus getroffen werden.

Die Untersuchung zur vorliegenden Arbeit lassen vermuten, dass die Bildung eines zweiten Gelbkörpers zu höheren Plasmaprogesteronkonzentrationen im Zyklus führt, als bei Vorhandensein eines einzelnen Gelbkörpers.

Nach KÄHN (2004) entwickelt sich ein Teil der anovulatorischen Follikel zu hämorrhagischen Follikeln, der andere Teil luteinisiert. Die Luteinisierung führt zur Bildung einer gelbkörperähnlichen Struktur mit Progesteronproduktion.

Der maximale Plasmaprogesterongehalt der Stute mit einem Gelbkörper nach physiologischer Ovulation und einem anovulatorischen luteinisierenden Follikel war mit 14,66 ng/ml nicht höher als in den Zyklen der Stuten mit nur einem Gelbkörper. Der anovulatorische luteinisierende Follikel war bis Tag 13 darstellbar, der Gelbkörper auf dem anderen Ovar bis zum Ende des Zyklus. Der maximale Plasmaprogesterongehalt betrug an Tag 11 des Zyklus 14,66 ng/ml. Die Messungen ergaben einen Abfall von Tag 11 (14,66 ng/ml) zu Tag 12 (12,51 ng/ml). Weitaus deutlichere Verringerungen der Plasmaprogesteronkonzentrationen traten zwischen Tag 13 (11,97 ng/ml), Tag 14 (5,75 ng/ml) und Tag 15 (1,43 ng/ml) auf. In den restlichen Tagen des Zyklus lag der Wert immer unter 1 ng/ml. Die Luteolyse des luteinisierten Follikels begann bereits ab Tag 12, die des Gelbkörpers nach physiologischer Ovulation ab Tag 14. Diese Ergebnisse lassen keine eindeutigen Aussagen darüber zu, in wieweit ein luteinisierte Follikel zur Plasmaprogesteronkonzentration beiträgt.

### **5.3.5 KORRELATIONEN**

TOM et al. (1998a) untersuchten beim Rind den Zusammenhang zwischen dem mittleren Grauwert des Gelbkörpers und der Plasmaprogesteronkonzentration. Sie stellten eine negative Korrelation fest und folgerten, dass quantitative Änderungen des Grauwertes mit Änderungen der Plasmaprogesteronkonzentration einhergehen. Bei der Stute wurden Korrelationsanalysen zwischen der Hormonkonzentration im Blut und dem Grauwert des Endometriums durchgeführt (LORBER, 1999; BRAGG WEVER et al., 2002). Untersuchungen zur Korrelation zwischen dem Grauwert des Gelbkörpers und der Plasmaprogesteron- bzw. Plasmaöstrogenkonzentration gibt es bisher nicht.

Die Ergebnisse der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zeigen, dass bei der Stute eine positive Korrelation zwischen dem Grauwert und der Plasmaprogesteronkonzentration besteht. Dies zeigte sich sowohl im synchronisierten Zyklus, als auch bei der Betrachtung aller Daten des ersten Durchgangs. Zwischen dem relativen Grauwert und der transformierten Plasmaprogesteronkonzentration ist die Korrelation noch signifikanter. Dieser

Umstand erhöht die Wahrscheinlichkeit des positiven Zusammenhangs zwischen Grauwert und Plasmaprogesteronkonzentration.

Eine mögliche Begründung für diese Korrelation ist die zu- und abnehmende Vaskularisierung des Gelbkörpers im Verlauf des Zyklus. Durch diese kommt es zu Änderungen in der Gewebestruktur, die sich im Grauwert widerspiegeln. Da die Produktivität des Gelbkörpers eng mit seiner Vaskularisierung zusammenhängt (MIRO, 2012), ist es möglich, dass Änderungen der Plasmaprogesteronkonzentration mit dem Grauwert des Gelbkörpers korrelieren.

Im zweiten Durchgang korrelierten die beiden Größen nicht. Ein Grund dafür könnte sein, dass ohne Rücksicht auf die unterschiedliche Länge der Zyklen der einzelnen Stuten an den Zyklustagen 1, 5, 10, 15 und 20 untersucht und somit unterschiedliche Entwicklungsstadien der Gelbkörper miteinander verglichen wurden. Es ist offensichtlich wichtig, bei der Auswertung eines jeden Zyklus die individuellen Parameter (Gesamtdauer, Wertenniveaus etc.) zu berücksichtigen.

Die Korrelationsanalyse des Grauwertes und der Östrogenkonzentration im Plasma erbrachte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang. Eine mögliche Ursache dafür könnten die im Zyklus zeitlich nicht genau eingrenzbaeren Konzentrationszu- und -abnahmen von Östradiol-17 $\beta$  im Blutplasma sein (HANDLER und AURICH, 2009).

Die Formation des Muttermundes unterliegt dem Einfluss ovarieller Steroidhormone, wobei Progesteron den Muttermund schließt und strafft, während er unter Östrogeneinfluss dilatiert und relaxiert (KATILA, 2012). Nach WAELCHI et al. (1994) ist die Beurteilung des Zyklusstandes der Stute nur aufgrund der Zervikalbeschaffenheit nicht ausreichend, da nicht nur ovarielle Steroidhormone, sondern auch andere Faktoren, wie beispielsweise vorangegangene Geburten, einen Einfluss haben. Aus ihren Untersuchungen folgerten sie, dass die Plasmakonzentration von Progesteron und das Verhältnis von Östradiol-17 $\beta$  zu Progesteron zur Unterscheidung von Östrus und Interöstrus besser geeignet ist, als die Plasmakonzentration von Östradiol-17 $\beta$ .

Nach den Ergebnissen der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit gibt es weder bei Betrachtung aller Daten des Durchgang 1, noch im Durchgang 2 einen

statistischen Zusammenhang zwischen der Formation des äußeren Muttermundes und der Plasmaöstrogenkonzentration. Einzig zwischen der transformierten Plasma-Östradiol-17 $\beta$  Konzentration und der Formation des äußeren Muttermundes zeigt sich ein schwach signifikanter Zusammenhang. Im Gegensatz dazu war der Zusammenhang zwischen der Plasmaprogesteronkonzentration und der Formation des Muttermundes im Durchgang 1 sowohl bei Betrachtung aller Daten, als auch im synchronisierten Zyklus hoch signifikant. Es korrelieren niedrige Plasmaprogesteronkonzentrationen mit einem schlaffen oder verlaufenden Muttermund, hohe Konzentrationen mit festem, also rosetten- bzw. zapfenförmigem Muttermund. Im Durchgang 2 war dieser Zusammenhang schwach signifikant, vermutlich mit gleicher Begründung wie oben beim Zusammenhang von Grauwert und Plasmaöstrogenkonzentration, d. h. aufgrund der Datenerhebung in nicht vergleichbaren Zyklusphasen. Zwischen dem Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten und der Formation des Muttermundes konnte im Durchgang 1 bei Betrachtung aller Daten ein hoch signifikanter Zusammenhang dargestellt werden, d. h. es korreliert ein niedriger Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotient mit schlaffem oder verlaufendem Muttermund, ein hoher Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotient mit rosetten- bzw. zapfenförmigem Muttermund. Dieser Zusammenhang existiert im Durchgang 2 nicht. Somit bestätigt die vorliegende Arbeit die Ergebnisse von WAELCHI et al. (1994). Eine weitere Hypothese war, dass der Grauwert des Gelbkörpers mit der Formation des Muttermundes korreliert. Dies konnte bei Betrachtung aller Daten des ersten Durchgangs und des relativen Grauwertes bestätigt werden. Der gemessene Grauwert des Gelbkörpers korreliert im Durchgang 1 weder bei Betrachtung aller Daten noch in synchronisierter Form mit der Formation des Muttermundes. Wird also durch die Bildung des relativen Grauwertes der Einfluss der unterschiedlichen Werteneiveaus der Stuten eliminiert und somit die Vergleichbarkeit der Grauwertangaben aller Stuten hergestellt, kann diese Hypothese bestätigt werden.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu überprüfen, ob mittels quantitativer Graustufenanalyse eine Objektivierung sonographisch erhobener Befunde des *Corpus luteum* der Stute und somit Rückschlüsse auf den Zyklusstand möglich sind. Weiter sollte der Zusammenhang zwischen dem Wert der Graustufenanalyse am Gelbkörper und der Plasmakonzentration von Progesteron bzw. Östradiol-17 $\beta$  und zwischen dem Graustufenwert und der Formation des äußeren Muttermundes ermittelt werden. Schließlich sollte der Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration von Progesteron bzw. Östradiol-17 $\beta$  und der Formation des Muttermundes überprüft werden.

Für die Untersuchungen standen 7 Stuten im Alter von drei bis siebzehn Jahren unterschiedlicher Rassenzugehörigkeit zur Verfügung.

Da die Zyklusdauer von Stute zu Stute und von Zyklus zu Zyklus stark differiert, wurden die Zyklen für einen Teil der Auswertung hinsichtlich der Anzahl der in die Auswertung aufgenommenen Tage vereinheitlicht und synchronisiert.

Folgende relevante Ergebnisse wurden erzielt:

- Die Mittelwerte der Grauwerte von Ovar- und Gelbkörpergewebe unterscheiden sich an den Zyklustagen 5, 10 und 17 statistisch signifikant ( $p = 0,01$ ). Der Grauwert des Gelbkörpergewebes ändert sich in dieser Zeit, der des Ovargewebes nicht ( $p = 0,108$ ). Ovar- und Gelbkörpergewebe lassen sich also sicher mittels Graustufenanalyse unterscheiden.
- Der Grauwert des equinen Gelbkörpers kann im Verlauf des Zyklus bestimmt werden. Einzelne Messwerte eines Tieres lassen sich jedoch nicht einem bestimmten Zyklusstand zuordnen.
- Der Druck, der durch den Untersuchenden bei der sonographischen Untersuchung aufgewendet wird, spielt für das Ergebnis der Grauwertanalyse am equinen Ovar nur eine untergeordnete Rolle, da weder bei einem sehr hohem noch bei sehr niedrigem Druck ein auswertbares Bild erstellt werden kann. Dabei bewirkt eine Verminderung des Druckes die Abnahme der Echogenität, so dass der Gelbkörper nicht mehr eindeutig identifizierbar ist. Bei Erhöhung des Druckes kann das Ovar nicht ausreichend fixiert werden und entgleitet der untersuchenden Hand.

- Die Zyklen der einzelnen Stuten variieren in der Länge und in der Zeitdauer der Darstellbarkeit der *Corpora lutea*. Auch das Erscheinungsbild der *Corpora lutea* ist mitunter sehr variabel. Dabei können auch die Gelbkörper zweier aufeinanderfolgender Zyklen derselben Stute stark voneinander abweichen.
- Bei Änderungen von Größe und Echogenität des Gelbkörpers können nicht zwangsläufig Rückschlüsse auf den Beginn der Luteolyse getroffen werden.
- Der Grauwert des equinen *Corpus luteum* zeigt eine signifikante Steigerung von Tag 1 zu Tag 2 des Zyklus und verringert sich in den folgenden Tagen des Zyklus. Die Veränderungen des Grauwertes über die Zeit sind statistisch signifikant ( $p = 0,0066$ ).
- Der Muttermund der Stute ist während des Östrus relaxiert und im Diöstrus kontrahiert, allerdings mit individueller Ausprägung.
- Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen ergaben einen statistisch signifikanten positiven Zusammenhang zwischen dem Grauwert des Gelbkörpers und der Plasmaprogesteronkonzentration ( $r = 0,301$ ,  $p = 0,006$ ). Ein ebenfalls hoch signifikanter Zusammenhang besteht zwischen der Formation des äußeren Muttermundes und der Plasmaprogesteronkonzentration ( $r_s = 0,7239$ ,  $p < 0,0001$ ), wobei eine niedrige Plasmaprogesteronkonzentration mit einem schlaffen oder verlaufenden Muttermund, hohe Konzentrationen mit festem, also rosetten- bzw. zapfenförmigem Muttermund korrelieren.
- Der Zusammenhang zwischen Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotienten und der Formation des Muttermundes erwies sich als hoch signifikant ( $p = 0,005$ ), es korreliert ein niedriger Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotient mit schlaffem oder verlaufendem Muttermund, ein hoher Progesteron/Östradiol-17 $\beta$ -Quotient mit rosetten- bzw. zapfenförmigem Muttermund.

Es konnte gezeigt werden, dass sich der Gelbkörper der Stute durch sonographische Grauwertanalyse sicher vom umgebenden Ovargewebe differenzieren lässt. Bisher ist es jedoch nicht gelungen, anhand einzelner im Zyklus erhobener Grauwerte den Zyklusstand der Stute zu ermitteln.

## 7 SUMMARY

The objective of this study was to analyze whether it is possible to perform an objectification of ultrasonically collected data of the *corpus luteum* of a female horse via quantitative ultrasonographic gray-scale analysis and thus draw a conclusion on the state of oestrus cycle. Additionally, the connection between the value of the gray-scale analysis of the *corpus luteum* and the plasma concentration of progesterone and oestradiol-17 $\beta$ , as well as the gray-scale value and the formation of the *portio vaginalis cervicis* should be determined. Finally, the connection between the plasma concentration of progesterone and oestradiol-17 $\beta$  and the formation of the cervix should be analyzed.

For the examination seven female horses of different race and with an age of three to seventeen years were used.

Since the cycle duration differs strongly between each mare and each individual cycle, the cycles were standardized and synchronized regarding the number of days included in the evaluation.

The following relevant results were obtained:

- The difference of the mean gray-scale values of ovarian and *corpus luteum* tissue are statistically significant on cycle days 5, 10 and 17 ( $p = 0.01$ ). The gray-scale value of the *corpus luteum* tissue changes over this time, whereas the ovarian tissue does not ( $p = 0.108$ ). Thus, ovarian and *corpus luteum* tissue may be safely distinguished via gray-scale analysis.
- The gray-scale value of the equine *corpus luteum* can be determined during the course of the cycle. Individually measured values of an animal however, cannot be correlated to a certain state of oestrus cycle.
- The pressure invested by the examiner during an ultrasonic examination plays a minor role for the result of the gray-scale analysis on the equine ovary, as no evaluable picture can be generated using either very high or very low pressure. Here, a reduction of pressure leads to a decrease of echogenicity so that the *corpus luteum* cannot be clearly identified. When pressure is increased, the ovary may not be retained sufficiently and thus slips from the examiner's hands.
- The cycles of the individual mares vary in length and the time frame of presentability of the *corpora lutea*. The appearance of the *corpora lutea* is also

highly variable and may already differ significantly between two consecutive cycles of the same mare.

- Changes in size and echogenicity of the *corpus luteum* do not necessarily give evidence for an initiation of luteolysis.
- The gray-scale value of the equine *corpus luteum* displays a significant increase from day 1 to day 2 of the cycle and decreases over the following days. The changes of the gray-scale value over time are statistically significant ( $p = 0.0066$ ).
- The cervix of the female horse is relaxed during the oestrus and contracted during the dioestrus, but with individual changes.
- The results of the correlation studies displayed a statistically significant positive correlation between the gray-scale value of the *corpus luteum* and the plasma concentration of progesterone ( $r = 0.301$ ,  $p = 0.006$ ). Furthermore, there is a highly significant correlation between the formation of the *portio vaginalis cervicis* and the plasma concentration of progesterone ( $r_s = 0.7239$ ,  $p < 0.0001$ ). Here, a low progesterone concentration correlates with a flaccid or completely relaxed cervix and a high concentration with a firm, rosette- or cone shaped cervix.
- The correlation of the progesterone/oestradiol-17 $\beta$  quotient and the formation of the cervix proved to be highly significant ( $p = 0.005$ ), a low progesterone/oestradiol-17 $\beta$  quotient correlates with a flaccid or completely relaxed cervix and a high progesterone/oestradiol-17 $\beta$  quotient with a firm, rosette- or cone shaped cervix.

It could be demonstrated that the *corpus luteum* of the mare can be differentiated from the surrounding ovarian tissue by ultrasonic gray-scale analysis. So far it was not possible to determine the state of oestrus cycle by means of single gray-scale values collected during the cycles.

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

ALLEN, W. E.; ARBEID, P. E.; KOOROS, K.; PYCOCK, J. F. (1987)

Ultrasonic appearance of the equine *corpus haemorrhagicum*

Veterinary Record 121, 422-423

ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. (1987)

Secretion rates and short-term patterns of gonadotrophin-releasing hormone, FSH and LH throughout the periovulatory period in the mare

Journal of Endocrinology 114, 351-362

AURICH, C.; AURICH, J. E.; KLUG, E. (1993)

Möglichkeiten der Zyklussteuerung beim Pferd

Der Praktische Tierarzt 11, 1001-1008

AURICH, C.; KLUG, E. (1993)

Endokrinologie des Sexualzyklus beim Pferd

Der Praktische Tierarzt 10, 889-895

BAE, S. E.; WATSON, E. D. (2003)

A light microscopic and ultrastructural study on the presence and location of oxytocin in the equine endometrium

Theriogenology 60, 909-921

BADER, W.; BÖHMER, S.; OTTO, W. R.; DEGENHARDT, F.; SCHNEIDER, J. (1994)

Texturanalyse: Ein neues Verfahren zur Beurteilung sonographisch darstellbarer Herdbefunde der Mamma

Bildgebung 61, 284-290

BADER, W.; BOHMER, S.; VAN LEEUWEN, P.; HACKMANN, J.; WESTHOF, G.; HATZMANN, W. (2000)

Does texture analysis improve breast ultrasound precision?

Ultrasound in Obstetrics and Gynecology 15, 311-316

BANGEN, M. (2011)

Sonomorphologische Untersuchung des Hengsthodens zur Überprüfung des Fertilitätsstatus

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Dissertation

BARTMANN, C. P.; WISSDORF, H.; ÜBERMUTH, K. (2002)

Weibliche Geschlechtsorgane, Milchdrüse, Euter und Harnröhre

In: WISSDORF, H.; GERHARDS, H.; HUSKAMP, B.; DEEGEN, E. (Hrsg.)

Praxisorientierte Anatomie und Propädeutik des Pferdes, 2. Auflage

Verlag M.&H. Schaper, Hannover, Kapitel 15, 779-807

BECKER, W.; FRANK, R.; BÖRNER, W. (1989)

Bedeutung der quantitativen Grauwertanalyse des Sonogramms bei „diffusen“ Erkrankungen der Schilddrüse

Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren  
150, 66-71

BEHREND-ADAM, C. Y.; ADAMS, M. H.; SIMPSON, K. S.; McDOWELL, K. J. (1999)

Oxytocin-neurophysin I mRNA abundance in equine uterine endometrium

Domestic Animal Endocrinology 16, 183-192

BERGFELD, D. R.; GINTHER, O. J. (1993)

Relationships between FSH surges and follicular waves during the estrous cycle in mares

Theriogenology Vol. 39, 781-796

BERTMANN, J. (2005)

Untersuchungen über den uterinen Blutfluss und die endometriale Echostruktur während der Frühgravidität des Rindes unter Berücksichtigung der Stickstoffmonoxid-Synthase-mRNA-Expression

München, Ludwig-Maximilians-Universität, Dissertation

BLECK, J. S.; BUNCK, C.; Gebel, M.; BOOZARI, B.; OCKENGA, J.; MEIER, P. (1998)

Parametric ultrasound of the pancreas: Changes of textural parameters dependent on clinical stages

Gastroenterology 114, A442

BLECK, J. S.; GEBEL, M.; SATRAPA, J. D.; CASELITZ, M.; WESTHOFF-BLECK, M.; WAGNER, S.; MANNS, M. (1997a)

Ansätze zur Objektivierung der Gewebeunterscheidbarkeit von Ultraschallgeräten als Beitrag zur Qualitätssicherung

Ultraschall in der Medizin 18, 238-243

BLECK, J. S.; KLINDTWORD, C.; GEBEL, M.; WÜBBELT, P.; HECKER, H.; WESTHOFF-BLECK, M.; STRASSBURG, C.; RADEMACHER, J.; WAGNER, S.; CASELITZ, M.; ATZPODIEN, J.; MANNS, M. (1997b)

Parametric ultrasound in several forms of splenomegaly relevant for gastroenterology  
Gastroenterology 112, 1228

BLECK, J. S.; GEBEL, M.; MANNS, M. P. (2000)

Quantitative Sonographie

Der Internist 41, 10-16

BÖHM, J. (2013)

Einfluss einer perinatalen Zearalenonbelastung auf die körperliche Entwicklung sowie labordiagnostische und spermatologische Parameter von Ebern

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Dissertation

BOWMAN, T. R. (2011)

Direct rectal palpation

In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D.

Equine Reproduction Second Edition

Wiley-Blackwell, 1904-1913

BRAGG WEVER, N. D.; PIERSON, R. A.; CARD, C. E. (2002)  
Assessment of endometrial edema and echotexture in natural and hormonally  
manipulated estrus in mares  
Theriogenology 58, 507-510

BREUER, H. (1996)  
dtv-Atlas Physik, Band 2  
Deutscher Taschenbuchverlag, München, 95-101

BRÜCK, I. (1994)  
Ultraschalldiagnostik am Genitaltrakt der Stute  
Pferdeheilkunde 10, 161-172

BUDRAS, K-D.; LIEBICH, H.-G. (2009)  
Weibliche Geschlechtsorgane  
In: BUDRAS, K-D.; RÖCK, S.  
Atlas der Anatomie des Pferdes, 6. Auflage  
Verlag Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co KG, Kapitel 9, 72-87

BURGER R. E.; FROST, C. D.; DALTON, K. J. (1987)  
Computerized ultrasonic image analysis for placental characterization in normal and  
hypertensive pregnancies  
International journal of bio-medical computing 21, 95-111

BUSCH, W.; BADER, H. (2006)  
Fortpflanzungsstörungen bei der Stute und Krankheiten der weiblichen  
Geschlechtsorgane  
In: DIETZ, O.; HUSKAMP, B.  
Handbuch Pferdepraxis, 3. Auflage  
Enke Verlag, Stuttgart, Kapitel 30, 590-619

CHANDOLIA, R. K.; HONARAMOOZ, A.; ORNEKE, B. C.; PIERSON, R.; BEARD,

A. P.; RAWLINGS, N. C. (1997)

Assessment of development of the testes and accessory glands by ultrasonography in bull calves and associated endocrine changes

Theriogenology 48, 119-132

CHEN, D.; CHANG, R.; HUANG, Y.; CHOU, Y.; TIU, Ch.; TSAI, P. (2000)

Texture analysis of breast tumors on sonograms

Seminars in Ultrasound, CT and MRI 21, 308–316

CLAUSSEN, C.; LOCHNER B. (1985)

Dynamic computed tomography

Springer Verlag, Berlin, S. 3, 4, 11

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. (2010)

Risk factors for the development of haemorrhagic anovulatory follicles in the mare

Reproduction in Domestic Animals 45, 473-480

CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J. R. (2012)

Ultrasound confirmation of ovulation in mares: a normal *corpus luteum* or a haemorrhagic anovulatory follicle?

Reproduction in Domestic Animals 48(1), 105-111

DELORME, S.; ZUNA, I. (1995)

Quantitative Auswerteverfahren in der B-Bild- und Farbdopplersonographie

Ultraschall in Klinik und Praxis 10, 50-61

DÖCKE, F. (1982)

Neurohormonale Grundlagen der Fortpflanzung beim Pferd

Monatshefte für Veterinärmedizin 37, 185-192

EBERSPÄCHER, J. (1991)

Ultraschall in der bildgebenden Diagnostik

Der Praktische Tierarzt 9, 739-744

ENBERGS, H. (1981)

Auch bei Stuten: Fruchtbarkeitsüberwachung durch den Progesterontest  
Tierzüchter 33, 16-19

EVANS, M. J.; IRVINE, C. H. G. (1975)

Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare  
Journal of Reproduction and Fertility, Suppl. 23, 193-200

EVANS, A. C. O.; PIERSON, R. A.; GARCIA, A.; McDOUGALL, L. M.; HRUDKA, F.; RAWLINGS, N. C. (1996)

Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls  
Theriogenology 46, 345-357

FAY, J. E.; DOUGLAS, R. H. (1987)

Changes in thecal and granulosa cell LH and FSH receptor content associated with follicular fluid and peripheral plasma gonadotropin and steroid hormone concentrations in preovulatory follicles of mares  
Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 35, 169-181

FEIBER, H.; NAUTH, P.; GACA, A.; LOCH, E. G.; WENDEROTH, U. K. (1984)

Prostatasonographie: Computergestützte Bildanalyse  
Ultraschalldiagnostik 84, 146-147

FERDEGHINI, E. M.; MORELLI, G.; DISTANTE, A.; GIANNOTTI, P.; BENASSI, A. (1995)

Assessment of normal testis growth by quantitative texture analysis of 2-D echo images  
Medical Engineering and Physics 17, 523-528

FERDEGHINI, E. M.; PINAMONTI, B.; PICANO, E.; LATTANZI, F.; BUSSANI, R.;

SLAVICH, G.; BENASSI, A.; CAMERINI, F.; LANDINI, L.; L'ABBATE, A. (1991)  
Quantitative texture analysis in echocardiography: Application to the diagnosis of myocarditis  
Journal of Clinical Ultrasound 19, 263-270

FERREIRA-DIAS, G. M.; SKARZYNSKI, D. J. (2008)  
Some aspects of regulation of luteal function and luteolysis in equine corpora lutea  
Pferdeheilkunde 24, 10-14

FITZGERALD, B. P.; AFFLECK, K. J.; BARROWS, S. P.; MURDOCH, W. L.;  
BARKER, K. B.; LOY, R. G. (1987)  
Changes in LH pulse frequency and amplitude in intact mares during the transition  
into the breeding season  
Journal of Reproduction and Fertility 79, 485-493

FOSTER, J. P.; EVANS, M. J.; IRVINE, C. H. G. (1979)  
Differential release of LH and FSH in cyclic mares in response to synthetic GnRH  
Journal of Reproduction and Fertility 56, 567-672

FROMMHOLD, H.; KOISCHWITZ, D. (1991)  
Sonographie des Abdomens. Radiologische Diagnostik Band VII  
2. Auflage, Verlag Thieme, Stuttgart

GARRA B. S.; KRASNER, B. H.; HORII, S. C.; ASCHER, S.; MUN, S. K.; ZEMAN, V.  
(1993)  
Improving the distinction between benign and malignant breast lesions: the value of  
sonographic texture analysis  
Ultrasonic Imaging 15, 267-285

GÄRTNER, T.; ZACHARIAS, M.; JENDERKA, K. V.; HEYNEMANN, H.; COBET, U.  
(1998)  
Geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung von Hoden und Prostata  
Der Radiologe 38, 424-433

GEBEL, M.; BLECK, J.; SCHMIDT, K.; RANFT, U. (1984)  
Digitale Verarbeitung von Ultraschall-Parallel-Scan-Bildern  
Ultraschalldiagnostik 84, 384-385

GEBEL, M.; KUBALE, R. (1982)  
Neue Möglichkeiten zur Klassifikation diffuser Lebererkrankungen  
Ultraschalldiagnostik 81, 119-120

GEISSLER, M.; DOLL, J.; GUILLAUME, R. (1975)  
Digitale Erfassung und Analyse der Echosignale des A- und B-Scans bei  
Ultraschalluntersuchungen  
Biomedizinische Technik 2, 235-236

GERWING, M. (1993)  
Physikalische und technische Grundlagen der Sonographie  
In: FRITSCH, R.; GERWING, M. (Hrsg.)  
Sonographie bei Hund und Katze  
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 2-27

GERTSCH, U. (1997)  
Bildanalytische Untersuchungen zur Bestimmung der Ödematisierung des Uterus bei  
der Stute  
Universität Bern, Veterinärmedizinische Fakultät, Dissertation

GIESE, W. (1997)  
Wellen  
in: GIESE, W. (Hrsg.):  
Kompendium der Physik für Veterinärmediziner  
Verlag Enke, Berlin, 81-94

GINTHER, O. J. (1979)  
Reproductive biology of the mare. Basic and applied aspects

McNaughton & Gunn, Ann Arbor, Michigan, 133-216

GINTHER, O. J. (1986)

Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare

Equiservices, 434 Garfoot Road.; Wisconsin, USA

GINTHER, O. J. (1988)

Ultrasonic imaging of equine ovarian follicles and corpora lutea

Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 4, 197-213

GINTHER, O. J. (1995)

Ultrasonic imaging and animal reproduction: Fundamentals, Book 1

Verlag Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin, USA

GINTHER, O. J. (2009)

A 40-year odyssey into the mysteries of equine luteolysis

Theriogenology 72, 591-598

GINTHER, O. J.; BEG, M. A. (2009)

Concentrations of circulating hormones normalized to pulses of a prostaglandin  $F_{2\alpha}$  metabolite during spontaneous luteolysis in mares

Theriogenology 72, 1111-1119

GINTHER, O. J.; BEG, M. A. (2011)

Hormone concentration changes temporally associated with the hour of transition from preluteolysis to luteolysis in mares

Animal Reproduction Science 129, 67-72

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; DONADEU, F. X.; KOT, K. (2001):

Follicle selection in monovular species

Biology of Reproduction 65 (3), 638-47

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. (1984)

Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: ovaries  
Journal of Equine Veterinary Science, 4, 11-16

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. (1985)  
Ultrasonic anatomy of equine ovaries  
Theriogenology 21, 471-483

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. (1989)  
Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares  
Journal of Equine Veterinary Science 9, 4-12

GINTHER, O. J.; SHRESTHAA, H. K.; BEG, M. A. (2010)  
Circulating hormone concentrations within a pulse of a metabolite of prostaglandin F<sub>2α</sub> during preluteolysis and early luteolysis in heifers  
Animal Reproduction Science 122, 253-258

GLATZEL, P. S.; HOUSSAIN, EL. K.; TIBARY, A. (1981)  
Pferde- und Eselhengste der marokkanischen Landespferde- und Maultierzucht, erste Ergebnisse aus dem Einsatz von Flüssig- und Gefriersamen für die Maultierproduktion  
Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 94, 445-449

GLATZEL, P. (1997)  
Fertilität und Fertilitätsstörungen der Stute  
In: WITZER, H. J. (Hrsg.)  
Krankheiten des Pferdes; 2. Vollständig überarbeitete Auflage  
Parey Buchverlag Berlin, 259-291

GOFF, A. K.; BASU, S.; KINDDAHL, H. (1984)  
Measurement of 11-ketotetranor PGF metabolites: an approach for monitoring prostaglandin F release in the mare.  
Theriogenology 21, 887-896

GRAUE, I. (2002)  
Computergestützte Graustufenanalyse sonographischer Befunde des  
Hodengewebes beim Bullen  
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

HAMM, B.; FOBBE, F. (1995)  
Maturation of the testis: Ultrasound evaluation  
Ultrasound in Medicine and Biology 21, 143-147

HAMMOND, J.; WODZICKI, K. (1941)  
Anatomical and histological changes during the oestrous cycle in the mare  
Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 130, 1-23

HANDLER, J. (2009)  
Gynäkologische Untersuchung (Zuchttauglichkeitsuntersuchung) bei der Stute  
In: AURICH, Ch. (Hrsg.)  
Reproduktionsmedizin beim Pferd, 2. Auflage  
Verlag Paul Parey, Stuttgart, Kapitel 3, 31-52

HANDLER J.; AURICH, J. (2009)  
Physiologie des Sexualzyklus der Stute  
In: AURICH, Ch. (Hrsg.)  
Reproduktionsmedizin beim Pferd, 2. Auflage  
Verlag Paul Parey, Stuttgart, Kapitel 2, 15-29

HARDOUIN, I.; LIEBACK, E.; HETZER, R. (1994)  
Klassifikationsverfahren zur Abstoßungsdiagnostik in echokardiographischen Bildern  
28. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomedizinische Technik, Rostock,  
22.-24..09.1994  
Biomed Tech, 39 (Supplement) 32-35

HARRISON, R. J. (1946)

The early development of the *corpus luteum* in the mare

Journal of Anatomy 80, 160-166.2

HERMES, R. (1998)

Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*)

und Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause

mittels computergestützter Graustufenanalyse

Berlin, Freie Universität, Dissertation

HINES, K. K. (1987)

Endocrine communication in the mare

Journal of Equine Veterinary Science 7, 229-233

HINES, K. K.; FITZGERALD, B. P.; LOY, R. G. (1987):

Effect of pulsatile gonadotropin release on mean serum LH and FSH in periparturient mares.

Journal of Reproduction and Fertility, Supplement, 35, 635-640

HÖHNE, K. (2002)

Ultrasonographische Untersuchung von Hoden und Prostata des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Graustufenanalyse

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

HOFFMANN, B.; HÖVELER, R.; HASAN, S. H.; FAILING, K. (1992)

Ovarian and pituitary function in dogs after hysterectomy

Journal of Reproduction and Fertility 96, 837-845

HOFFMANN, B.; KYREIN, H. J.; ENDER M. L. (1973)

An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunoassay applied applied to bovine peripheral plasma

Hormone Research 4, 302-310

HOHENHAUS, M. U.; BOSTEDT, H. (1992)

Zur Doppelovulation bei Stuten

Tierärztliche Praxis 20, 405-409

HOHENHAUS, M. U.; LEHMANN, B. (1990)

Ovaraufbau und Funktion bei der Stute aus klinischer Sicht unter besonderer Berücksichtigung der Ultrasonographie

Tierärztliche Praxis 18, 155-163

HUCHZERMEYER, S. (2003)

Funktionelle und morphologische Studien über die equine Zervix im Stadium der Ingravidität

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Dissertation

HUCHZERMEYER, S.; WEHREND, A.; BOSTEDT, H. (2005)

Histomorphology of the Equine Cervix

Anatomia, Histologia, Embryologia 34, 38-41

IRVINE, C. H. G. (1981)

Endocrinology of the estrous cycle of the mare: Applications to embryo transfer

Theriogenology 15, 85-104

KÄHN, W. (2004)

Ultrasonography in the mare

In: KÄHN, W.

Veterinary Reproductive Ultrasonography

Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG, Hannover, 11-37

KÄHN, W.; LEIDL, W. (1987)

Echographische Befunde an Ovarien von Stuten

Tierärztliche Umschau 42, 257-266

KAISER, B. (1998)

Vergleichende Untersuchungen an persistierenden und präovulatorischen Follikeln bei der Stute

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

KANITZ, W. (2001)

Charakterisierung biologischer Grundlagen für die Entwicklung einer neuen Reproduktionstechnik –in-vitro-Embryoerzeugung- beim Pferd (*Equus Przewalskii* Caballus)

Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Habilitationsschrift

KARG, H.; SCHAMS D.; HOFFMANN B.; CLAUS R. (1979)

Neue Erkenntnisse der Endokrinologie und Fortpflanzung.

Praktischer Tierarzt 60, 561-572

KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; PIERSON, R. A.; COULTER, G. H. (2001)

Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls

Canadian Journal of Veterinary Research 65, 111-115

KATILA, T. (2012)

The equine cervix

Pferdeheilkunde 28, 35-38

KAUFFOLD, J.; VON DEM BUSSCHE B.; FAILING, K.; WEHREND, A.; WENDT, M. (2010)

Use of B-mode Ultrasound and Grey-Scale Analysis to Study Uterine Echogenicity in the Pig

Journal of Reproduction and Development 56, 444–448

KAUFFOLD, J.; KESSLER, M.; RICHTER, A.; WEHREND, A. (2011)

B-mode Ultrasound and Grey-Scale Analysis of the Epididymis in Boars, and the Relationship to Semen Parameters

Reproduction in Domestic Animals 46, 108-113

KESSLER, M. R. H. (2010)

Sonographische Untersuchung des Epididymis beim Eber

Gießen, Justus-Liebig-Universität, Dissertation

KING, S. S.; EVANS, J. W. (1987)

Effects of arachidonic acid and oxytocin on equine endometrial PGF<sub>2</sub>α during normal cycles and pseudopregnancy

Journal of Equine Veterinary Science 7, 303-308

KLEIN, C.; ENNEN, S.; HUCHZEMEYER, R.; WEISS, R.; WEHREND, A. (2009)

Untersuchungen zur mikrobiellen Barrierefunktion des Hymenalrings und der Zervix bei der Stute

Tierärztliche Praxis 37, 113-117

KLUG, E.; ANDRES, E. F. (1987)

Untersuchung zur diagnostischen Terminierung des Ovulationszeitpunktes bei der Stute

Praktischer Tierarzt 1, 28-32

KÖLBEL, G.; MEYER, M. C.; HESS, C. F.; KURTZ, B. (1987)

Das Binnenreflexmuster des normalen Pankreas

Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren

146, 415-419

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. (1999)

Weibliche Geschlechtsorgane (Organa genitalia feminina)

In: KÖNIG, H. E.; LIEBIG, H.-G.

Anatomie der Haussäugetiere, 1. Auflage

Verlag F.K. Schattauer, Stuttgart, Kapitel 11, 135-151

KRAMER, M. (2004)

Ultraschall

In: KRAMER, M. (Hrsg.)

Kompendium der Allgemeinen Veterinärchirurgie

Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG, Hannover, 100-109

KRETZSCHMAR, J. (2004)

Einfluss biologischer und methodischer Faktoren auf die Ergebnisse der Echotexturanalyse am Endometrium der Stute

München, Ludwig-Maximilians-Universität, Dissertation

LEIDL, W.; WÜRGAU, Th.; WOLFF, N.; BOUABID, C. (1992)

Klinische Aspekte der Ovarfunktion und ihrer Störungen bei der Stute

Tierärztliche Umschau 47, 63-66

LEISER, R. (1990)

Weibliche Geschlechtsorgane

In: MOSIMAN, W.; KOHLER, T.

Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 232-248

LIEBACK, E.; MEYER, R.; ROMANUIK, P.; VILSER, J.; GEISLER, W.; FÖRSTER, A.; NAWROCKI, M.; LINSS, G. (1989)

Ultrasonographische Diagnostik der Myokarditis mittels quantitativer Texturanalyse von zweidimensionalen Echokardiographiebildern

Zeitschrift für die gesamten Inneren Medizin und ihre Grenzgebiete 18, 484-487

LIEBACK, E.; NAWROCKI, M.; MEYER, R.; VILSER, J.; BELLACH, J.; HETZER, R. (1991)

Erkennung einer Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation durch echokardiographische Gewebecharakterisierung

Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie 5, 207-214

LIEBACK, E.; HARDOUIN, I.; MEYER, R.; BELLACH, J.; HETZER, R. (1996)  
Clinical value of echocardiographic tissue characterisation in the diagnosis of myocarditis  
European Heart Journal 17, 135-142

LIEBACK-ZIMMERMANN, E. (1993)  
Computergestützte sonographische Gewebedifferenzierung des Myokards  
In: HETZER, R. (Hrsg.)  
Fortschritte in der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie  
Steinkopff Verlag, Darmstadt, 135-147

LIEBICH, H-G.; KÖLLE, S. (2010)  
Weibliche Geschlechtsorgane  
In: LIEBICH, H-G.; BUDRAS, H-D.; KÖLLE, S.; MAIERL, J.; REESE, S.; ZENGERLING, G.  
Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel  
Verlag Schattauer, Stuttgart, 293-344

LIGNER, A. (2009)  
Charakterisierung von Besamungsbullen anhand der mehrdimensionalen Graustufenanalyse sonografischer Bilder des Genitales sowie einem erweiterten spermatologischen Untersuchungsspektrum  
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

LORBER, K. (1999)  
Ultrasonographische Gewebetexturanalyse des equinen Endometriums mit Hilfe einer computergestützten Graustufenanalyse  
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

LORBER, K. J.; BARTMANN, C. P.; KLUG, E.; BLAICH, U.; PETZOLD, S.; SCHOON, S.; HERMES, R. (1999)  
Ultrasonographic grey scale analysis (GSA) of the equine uterus - practical relevance for fertility prognosis

Pferdeheilkunde 6, 551-554

LORENZ, A.; ZABEL, H.-J.; SCHLAPS, D.; ZUNA, I.; RÄTH, U.; VOLK, J.; VAN KAICK, G.; LORENZ, W. J. (1984)

Gewebsanalyse mit Ultraschall-real-time-Geräten – Voraussetzungen eines sinnvollen Einsatzes

Ultraschalldiagnostik 84, 398-399

MARKOVIC, D.; PAVLOVIC, M.; PAVLOVIC, V. (2003)

Seasonality, folliculogenesis and luteogenesis in mare ovaries

Facta Universitatis, Series: Medicine and Biology 10, 120-126

McCUE, P. M. (1998)

Review of ovarian abnormalities in the mare

Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 40, 125-133

McCUE, P. M.; SQUIRES, E. L. (2002)

Persistent anovulatory follicles in the mare

Theriogenology 58, 541-543

McCUE, P. M.; SCOGGIN, C.F; LINDHOLM, A. R. G. (2011)

Estrus

In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D.

Equine Reproduction, Second edition

Verlag Wiley-Blackwell, 1716-1727

McPHERSON, D. D.; AYLWARD, P. E.; KNOSP, B. M.; BEAN, J. A.; KERBER, R. E.; COLLINS, S. M.; SKORTON, D. J. (1986)

Ultrasound characterisation of acute myocardial ischemia by quantitative texture analysis

Ultrasonic Imaging 8, 227-240

MEIER, H. P.; MINDER, H. P.; WEGMANN, Ch.; WEIDELI, U. (1985)  
Zur Ultraschalldiagnostik bei der gynäkologischen Untersuchung von Stuten  
Swiss Vet Schweizerische Zeitschrift für Veterinärmedizin 2, 8-15

MEINECKE, B. (2000)  
Allgemeine Endokrinologie, Reproduktion beim weiblichen Tier  
In: VON ENGELHARDT, W.; BREVES, G.  
Physiologie der Haustiere, 1. Auflage  
Enke Verlag, Stuttgart, 514-536

MERKT, H.; GÜNZEL, A.-R.; ABEL, W.; MATTOS, R. (1983)  
Echographie - eine Ergänzung der gynäkologischen Untersuchungsmethoden zur  
Zyklus- und Trächtigkeitsdiagnostik beim Pferd  
Deutsch tierärztliche Wochenschrift 90, 225-230

MERKT, H. (1986)  
Zwei Gutachten über Mastdarmrupturen bei Stuten  
Pferdeheilkunde 2, 6, 325-330

MERKT, H. (1992)  
Gutachten über einen Schadensfall (Mastdarmruptur), der sich bei einer  
Follikelkontrolle ereignete  
Pferdeheilkunde 8, 5, 305-306

MERKT, H.; KLUG, E. (1976)  
Fortpflanzungsprobleme im Rahmen der künstlichen Besamung beim Pferd  
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 83, 539-542

MILLER, K. F.; BERG, S. L.; SHARP, D. C.; GINTHER, O. J. (1980)  
Concentrations of circulating gonadotropins during various reproductive states in  
mares  
Biology of Reproduction 22, 744-750

MIRO, J. (2012)

Ovarian ultrasonography in the mare

Reproduction in Domestic Animals 47, 30-33

MODLICH, U. (1997)

Charakterisierung von Endothelzellen im zyklischen *Corpus luteum*: Untersuchung regressiver Endothelzellen und initiale Analyse eines neuen endothelzellspezifischen Oberflächenmoleküls.

Berlin, Freien Universität Berlin, Dissertation

MONTAVON, S. (1994)

Ultrasonography of the formation and development of the *corpus luteum* in the mare: review for the practitioner

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 136, 91-94

MORRIS, D. T. (1988)

An evaluation of the use of echotexture measurements for the tissue characterisation of ultrasonic images of in vivo human placentae

Ultrasound in Medicine and Biology 14, 387-395

MÜLLER-GÄRTNER, H.-W. (1986)

Grauerthistogrammanalyse in der Schilddrüsenonographie: Kritik an der visuellen Beurteilung der Echogenität

Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren 145, 283-287

NEWCOMBE, J. R. (1997)

The incidence of fluid in the post-ovulatory area and in the early *corpus luteum*

Journal of Equine Veterinary Sciences 17, 58-63

NISWENDER, G. D.; SCHWALL, R. H.; FITZ, T. A.; FARIN, C. E.; SAWYER, H. R. (1985)

Regulation of luteal function in domestic ruminants: new concepts.

Recent Progress in Hormone Research 41, 101-151

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; MCGUIRE, W. J.; BELFIORE, C. J.; WILTBANK, M. C. (1994)

Luteal function: the estrous cycle and early pregnancy.  
Biology of Reproduction 50, 239-247

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; McINTUSH, E. W.; (2000)

Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the *Corpus Luteum*  
Physiological Reviews 80, No. 1, 1-29

NYLAND, T. G.; MATTON, J. S. (1995)

Veterinary Diagnostic Ultrasound  
Verlag Saunders, London, 4-26

PALMER, E; DRIANCOURT, M. A. (1980)

Use of ultrasonic echography in equine gynecology  
Theriogenology 13, 203-216

PANTKE, K. H. P. (1990)

Charakterisierung von Sekretionsrhythmen der Gonadotropine in der venösen Drainage der Hypophyse bei der Stute  
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

PHARISS, B. B.; CORNETTE, J. C.; GUTNECHT, G. D. (1970)

Vascular control of luteal steroidogenesis  
Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 10, 97-103

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. (1985 a)

Ultrasonic evaluation of the *corpus luteum* of the mare  
Theriogenology 23, 795-806

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. (1985 b)  
Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare  
Theriogenology 24, 359-368

PINAMONTI, B.; PICANO, E.; FERDEGHINI, E. M.; LATTANZI, F.; SLAVICH, G.;  
LANDINI, L.; CAMERINI, F.; BENASSI, A.; DISTANTE, A.; L'ABBATE, A. (1989)  
Quantitative texture analysis in two-dimensional echocardiography: Application to the  
diagnosis of myocardial amyloidosis  
Journal of the American College of Cardiology 14, 666-671

POULSEN NAUTRUP, C. (1996)  
Physikalische Grundlagen, Technische Grundlagen, Sonographische Phänomene  
und Artefakte  
In: POULSEN NAUTRUP, C.; TOBIAS, R.  
Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze.  
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover, 21-75

RÖMER, A. (2006)  
Bewertung quantitativer sonografischer Gewebetypisierung und Längenbestimmung  
der Cervix uteri als neuer Prädiktor für Cervixinsuffizienz und Frühgeburtlichkeit  
Marburg, Philipps-Universität, Dissertation

PINAMONTI, B.; PICANO, E.; FERDEGHINI, E. M.; LATTANZI, F.; SLAVICH, G.;  
LANDINI, L.; CAMERINI, F.; BENASSI, A.; DISTANTE, A.; L'ABBATE, A. (1989)  
Quantitative texture analysis in two-dimensional echocardiography: Application to the  
diagnosis of myocardial amyloidosis  
Journal of the American College of Cardiology 14, 666-671

POWIS, R. L. (1998)  
Principles  
In: RANTANEN, N. W.; McKINNON, A. O. (Hrsg.)  
Equine diagnostic ultrasound  
Verlag Williams und Wilkens, Baltimore, 1-18

RÄTH, U.; ZUNA, I.; LIMBERG, B.; SCHLAPS, D.; LORENZ, A.; VAN KAICK, G.  
(1984)

Der Beitrag der Grauwertistogramm-Analyse zur sonographischen Diagnostik des  
diffusen Leberparenchymschadens  
Ultraschall 5, 94-97

REIF, S. (2002)

Untersuchungen zu den Verschlussverhältnissen im kaudalen Genitalkanal der Stute  
Berlin, Freie Universität Berlin, Dissertation

REYNOLDS, L. P.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; KILLILEA, S. D.; REDMER, D. A. (1994)  
Mitogenic factors of corpora lutea.

Progress in Growth Factor Research 5, 159-175

RÖDIGER, K.; BOSTEDT, H. (2004)

Die Follikeldynamik und deren endokrine Steuerung bei der Stute im Verlauf des  
Östrus.

Tierärztliche Praxis 60, 350-356

RUBERTE, J.; CARRETERO, A.; FERNANDEZ, M.; NAVARRO, M.; CAJA, G.;  
KIRCHNER, F.; SUCH, X. (1994)

Ultrasound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical  
section

Small Ruminant Research 13, 199-204

SCHLOMM, S. (2013)

Digitale Grauwertanalyse am Endometrium puerperaler Stuten  
Gießen, Justus-Liebig-Universität, Dissertation

SCHMAUDER, S. (2003)

Zyklus- und entzündungsbedingte Veränderungen der endometrialen Echostruktur  
beim Rind unter Berücksichtigung der Stickstoffmonoxid-Synthase-Expression

München, Ludwig-Maximilians-Universität, Dissertation

SCHMIDT, K. (1950):

Zur klinischen Physiologie des Sexualzyklus der Stute mit besonderer Berücksichtigung der Rosse und der Ovulation.

Monatsheft Veterinärmedizin 5, 221-224

SCHNORR, B.; KRESSIN, M. (2001)

Entwicklung und Bau der Eizellen

In: SCHNORR, B., KRESSIN, M.

Embryologie der Haustiere, 4. Auflage

Enke Verlag, Stuttgart, 14-21

SCHUMMER A.; VOLLMERHAUS B. (1987)

Harn- und Geschlechtsapparat.

In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 2

Hrsg.: NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, A.

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 300-420

SEAMANS, K. W.; SHARP, D. C. (1982)

Changes in equine follicular aromatase activity during transition from winter anoestrus.

Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 32, 225-233

SHARP, D. C.; GRUBAUGH, W. R. (1987)

Use of push-pull perfusion techniques in studies of gonadotropin-releasing hormone secretion in mares.

Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 35, 289-296

SINGH, J.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. (1997)

Ultrasound image attributes of the bovine *corpus luteum*: structural and functional correlates

Journal of Reproduction and Fertility 109, 35-44

SKORTON, D. J.; COLLINS, S. M. (1988)

Clinical potential of ultrasound tissue characterisation in cardiomyopathies  
Journal of the American Society of Echocardiography 1, 69-77

SOHN, C.; STOLZ, W.; BASTERT, G. (1992)

Erste Ergebnisse einer neuen Methode zur sonographischen Lungenreifediagnostik  
Ultraschall in der Medizin 13, 37-40

STEVENSON, K. R.; PARKINSON, T. J.; WATHES, D. C. (1991)

Measurement of oxytocin concentrations in plasma and ovarian extracts during the oestrous cycle of mares  
Journal of reproduction and fertility 93, 437-441

STOUT, T. A. E.; LAMMING, G. E.; ALLEN, W. R. (2000)

The uterus as a source of oxytocin in cyclic mares  
Journal of reproduction and fertility (Supplement) 56, 281-287

TAYLOR, F. G. R.; HILLYER, M. H. (2001)

Krankheiten des Genitaltrakts, Fortpflanzung und Trächtigkeit  
In: Klinische Diagnostik in der Pferdepraxis  
Schlütersche GmbH & Co. KG, Hannover, 133-156

TEKESIN, I.; MEYER-WITTKOPF, M.; SIERRA, F.; SCHMIDT, S. (2002)

Quantitative ultrasonic tissue characterization of the cervix - A new predictor for prematurity?  
Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 206, 88-93

TESCHNER, D. (2008)

Zur Charakterisierung sonographischer Befunde am *Corpus haemorrhagicum* und *Corpus luteum* der Stute  
Berlin, Freie Universität Berlin, Dissertation

THUN, R. (1995)

Physiologie und Pathophysiologie der Fortpflanzungsregulation

In: BUSCH, W.; ZEROBIN, K.

Fruchtbarkeitskontrolle bei Groß- und Kleintieren

Enke Verlag, Stuttgart, 19-39

TOM, J. W.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. (1998a)

Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea

Theriogenology 49, 1345-1352

TOM, J. W.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. (1998b)

Quantitative echotexture analysis of bovine ovarian follicles

Theriogenology 50, 339-346

TOWNSON, D. H.; GINTHER, O. J. (1988)

The development of fluid-filled luteal glands in mares

Animal Reproduction Sciences 17, 155-163

TOWNSON, D. H.; GINTHER, O. J. (1989)

Ultrasonic echogenicity of developing corpora lutea in pony mares

Animal Reproduction Science 20, 143-153

TOWNSON, D. H.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. (1989)

Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares

Theriogenology 32, 197-204

VANDERWALL, D. K. (2011)

Progesteron

In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D.

Equine Reproduction Second Edition

Wiley-Blackwell, 1637-1641

VANDERWALL, D. K.; SILVIE, W. J.; FITZGERALD, B. P. (1998)  
Concentrations of oxytocin in the intercavernous sinus of mares during luteolysis:  
temporal relationship with concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F  
Journal of Reproduction and Fertility 112, 337–346

VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, B. (2007)  
Sonographische Graustufenanalyse des Uterus vom Schwein im Verlauf des Zyklus  
und der frühen Trächtigkeit  
Leipzig, Universität, Dissertation

WAELCHI, R. O.; KÄNZIG, M.; DÖBELI, M.; RÜSCH, P. (1994)  
Condition of the uterine cervix in relation to cycle stage, plasma progesteron and  
estradiol-17 $\beta$  concentrations in the mare  
Reproduction in Domestic Animals 29, 5, 404-410

WARZAWSKY, L. F.; PARKER, W. G.; FIRST, N. L.; GINTHER, O. J. (1972)  
Gross changes of internal genitalia during the estrous cycle in the mare  
American Journal of Veterinary Research 23, 19-26

WATSON, E. D.; BUCKINGHAM, J.; BJÖRSTEN, T. S. (1999)  
Immunolocalisation of oxytocin in the equine ovary  
Equine Veterinary Journal 31, 174-175

WEEMS, C. W.; WEEMS, Y. S.; RANDEL, R. D. (2006)  
Prostaglandins and reproduction in female farm animals  
The Veterinary Journal 171, 206-228

WIESNER, P.; BÖNHOF, J. A.; NAUTH, P.; LINHART, P.; LOCH, E. G. (1984)  
Was ist bei der rechnerunterstützten Bildauswertung zu beachten?  
Ultraschalldiagnostik 84, 388-389

WIGGER, A.; KRAMER, M. (2008)  
Physikalische Grundlagen des Ultraschalls – eine Einführung in die Sonographie

Der Praktische Tierarzt 12, 1006-1010

WILDGRUBE, H. J.; DEHWALD, H. (1990)

Zur Wertigkeit von Grauwert-Analysen für die Beurteilung sonographisch erfassbarer Strukturen im Abdominalbereich

Bildgebung 57, 11-16

WISCHNIK, A.; STOCKLEIN, R.; WERNER, T. (1999)

Zur Beurteilung der graviden Cervix uteri im Sonogramm mittels computergestützter Texturanalyse

Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 203, 115-119

ZENT, W. W.; STEINER, J. V. (2011)

Vaginal examination

In: McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D.

Equine Reproduction Second Edition

Wiley-Blackwell, 1900-1903

ZIELKE, T. H.; NAUTH, P.; STEIN, N.; VON SEELEN, W.; LOCH, E.-G.; GACA, A.; PFANNENSTIEL, P. (1985)

Quantitative Verfahren bei der Ultraschalldiagnostik

Der Radiologe 25, 468-473

ZINK, C. (1996)

Ultraschalllexikon

Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin und Wien, 42

ZUNA, I. (1991)

Aktueller Stand der sonographischen Gewebeklassifizierung

Jahrbuch der Radiologie, 135-144

## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Axel Wehrend für die Überlassung des interessanten und relevanten Themas und die Heranführung an die wissenschaftlichen Seiten der Veterinärmedizin. Die mir stets gewährte Unterstützung, Motivation, Geduld und Energie wird mir immer in wertvoller Erinnerung bleiben.

Bei den MitarbeiterInnen der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit bedanken. Insbesondere bin ich für die Durchführung der Blutanalysen dankbar.

Herrn Dr. Failing und Frau Sparenberg von der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität möchte ich für die statistischen Auswertungen und Erklärungen danken.

Herrn Simon und seinen Mitarbeitern danke ich für die Hilfe bei der Beschaffung der Stutenovarien auf dem Schlachthof in Gießen.

Ohne die mentale, emotionale und finanzielle Unterstützung meiner Eltern wäre das Studium der Veterinärmedizin als Zweitstudium und die Anfertigung der Dissertation nicht denkbar gewesen. Ich bin froh und dankbar, dass ihr mir es ermöglicht habt, diesen Beruf zu ergreifen. Danke!

Meinen Schwestern und Brüdern und ihren Partnern und meinen Freunden in Gießen, besonders meinen beiden I's und M., und meinen Kindern:

für offene Ohren und offene Herzen, für Aufmunterungen, für Abwechslung und Ablenkung in schwierigen Zeiten und für viele gemeinsame Abenteuer.

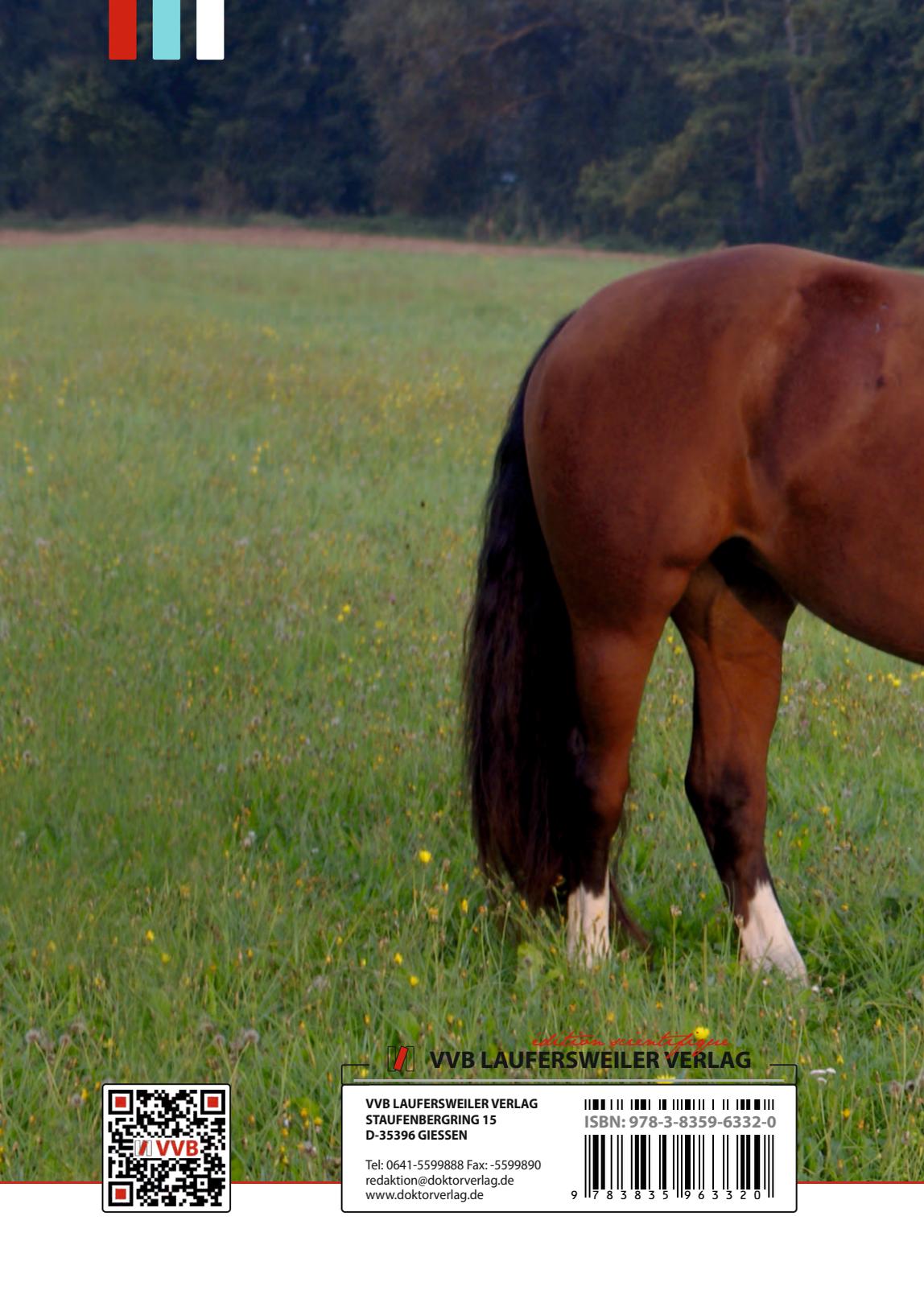
Jedi hugs to all of you!!

Und Jörg, meinem Gefährten, Komplizen und Herzallerliebsten: mit dir macht jede Herausforderung Spaß.

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Sara Laufkötter



*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6332-0



9 17 8 3 8 3 5 19 6 3 3 2 0