MICHAEL R. H. KEßLER

SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DES EPIDIDYMIS BEIM EBER



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



Coverfoto mit freundlicher Genehmigung der Erzeugergemeinschaft und Züchtervereinigung für Zucht- und Hybridzuchtschweine in Bayern w.V.

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2010

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 Author or the Publishers.

1st Edition 2010

© 2010 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen Printed in Germany





STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890 email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Großund Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DES EPIDIDYMIS BEIM EBER

INAUGURAL-DISSERTATION

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

eingereicht von

Michael Robert Heinrich Keßler Tierarzt aus Rothenburg ob der Tauber

Gießen 2010

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

Dekan:

Prof. Dr. Dr. habil. Georg Baljer

Gutachter:

Prof. Dr. A. Wehrend

PD Dr. M. Gerwing

Tag der Disputation: 11.05.2010

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG

-		_
2	LITERATUR	3
2.1	Makroskopische Anatomie des porzinen Epididymis	3
2.2	Mikroskopische Anatomie des porzinen Epididymis	4
2.3	Funktion des Nebenhodens	10
2.4	Erkrankungen des Nebenhodens	14
2.5	Sonographie in der medizinischen Diagnostik	18
2.5.1	Grundlagen des Ultraschalls	
2.5.2	Sonographische Darstellung des Skrotalinhalts	25
2.6	Quantitative Graustufenanalyse	28
2.6.1	Grundlagen	
2.6.2	Einsatz der quantitativen Graustufenanalyse	31
2.6.2.1	Humanmedizin	31
2.6.2.2	Veterinärmedizin	34

3	MATERIAL UND METHODEN	39
3.1	Material	
3.1.1	Tiere	39
3.1.1.1	Haltung und Fütterung	39
3.1.1.2	Impfregime	40
3.1.2	Ultraschallgerät	40
3.2	Methoden	43
3.2.1	Peripartale Belastung der Eber mit Zearalenon	43

3.2.2	Studienablauf43
3.2.2.1	Wiederholungsuntersuchung43
3.2.2.2	Graustufenanalyse44
3.2.2.3	Verlaufsschemata44
3.2.3	Klinische Untersuchung46
3.2.3.1	Rektale Körpertemperatur47
3.2.3.2	Körpergewicht47
3.2.3.3	Körperlänge47
3.2.3.4	Futteraufnahme47
3.2.3.5	Dokumentation von Gesundheitsstörungen47
3.2.3.6	Hodenlänge47
3.2.3.7	Hodenbreite48
3.2.3.8	Hodenkonsistenz48
3.2.3.9	Konsistenz Nebenhodenschwanz48
3.2.3.10	Konsistenz Nebenhodenkopf48
3.2.4	Sonographische Untersuchung49
3.2.4.1	Darstellung der Cauda epididymidis50
3.2.4.2	Darstellung des Corpus epididymidis51
3.2.4.3	Darstellung des Caput epididymidis52
3.2.4.4	Durchführung der Grauwertanalyse53
3.2.5	Ejakulatgewinnung54
3.2.6	Spermatologische Untersuchung55
3.2.6.1	Makroskopische Untersuchung55
3.2.6.1.1	Volumen55
3.2.6.1.2	Farbe55
3.2.6.1.3	Konsistenz55

3.2.6.1.4	Geruch	55
3.2.6.1.5	Beimengungen	
3.2.6.2	Mikroskopische Untersuchung	55
3.2.6.2.1	Motilität	55
3.2.6.2.2	Dichte	57
3.2.6.2.3	Spermiengesamtzahl	57
3.2.6.2.4	Pathomorphologie	57
3.2.6.2.5	Membranintegrität	58
3.2.6.3	pH-Wert	58
3.2.7	Histologische Untersuchung	59
3.2.7.1	Gewinnung des Probenmaterials	59
3.2.7.1.1	Orchidektomie	59
3.2.7.1.2	Probennahme sensu stricto	60
3.2.7.2	Fixierung des Probenmaterials	61
3.2.7.3	Einbettung des Probenmaterials	62
3.2.7.4	Herstellung der Gewebeschnitte	62
3.2.7.4.1	Objektträgerbeschichtung	
3.2.7.4.2	Anfertigung der Schnitte	63
3.2.7.5	Färbung der Schnitte	63
3.2.7.6	Lichtmikroskopische Auswertung	64
3.2.7.6.1	Epididymis	64
3.2.7.6.2	Testis	
3.2.8	Statistische Methoden	

Inha	Itsverz	zeich	nis
minu	100012	-01011	

4	ERGEBNISSE		
4.1	Klinische, spermatologische und histologische		
	Untersuchungsbefunde		
4.1.1	Klinische Allgemeinbefunde68		
4.1.2	Andrologische Befunde70		
4.1.3	Spermatologische Befunde73		
4.1.4	Histologische Befunde77		
4.1.4.1	Epididymis77		
4.1.4.2	Testis82		
4.2	Sonomorphologie des porzinen Epididymis		
4.2.1	Reproduzierbarkeit der sonographischen Darstellungen		
4.2.2	Caput epididymidis84		
4.2.3	Corpus epididymidis		
4.2.4	Cauda epididymidis89		
4.3	Vergleich der anatomischen, histologischen und		
	sonographischen Darstellung des porzinen Epididymis91		
4.4	Ergebnisse der quantitativen Graustufenanalyse		
4.4.1	Caput epididymidis94		
4.4.2	Corpus epididymidis94		
4.4.3	Cauda epididymidis94		
4.4.4	Vergleich der Grauwertparameter bezüglich		
	Messzeitpunkt und Lokalisation95		
4.5	Gruppenunterschiede97		
4.6	Beziehungen zwischen der rektalen Körpertemperatur		
	und den spermatologischen Untersuchungsbefunden		

4.7	Beziehungen zwischen den Ergebnissen der	
	quantitativen Graustufenanalyse und der Konsistenz	
	von Caput und Cauda epididymidis1	02
4.8	Beziehungen zwischen den Ergebnissen der	
	quantitativen Graustufenanalyse und	
	bestimmten spermatologischen Untersuchungsbefunden1	03

5	DISKUSSION
5.1	Diskussion der Fragestellung106
5.2	Bewertung des Tiermaterials107
5.3	Diskussion der Methodik107
5.3.1	Spermatologische Untersuchung107
5.3.2	Sonographische Untersuchung110
5.4	Diskussion der Ergebnisse113
5.4.1	Klinisch-andrologische Befunde11
5.4.2	Spermatologische Befunde116
5.4.3	Histologische Befunde118
5.4.4	Sonographische Befunde inklusive Graustufenanalyse
5.4.5	Gruppenunterschiede und Korrelationen12
5.5	Offene Fragestellungen130
6	ZUSAMMENFASSUNG132
7	SUMMARY13
8	LITERATURVERZEICHNIS13

1 EINLEITUNG

Die Sonographie hat sich in den vergangenen Jahrzehnten nahezu in jedem Fachgebiet der Veterinärmedizin etabliert. Dieses nicht invasive bildgebende Verfahren vermag die Gewebearchitektur innerer Organe und deren Bewegungsabläufe in Echtzeit darzustellen. Als diagnostisches Hilfsmittel fand die Ultraschalluntersuchung erstmals 1986 in der veterinärmedizinischen Andrologie Eingang (CARTEE et al., 1986; RATH et al., 1986 a, b). Es ergänzt die Befunde von Adspektion und Palpation und erlaubt genauere Rückschlüsse auf die Geschlechtsgesundheit. Inzwischen liegen Studien über die sonographische Darstellung der Hoden von Ziegenböcken (EILTS et al., 1989; AHMAD et al., 1991), Hengsten (LOVE, 1992), Schafböcken (CARTEE et al., 1990; AHMAD et al., 1991; GOULETSOU et al., 2003), Bullen (PECHMANN und EILTS, 1987; EILTS und PECHMANN, 1988; CARTEE et al., 1989; GRAUE, 2002;), Rüden (PUGH und KONDE, 1990; PETER und JAKOVLJEVIC, 1992), Kaninchen (AKSOY et al., 2008) und auch von Ebern (CARTEE et al., 1986; BRASS, 1987; BECK, 1990; CLARK et al., 2002) vor. Der Nebenhoden des Ebers blieb jedoch hinsichtlich seiner sonographisch darstellbaren Einzelanteile weitestgehend unberücksichtigt. Daneben fehlen bis dato Ergebnisse über die objektive Echotextur des Epididymis, welche über quantitative Graustufenanalyse ermittelt wird.

Bei der Beurteilung der Zuchttauglichkeit von Besamungsebern ist nicht nur die Gesundheit der Hoden, sondern auch die der Nebenhoden von Bedeutung. Da die Sonomorphologie Aussagen über den Gesundheitsstatus des Epididymis geben kann, sollen im Rahmen der vorliegenden Studie folgende Fragen beantwortet werden:

- Lassen sich alle Anteile des Nebenhodens bei Ebern eindeutig sonographisch darstellen?
- Lassen sich Unterschiede der sonographischen Darstellung an den verschiedenen Lokalisationen des Nebenhodens nachweisen?
- Wird die sonographische Darstellung des Nebenhodens durch das Alter der Tiere und die Ejakulation beeinflusst?

Zudem soll an dem untersuchten Eberkollektiv überprüft werden, ob eine perinatale Zearalenon-Exposition Einfluss auf klinisch-andrologische und spermatologische Parameter beim geschlechtsreifen Eber ausübt.

2 LITERATUR

2.1 Makroskopische Anatomie des porzinen Epididymis

Der Nebenhoden des adulten Ebers hat ein Gewicht von ca. 150 Gramm (ALLRICH et al., 1983). Er steigt, zusammen mit dem Hoden, während der Fötalphase aus der Bauchhöhle ab, und kommt extraabdominal im Hodensack zu liegen.

Der Epididymis wird makroskopisch in drei Bereiche unterteilt: Nebenhodenkopf (Caput epididymidis), Nebenhodenkörper (Corpus epididymidis) und Nebenhodenschwanz (Cauda epididymidis). Alle Teile liegen dem Hoden auf und sind durch fibröse Strukturen mit ihm verbunden. Der kappenförmige Nebenhodenkopf ist mit der Extremitas capitata des Hodens eng und großflächig verwachsen. An der Margo epididymalis verbindet das Nebenhodengekröse (Mesepididymis) den Hoden mit dem seitlich abgeflachten Nebenhodenkörper. Dabei bleibt zwischen den beiden Organen eine längliche nach lateral gerichtete Bucht offen, die so genannte Bursa testicularis. Der kolbige Nebenhodenschwanz ist einerseits durch das Ligamentum testis proprium mit dem Hoden, andererseits mit dem Processus vaginalis über das Ligamentum caudae epididymidis, verbunden.

Die topographische Lage des Nebenhodens ergibt sich aus der speziestypischen Position des Hodens. Dabei ist der Nebenhodenkopf kranioventral geneigt und der Nebenhodenschwanz analwärts kaudodorsal gerichtet. Der Nebenhodenkörper liegt medial, zum Perineum gewandt (GASSE, 1999).

Als Organhülle weist der Nebenhoden unter dem serösen Überzug, welcher vom viszeralen Blatt der Tunica vaginalis gebildet wird, eine Capsula fibrosa auf. Diese modifizierte Bindegewebsschicht beherbergt Gefäße und Nerven in arttypischer Ausprägung.

Das epididymale Parenchym besteht aus einem vielfach gewundenen samenableitenden Kanälchensystem, welches in interstitiellem Bindegewebe eingebettet und von glatter Muskulatur umgeben ist. Dabei sind die drei Bereiche des Nebenhodens differenziert zu betrachten.

Im Nebenhodenkopf befinden sich die Ductuli efferentes sowie der Anfangsteil des Ductus epididymidis. Die Ductuli efferentes, beim Schwein etwa 14 – 21 (GHETIE, 1939), bzw. 12 – 14 Kanälchen (STOFFEL und FRIESS, 1994), gehen einzeln an der

Porta mediastini aus dem Rete testis hervor und verlaufen zuerst geradlinig, dann geschlängelt und spiralig. Sie werden im Nebenhoden durch Bindegewebe in kegelförmige Läppchen, den Lobuli seu Coni epididymidis, mit hodenferner Basis zusammengefasst (KRÖLLING, 1960) und nehmen den Großteil der medialen Hälfte des Caput epididymidis ein (STOFFEL und FRIESS, 1994). Letztendlich gehen die Ductuli efferentes in den Nebenhodenkanal, den Ductus epididymidis, über.

Der Ductus epididymidis beginnt im Nebenhodenkopf und erreicht beim Eber eine beträchtliche Länge von 62 – 64 Metern (GHETIE, 1939). Deshalb muss er in viele und enge Windungen gelegt sein. In seinem Verlauf bildet er zusammen mit dem fibrösen Interstitium das Parenchym von Corpus und Cauda epididymidis. Vom Nebenhodenschwanz ausgehend, zieht der Nebenhodenkanal als selbstständige Struktur bauchhöhlenwärts, und wird ab hier als Ductus deferens bezeichnet (GASSE, 1999).

Die arterielle Blutversorgung des porzinen Nebenhodens erfolgt über die Rami epididymales der Arteria testicularis. Diese Äste entspringen bei einem Teil der Tiere aus dem freien proximalen Teil, andererseits auch aus dem Rankengeflecht der genannten Arterie. In den meisten Fällen gehen die Seitenäste jedoch aus dem oberen Drittel des arteriellen Konvoluts hervor (JANTOSOVICOVÁ und JANTOSOVIC, 1980). Der venöse Abfluss wird über epididymale Venen gewährleistet, die über den Nebenhodenkopf in den Plexus pampiniformis münden (STOFFEL et al., 1990).

2.2 Mikroskopische Anatomie des porzinen Epididymis

Die nach rein makroskopischen Gesichtspunkten eingeteilten Segmente des Nebenhodens in Caput, Corpus und Cauda, haben sich für eine genauere Betrachtung als zu grob erwiesen (WYSTUB et al., 1988b). Für den Eber geben WROBEL und FALLENBACHER (1974a) sechs Segmente an. Diese Einteilung beruht auf histologischen und histochemischen Methoden, wobei sich drei Segmente im Nebenhodenkopf, und zwei Segmente im Nebenhodenkörper befinden. Der komplette Nebenhodenschwanz wird als ein Segment betrachtet.

Da sich diese Segmenteinteilung vor allem auf den Ductus epididymidis bezieht, soll zunächst auf die Struktur der Ductuli efferentes eingegangen werden.

Die aus dem extratestikulären Rete testis entspringenden Ductuli efferentes werden nach Organisationsform und Lokalisation von STOFFEL und FRIESS (1994) in drei Bereiche gegliedert. Das erste Areal, das testikuläre Segment, weist einen luminalen Durchmesser von ca. 275 µm auf und zeigt mäandrierenden Verlauf. Dabei nimmt der Abstand zwischen den einzelnen Kanälchen stetig zu. Es folgt die klare Abgrenzung der stark gewendelten Ductuli in kegelförmige Läppchen, den so genannten Coni epididymidis. Der luminale Durchmesser dieses zweiten Bereichs beträgt etwa 240 µm. Das epididymale Segment weist als drittes Areal Überschneidungen mit dem Ductus epididymidis auf, während der luminale Durchmesser auf ca. 110 µm sinkt. Die somit auftretenden Verbindungszonen zwischen Ductuli efferentes und Nebenhodenkanal nehmen einen großflächigen Bereich des Caput epididymidis in Anspruch. Es wird, neben gelegentlicher Fusion Ductuli efferentes untereinander. zwischen zwei Verbindungsarten von unterschieden: die End-zu-End- und die End-zu-Seit-Anastomose (STOFFEL und FRIESS, 1994).

Das Epithel der Ductuli efferentes ist ein einschichtiges Zylinderepithel (Epithelium simplex columnare), an dessen Aufbau zwei Zelltypen beteiligt sind. Der Zellkern des ersten Zelltyps, der Zilienzelle, liegt im apikalen Bereich und hat eine ovale Form. In diesem Bereich hat die Zelle ihre größte Breite. Zur Basis hin verengt sie sich und ist nur durch eine schmale Zytoplasmabrücke mit der Basalmembran verbunden. Apikal, dicht unter der Zelloberfläche, ist ein verdichteter Streifen erkennbar, der einer Reihe von Basalkörperchen gleicht und für einen oberflächlichen Besatz mit Kinozilien spricht. Der zweite Zelltyp, die Hauptzelle, weist einen runden Zellkern auf. Dieser ist größer als bei der Zilienzelle, liegt im basalen Bereich und enthält zwei Nucleoli. Ein verdichteter Streifen kann unter der Zelloberfläche nicht beschrieben werden, es sind jedoch fädige Zellfortsätze vorhanden, deren Länge etwa 5 µm beträgt. Derartige Strukturen sind als Mikrovilli anzusehen. Zwischen diesen Mikrovilli erheben sich teilweise zungen- oder tropfenförmige Zytoplasmaprojektionen, die unter Einengung ihres basalen Bereichs auch ins Lumen abgegeben werden (WYSTUB et al., 1988a). Die durchschnittliche Epithelhöhe beträgt 35 µm, wobei im testikulären Segment

gewisse Schwankungen zu verzeichnen sind. Intraepithelial treten zuweilen mononukleäre Leukozyten auf (STOFFEL und FRIESS, 1994).

Die histologische Einteilung des Nebenhodens entlang des Nebenhodenkanals erfolat. wie oben angesprochen, in sechs Segmenten (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Das erste Segment ist als proximales bzw. kraniales Caput epididymidis klassifiziert. In diesem Bereich weist der Ductus epididymidis einen luminalen Durchmesser von 370 bis 570 µm auf. Der Inhalt des Kanals beschränkt sich lediglich auf Seminalplasma, Spermatozoen fehlen. Die epitheliale Auskleidung wird, stellvertretend für den gesamten Nebenhodenkanal, von einem hochprismatischen zweireihigen Epithel (Epithelium pseudostratificatum columnarum) gebildet. Der histologische Querschnitt erscheint im ersten Segment gefaltet, wobei flachere Faltentäler und hohe Faltenkämme zu unterscheiden sind. Die mittlere Epithelhöhe liegt bei 125 – 160 µm und ist damit der Maximalwert für den gesamten Nebenhodenkanal. Innerhalb des Epithels wird zwischen den polygonalen Basalzellen, hochzylindrischen Hauptzellen und den stiftchenförmigen den Apikalzellen unterschieden. Erstere sind an der Epithelbasis lokalisiert. Ihr Zytoplasma beschränkt sich auf eine kleine Zone um den kugeligen Zellkern, so dass das Kanälchenlumen nicht erreicht wird. Es enthält freie Lipidtröpfchen in geringer bis mittelgradiger Menge (WROBEL und FALLENBACHER, 1974b). Die Zahl der Basalzellen ist geringer als die der zylindrischen Hauptzellen (WYSTUB et al., 1988b), welche das Lumen erreichen und den zahlreichsten Zelltyp des Epithels darstellen. Ihre gestreckte Form unterliegt einer gewissen Schwankung. In den Faltentälern sind die Hauptzellen relativ breit. Hier sind ihre ovalen Zellkerne in der basalen Zellhälfte lokalisiert und von den Kernen der Basalzellen nur undeutlich abgesetzt. Im Bereich der Faltenkämme erscheinen die Hauptzellen schlanker. Ihre Kerne liegen in mehreren Reihen übereinander und dringen auch in die apikale Zellhälfte vor. Alle Hauptzellen tragen lumenwärts ca. 20 µm lange Stereozilien (WYSTUB et al., 1988b). Das Zytoplasma enthält azidophile Granula und weist apikal tropfenförmige Projektionen auf, die offensichtlich in das Lumen abgeschnürt werden. Als dritte Zellfraktion werden die Apikalzellen genannt. Die länglich dichten Zellkerne dieser Zellen sind im apikalen Epitheldrittel zu finden. Zum einen werden diese Zellen als degenerierende Elemente angesehen. Andererseits zeigen apikale Zellkerne teilweise mitotische Chromosomenkonformationen und sind ovalen, hellen

Zellen zugeordnet (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Somit gilt der Begriff der Apikalzelle auch für einen eigenständigen Zelltyp inmitten des Epithels.

Das zweite Nebenhodensegment entspricht dem mittleren Caput epididymidis. Im histologischen Schnittbild stellt sich der Nebenhodenkanal als rund, und das Epithel als ungebuchtet dar. Die Epithelhöhe hat sich auf 65 – 85 µm verringert. Der luminale Durchmesser, der luminale Inhalt und der Epitheltyp, einschließlich der unterschiedlichen Zellfraktionen, gleichen Segment 1. Allerdings sind die Kerne der Hauptzellen stark nach basal bis ins Niveau der Basalzellkerne verlagert, so dass eine einheitliche Kernzone entsteht. Eine weitere Besonderheit ist das Auftreten von relativ vielen Apikalzellen in der lumenseitigen Epithelhälfte, die sich in Mitose befinden. Das Zytoplasma des zweireihigen Epithels enthält azidophile Granula und ist im Gegensatz zum ersten Segment lipidfrei.

Als drittes Nebenhodensegment gilt das distale bzw. kaudale Caput epididymidis. Seine Charakteristika entsprechen großteils Segment 2, insbesondere das histologische Schnittbild, der luminale Durchmesser und die Epithelhöhe. Die Kerne der Hauptzellen sind fast alle in der basalen Zellhälfte lokalisiert und undeutlich von den Basalzellkernen abgesetzt. Jedoch befinden sich nicht alle Zellkerne auf gleichem Niveau, was eine einheitliche Kernzone ausschließt. In der apikalen Epithelhälfte liegen nur vereinzelte Zellkerne degenerierender Zellen. Das Zytoplasma ist im dritten Segment frei von Lipideinschlüssen und enthält im Vergleich zu Segment 1 und 2 nur noch geringgradig azidophile Granula. Der luminale Inhalt wird im Verlauf des Ductus epididymidis erstmalig von vielen miteinander verklumpten Spermatozoen gebildet (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Von einer weiteren Besonderheit berichten STOFFEL und FRIESS (1994). In der luminalen Hälfte der Hauptzellen weist das Zytoplasma große Golgi-Felder auf. Diese sind in geringerer Ausprägung auch in Segment 4 und 5 zu finden.

Der vierte Abschnitt des Epididymis wird vom proximalen bzw. kranialen Nebenhodenkörper gebildet. Während der luminale Durchmesser den drei Bereichen des Nebenhodenkopfes entspricht, weist dieses Areal mehrere deutliche Unterschiede bezüglich der Gewebestruktur auf. Zuerst ist der Querschnitt des Nebenhodenkanals zu nennen, welcher im Corpus epididymidis abschnittsweise zwischen gebuchtet und glatt variiert. Die glatten Epithelstrecken sowie die Faltentäler weisen Stereozilien auf, die Faltenkämme sind mit tropfenförmigen

Zytoplasmaprojektionen versehen. Unter den Faltenkämmen ist die Zahl der Basalzellen vermehrt, so dass hier oft zwei Schichten übereinander liegen. Die Epithelhöhe steigt auf durchschnittlich 110 µm an. Ein wichtiges Merkmal stellt auch die Anordnung der Zellkerne von Basal- und Hauptzellen dar. Die Kerne beider Zelltypen sind durch eine kernfreie Zytoplasmazone deutlich voneinander abgesetzt. Trotzdem bleibt die lumenseitige Epithelhälfte nahezu kernfrei, da in diesem Segment kaum Apikalzellen liegen. Das Zytoplasma ist neben den azidophilen Granula durch freie Lipidtröpfchen gekennzeichnet, die in den Basalzellen in mittelgradiger Ausprägung, in den Hauptzellen in geringgradiger Ausprägung, auftreten. Der luminale Inhalt des proximalen Corpus besteht aus einer großen Anzahl von Spermatozoen. Diese sind allerdings nicht so stark aggregiert wie in Segment 3.

Als fünftes Nebenhodensegment wird das distale bzw. kaudale Corpus epididymidis bezeichnet. Gegenüber dem vorigen Segment ist die Epithelhöhe auf einen Wert zwischen 65 und 85 µm gesunken. Ein weiteres Merkmal dieses Abschnitts ist die Anordnung der Hauptzellkerne. Grundsätzlich sind die Kerne der Haupt- und Basalzellen bezüglich ihrer Anordnung klar getrennt. Allerdings sind die Hauptzellkerne so weit nach apikal verlagert, dass nur das lumenseitige Epitheldrittel noch kernfrei erscheint. Des Weiteren liegen die Basalzellkerne über große Strecken in zwei, manchmal in drei Schichten übereinander. Das Zytoplasma aller epithelialen Zellen enthält mittel- bis hochgradig Lipidtröpfchen, was dieses Segment als den lipidreichsten Bereich entlang des Ductus epididymidis kennzeichnet. Alle weiteren Charakteristika wie Epitheltyp, Zellfraktionen, luminaler Durchmesser und Inhalt entsprechen dem vierten Segment.

Der gesamte Nebenhodenschwanz bildet den sechsten und damit letzten Abschnitt des Nebenhodens. Durch mehrere Merkmale ist dieser Bereich klar definiert. Das Epithel in der Cauda epididymidis ist im Querschnitt stark gebuchtet, während die Höhe nur noch 40 – 50 µm beträgt. Die Anzahl der tropfenförmigen Zytoplasmaprojektionen auf den Faltenkämmen ist auf ein Maximum angestiegen. Die Länge der Stereozilien ist hingegen auf einen Wert zwischen 5 und 7 µm gesunken. Das Zytoplasma an sich ist im Vergleich zu Segment 5 frei von Lipideinschlüssen, enthält aber azidophile Granula. Der luminale Inhalt wird von einem Spermienkonglomerat aus vielen miteinander verklumpten Spermatozoen

gebildet. Der luminale Durchmesser des sechsten Segments beträgt etwa 1000 µm, und stellt ein typisches Kennzeichen dieses Segments dar (WROBEL und FALLENBACHER, 1974b).

In allen sechs Nebenhodensegmenten ist das interstitielle Gewebe von ähnlicher Struktur. Es ist als ein Stratum fibromusculare zu klassifizieren (LIEBICH, 1998), welches aus lockerem Bindegewebe und mehreren Lagen glatter Muskelzellen zusammengesetzt ist. Die erkennbare Tunica muscularis umgibt dabei zirkulär den Nebenhodengang. Jedoch variiert die Anzahl der Zelllagen je nach Lokalisation. In den Segmenten 1 bis 4 ist die muskuläre Tunica mit drei bis vier Lagen glatter Muskelzellen relativ dünn. In Segment 5 misst sie vier bis fünf Lagen, während im Nebenhodenschwanz ein Maximalwert von bis zu fünfzehn Schichten erreicht wird. Zwischen Epithel und Tunica muscularis liegt in den Segmenten 1 bis 5 eine schmale, aber deutlich erkennbare Bindegewebsschicht, welche subepitheliale Kapillaren enthält. Diese ist in Segment 6 erheblich verbreitert, so dass man hier von einer Tunica propria sprechen kann. Dementsprechend ist die Vaskularisation dieser Schicht ausgeprägter als im restlichen Nebenhoden (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a).

Die Mikrovaskularisation des porzinen Nebenhodens ist von STOFFEL et al. (1990) worden. Demzufolge besteht der grundlegende Aufbau beschrieben der epididymalen Blutversorgung aus zwei sich überlagernden, vaskulären Netzwerken. Gewisse Kapillaren, die den Nebenhodenkanal direkt umzingeln, stellen das innere Element des Netzwerks dar. Es wird von polygonalen Netzen um die Ductuli efferentes gebildet, wobei zirkuläre Kapillaren im nachfolgenden Bereich des Caput epididymidis vorherrschen. Diese ringförmige Anordnung geht stufenweise von Nebenhodenkörper zu Nebenhodenschwanz hin verloren, wo das kapilläre Netzwerk wieder ein polygonales Erscheinungsbild aufweist. Das äußere Element des Netzwerks ist aus versorgenden und ableitenden Gefäßen zusammengesetzt. Intertubuläre Arterien ziehen zwischen den Schleifen des Ductus epididymidis vorbei und münden in längsgerichtete Gefäße, die jeweils nur einem benachbarten Segment zugeordnet werden. Diese speisen wiederum das innere, kapilläre Netzwerk über zirkuläre Verzweigungen.

Auch der venöse Abfluss weist regionale Unterschiede auf. Zwischen den dicht gepackten Schlingen der Ductuli efferentes sind wenige Venen zu finden. In diesem

Bereich gibt es keine venösen Verzweigungen und die Einzugsgebiete sind gut definiert. Die Anzahl der Venen steigt Richtung Nebenhodenschwanz hin an, wo sie ein in sich stark zusammenhängendes System von konfluierenden Gefäßen bilden.

2.3 Funktion des Nebenhodens

Der Nebenhoden weist als das dem Hoden nachgeschaltete Organ drei Hauptfunktionen auf. Im Einzelnen sind dies der Spermientransport, die Spermienspeicherung und die Reifung von Spermatozoen (ROBAIRE und VIGER, 1995). Diese Eigenschaften unterliegen einer Vielzahl von Einflussfaktoren, welche hormonellen und neuronalen Regulationsmechanismen zugeordnet werden. Darüber hinaus spielen die Temperatur sowie gewisse testikuläre Faktoren eine Rolle bei der epididymalen Funktion (RICKER, 1998).

Eine offensichtliche Funktion des Nebenhodens ist der Transport von testikulären Spermien zum Samenleiter. Dabei ist der Netto-Flüssigkeitstransport im proximalen Anteil des Epididymis als schnell anzusehen. Hier weist die intratubuläre Flüssigkeit eine geringe Viskosität auf und Wasser wird zügig aus dem Lumen resorbiert. Die Transportrate fällt im distalen Nebenhoden beträchtlich ab (TURNER et al., 1990), da der luminale Inhalt relativ viskös sein kann und nur noch eine geringe Wasserabsorption fortbesteht. Inzwischen wurde mehrfach nachgewiesen, dass die Ductuli efferentes die Hauptfunktion bei der Flüssigkeits- und Wasserabsorption im Nebenhoden einnehmen (ILIO und HESS, 1994; CLULOW et al., 1998). Dabei beträgt der Prozentsatz der resorbierten Flüssigkeit, welche von den Tubuli seminiferi zuvor sezerniert wurde, über 90 % (CLULOW et al., 1998). Um den kompletten Mechanismus der Resorptionsvorgänge von luminaler Flüssigkeit im Nebenhoden zu verstehen, bedarf es noch einiger Forschungsarbeit (OLIVEIRA et al., 2005), obwohl aktive Transportmechanismen über Ionenaustauscher (ILIO und HESS, 1992) und passiver, transzellulärer Transport über Aquaporine (HERMO et al., 2004) nachgewiesen Bei bereits wurden. der Regulierung der Flüssigkeitsresorption nehmen Östrogene, insbesondere über den Östrogen-Rezeptor-Alpha (ERα), die entscheidende Rolle ein (HESS et al., 1997).

Die Zeitspanne, welche für den epididymalen Spermientransport benötigt wird, ist durch eine Vielzahl von Methoden bewertet worden (ROBAIRE und HERMO, 1988)

Literatur

und dauert, in Abhängigkeit von der Spezies und der Häufigkeit der Ejakulationen, etwa zwei bis drei Wochen. Die treibenden Kräfte sind dabei der hydrostatische Druck, welcher durch die Flüssigkeitssekretion des Hodens erzeugt wird, und die peristaltischen Kontraktionen der einzelnen Ductuli (ROBAIRE und HERMO, 1988). Die neuromuskulären Ereignisse werden durch die autonome Innervation des Nebenhodens geregelt, insbesondere über adrenerge Nervenfasern, die den Plexus pelvinus verlassen. Im Nebenhoden bilden sie ein ausgedehntes Netzwerk innerhalb des peritubulären glatten Muskelgewebes, wobei ihre Verteilung zwischen den epididymalen Regionen variiert. Während Nebenhodenkopf und –körper nur spärlich innerviert sind, weist der Nebenhodenschwanz mit seiner starken Muskelschicht eine ausgedehnte Versorgung an Nervenfasern auf (RICKER, 1998).

Eine weitere Funktion des Epididymis ist die Spermienspeicherung. Dabei stellt der Nebenhodenschwanz den Hauptspeicherort für Spermatozoen dar. Etwa 55 bis 65 % der gesamten Spermien im Nebenhoden werden hier, bei den meisten Spezies, temporär gelagert (AMANN, 1981). Obwohl Spermien diesen epididymalen Abschnitt innerhalb von 3 bis 13 Tagen passieren können (AMANN, 1981; ROBAIRE und HERMO, 1988), wurde festgestellt, dass die maximale Lagerdauer eines fertilen Spermiums eine beträchtlich größere Zeitspanne beträgt (SETCHELL et al., 1993). Dabei ist relativ wenig über die Charakteristika des luminalen Milieus bei der Spermienlagerung bekannt. Spezifische Proteine, die vom Nebenhodenepithel ins Lumen sezerniert werden, scheinen bei verschiedenen Spezies eine Rolle zu spielen, da potentiell bewegliche Spermien während der Speicherung im Nebenhodenschwanz de facto unbeweglich sind. Bei der Ratte wird dieses "ruhende" Stadium von der Anwesenheit eines Mukopolysaccharids namens Immobilin abhängig gemacht (USSELMAN und CONE, 1983), welches im Nebenhodenkopf synthetisiert wird und im Nebenhodenschwanz akkumuliert. Ein weiterer Umweltfaktor, der bei der Spermienspeicherung diskutiert wird, ist die Präsenz von Antioxidantien. Verschiedene antioxidative Systeme wurden in der epididymalen Flüssigkeit identifiziert, von denen angenommen wird, dass sie die Spermien während der Lagerung schützen. Glutathion - vermittelte Prozesse sind dabei über Glutathionperoxidase (GPX) und Gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) die aktivsten Schutzmechanismen im Nebenhoden. Die beiden Enzyme werden beim Eber in den proximalen Anteilen des Epididymis sezerniert. Neben oxidativem Schutz hält der Epididymis auch immunologische Mechanismen zur Erhaltung von fertilen

Spermien bei der Speicherung bereit. Im Nebenhodenschwanz wird Lactoferrin abgesondert. Eine Funktion dieses Proteins ist der Transport von Metallionen. Zugleich stellt es eine wichtige Komponente des unspezifischen Immunsystems dar, seit klar wurde, dass Lactoferrin antibakterielle, antimykotische, antivirale und antiinflammatorische Aktivität aufweist (DACHEUX et al., 2003).

Die meist diskutierte Funktion des Nebenhodens ist die Spermienmaturation. Dieser Prozess ist definiert als der Erwerb der Befruchtungsfähigkeit von Spermien durch die Erlangung von Motilität über Veränderungen der Morphologie, Verschiebung des Metabolismus und Umbau der Zellmembran (ORGEBIN-CRIST et al., 1975). Dabei die ist anerkannt. dass sich Fähigkeit zur Befruchtung entlang des Nebenhodengangs parallel mit der Spermienmotilität verbessert (YEUNG et al., 1993). Der Begriff der Befruchtungsfähigkeit richtet sich nach der Konzeptionsrate bei In-vivo-Fertilisation mit Spermien aus den unterschiedlichen Anteilen des Nebenhodens (COOPER, 2007). Es zeigte sich, dass Spermien aus dem proximalen Corpus epididymidis die höchste Konzeptionsrate erzielen (HUNTER et al., 1976).

Die Spermienreifung ist Folge der Interaktionen von Spermien mit ihrer spezifischen Mikroumgebung. Diese "Umwelt" wird von der epididymalen Flüssigkeit, den enthaltenen Proteinen und dem Epithel des Ductus epididymidis gebildet. Sie ist vom Blutkreislauf durch die Blut-Nebenhoden-Schranke getrennt und in ihrem Aufbau hoch komplex. Die Komplexität beruht auf zwei Besonderheiten: Einerseits ändert sich kontinuierlich die Zusammensetzung der Mikroumgebung, andererseits sind die Einzelkomponenten in Konzentrationen vorhanden, die in keiner anderen Körperflüssigkeit nachgewiesen werden können (DACHEUX et al., 2005). Beim Eber sind beispielsweise 125 epididymale Proteine klassifiziert (SYNTIN et al., 1996), die von sechs unterschiedlichen Regionen sezerniert werden. Der Nebenhodenkopf trägt dabei mit drei Regionen 83 %, der Nebenhodenkörper mit zwei Regionen 16 % und der Nebenhodenschwanz als ein Segment lediglich 1 % der Gesamtsekretion an al., Proteinen (DACHEUX et 2005). Die Regulation der beachtlichen Sekretionsleistung ist zur Hälfte unter der Kontrolle von Androgenen, vor allem unter 3,5-Dihydrotestosteron (ORGEBIN-CRIST et al., 1976), während die übrige Sekretion über lokale Faktoren moduliert wird. Insgesamt sind mehrere hundert Proteine in der epididymalen Flüssigkeit charakterisiert (DACHEUX et al., 2003), die

nicht nur aus Sekretion, sondern auch aus zahlreichen Umbauvorgängen schon vorhandener Proteine hervorgehen.

Um weitergehend festzustellen, ob und inwieweit der Nebenhoden die Spermienmaturation direkt oder indirekt beeinflusst, müssen die einzelnen Modifikationen des Spermiums während des epididymalen Transits betrachtet werden, durch die ein motiles und damit fertiles Spermium entsteht.

Sobald Spermatozoen in den Ductus epididymidis eintreten, erfahren sie substanzielle Veränderungen in der Zusammensetzung ihrer Plasmamembran. Im Genauen ändert sich die Verteilung bzw. Anordnung von Proteinen und Phospholipiden. Spezifische testikuläre Oberflächenproteine werden entfernt oder ferner aufgearbeitet. Außerdem kommen neue, epididymale Proteine hinzu. Die epididymale Mitwirkung kann dabei entweder durch Proteine mit Transport- und Bindungsfunktion, oder durch Proteine mit enzymatischer Aktivität erzielt werden (DACHEUX et al., 2003). Mehrere Proteine, wie zum Beispiel Clusterin oder das Cholesterol – bindende Protein, wurden bei unterschiedlichen Spezies identifiziert, bei welchen sie in hydrophobe Bindungsprozesse involviert sind. Clusterin ist das sezernierte Protein mit der höchsten Konzentration im Epididymis und repräsentiert 25 – 30 % der Gesamtsekretion beim Eber (SYNTIN et al., 1996). Außerdem wurde bei dieser Spezies ein 27 - 28 kDa Protein charakterisiert, welches an die Spermienmembran bindet, so bald es in der epididymalen Flüssigkeit auftritt. Es ist bis zum Prozess der Befruchtung in der Plasmamembran zu finden (DACHEUX et al., 1992). Die angedeutete enzymatische Aktivität wird mehreren "Hauptproteinen" zugesprochen, welche in die epididymale Flüssigkeit sezerniert werden. Darunter versteht man Enzyme wie Glykosidasen, Phosphatasen und vor allem Proteasen. Die meist sezernierten Glykosidasen sind Mannosidase, Hexosaminidase, Galaktosidase, Glukosidase und Glukuronidase, deren Konzentrationen im Nebenhoden die Höchsten in allen Körperflüssigkeiten sind (DACHEUX und DACHEUX, 2002).

Eine weitere Veränderung der Morphologie von Spermien während der epididymalen Passage stellt die Modifikation des Akrosoms dar. Mehrere intra-akrosomale Proteine weisen Veränderungen in ihrem Molekulargewicht und ihrer Lokalisation während der Maturation im Nebenhoden auf (YOSHINAGA und TOSHIMORI, 2003). Zum Beispiel taucht Proacrosin bei Eberspermien in der inneren und äußeren

akrosomalen Membran ebenso auf, wie in der akrosomalen Matrix (BOZZOLA et al., 1991). Die Reduktion der Molekülgröße wurde beim Eber von BABA et al. (1989) berichtet. Des Weiteren gibt es noch mehrere Beweise, dass akrosomale Moleküle während der Spermienreifung im Nebenhoden eine Umlagerung erfahren. Als funktionelle Modifikation der Spermien während des epididymalen Transits wird die Erlangung von osmolarer Widerstandsfähigkeit angesehen. Spermien entwickeln die Befähigung zur Volumenregulation in der hypertonen Mikroumgebung des Epididymis. Die Ausprägung dieser Eigenschaft erreicht im Nebenhodenschwanz ein Maximum (YEUNG et al., 1999). Der Volumenregulation sollen sowohl spermieneigene Prozesse, wie der Einbau von Ionen- und Wasserkanälen in die Zellmembran, als auch die Aufnahme von niedermolekularen Stoffen aus der Mikroumgebung der Spermien zugrunde liegen (COOPER und YEUNG, 2003). Die Moleküle L-Carnitin, L-Glutamat und myo-Inositol werden je nach Lokalisation in unterschiedlichen Konzentrationen im Epididymis sezerniert und von den Spermatozoen aufgenommen. Die erhöhten Gehalte an L-Glutamat in der epididymalen Flüssigkeit und in den Spermien (PRUNEDA et al., 2007) unterstützen dabei die Hypothese, dass durch niedermolekulare Stoffe eine intrazelluläre Reserve an Osmolyten gebildet wird, die die Spermatozoen vor osmotischen Einflüssen post ejaculationem schützt. Somit scheint der Nebenhoden an diesem Aspekt der Spermienreifung direkt beteiligt zu sein.

2.4 Erkrankungen des Nebenhodens

Als angeborene Defekte gelten der Kryptorchismus und die Nebenhodenaplasie. Der Kryptorchismus bezeichnet einen ausbleibenden oder unvollständigen Abstieg der Hoden (Descensus testis), und damit auch Nebenhoden, aus der Bauchhöhle in den Hodensack. Dabei können die Hoden in der Bauchhöhle verbleiben (abdominaler Kryptorchismus) oder inguinal gelagert sein (inguinaler Kryptorchismus). Diese Fehlanordnung der Hoden kann ein- oder beidseitig auftreten. Sie gehört mit einer Befallshäufigkeit von 0,2 - 2 % der Eber zu den häufigsten genetischen Defekten beim Schwein (SCHNURRBUSCH, 2001) und generell zu der häufigsten Funktionsstörung am männlichen Geschlechtsapparat (MIEUSSET et al., 1995). Dies spiegelt sich in der Heritabilität (h²) dieser Erkrankung wieder, die mit etwa h² = 0,5 angegeben wird (MIKAMI und FREDEEN, 1979).

Der Kryptorchismus bei Schweinen ist durch eine Störung der Funktion des Gubernaculum testis bedingt, deren Ursachen noch nicht völlig geklärt sind. Neben dem ein- oder beidseitigen Fehlen des Hodenkonvoluts im Skrotum sind die übrigen Geschlechtsorgane und die Libido normal ausgebildet (SCHNURRBUSCH, 2001). Allerdings kommt es durch die erhöhte Lagerungstemperatur zur rapiden Degeneration des samenbildenden Epithels (PINART et al., 2000) und im Laufe der Zeit zum vollständigen Erliegen der Spermatogenese. Die Diagnose stellt sich, bei fortlaufender Dokumentation des Kastrationsstatus der Tiere, über Adspektion bzw. Palpation als einfach dar. Ist dies nicht der Fall muss die Diagnose über die rektale Palpation der Bulbourethraldrüsen erfolgen, deren Größe Auskunft gibt, ob entweder Kryptorchismus vorliegt, oder eine Kastration für das Fehlen der Hoden verantwortlich ist (SCHULZE und BICKHARDT, 1965).

Die Nebenhodenaplasie ist eine kongenitale Erkrankung des Epididymis im engeren Sinne. Sie kann ein- oder beidseitig auftreten, und wird weiterhin unterteilt in segmentale oder totale Aplasie. Dieser genetisch bedingte Defekt ist beim Schwein nur selten anzutreffen (SCHNURRBUSCH, 2001). Jedoch fanden BUSCH (1963) und KÖNIG et al. (1972) in ihrem Probenmaterial Fälle von epididymaler Aplasie, unter denen verwandtschaftliche Beziehungen bestanden. Auch von EIDNER (1971) wird über einen Fall von einseitiger Aplasie des Nebenhodenschwanzes berichtet. Außerdem wurde bei zwei Jungebern eine beidseitige segmentale Aplasie des Nebenhodens festgestellt. Generell waren Nebenhodenkörper und -schwanz nicht kanalisiert und nur als bindegewebiger Strang ausgebildet. Demnach äußert sich die epididymale Aplasie durch eine partiell oder vollständig unterbliebene Verbindung zwischen dem der indifferenten Keimdrüsenanlage aus hervorgehenden Hodenkanalsystem und dem dem Wolff'schen Gang entstehenden aus Nebenhodenkanalsystem. Besteht dieser Defekt, können die produzierten Spermien nicht mehr abgeführt werden. Es kommt zur Samenstauung (Spermiostase), die in diesem Zusammenhang von BUSCH (1963) in zwei Fällen beschrieben wurde. Es folgt die Resorption des Seminalplasmas, SO dass sich die Spermien zusammenlagern und größere Aggregate bilden. Falls Corpus und Cauda epididymidis fehlgebildet und verschlossen sind, folgt eine Erweiterung der Ductuli efferentes und der Nebenhodenkopf vergrößert sich. Darüber hinaus kann es zur Entwicklung von Spermagranulomen kommen. Diese sind sowohl im Interstitium, als auch intratubulär lokalisiert. Sie weisen einen teils wässrigen, teils viskösen

kittähnlichen Inhalt auf. Im Nebenhodenkopf ähneln diese Herde kleinen Abszessen, die auch konfluieren können. Daraus folgt die Möglichkeit einer sekundären Epididymitis bis hin zur Orchitis (SCHNURRBUSCH, 2001). Eine weitere, mögliche Folge der Spermiostase ist die Entwicklung von Spermatozelen (BUSCH, 2001). In einer Studie von BECK (1990) wurden bei vier Ebern im Nebenhodenkopf mehrere, etwa 10 mm große, anechogene Zysten sonographisch dargestellt, und als Spermatozelen interpretiert.

Zur Diagnose der Nebenhodenaplasie liefert die spermatologische Untersuchung die wichtigsten Befunde. Bei der beidseitigen Aplasie besteht eine Azoospermie, bei der einseitigen Aplasie eine hochgradige Oligozoospermie. Weitere Indizien liefert die Palpation des Nebenhodenkopfes.

Als erworbene Nebenhodenerkrankung gilt die Epididymitis, welche meist als Epididymo-Orchitis mit einer Inflammation des Hodens vergesellschaftet ist. Sie kann, wie alle epididymalen Erkrankungen, ein- oder beidseitig auftreten. Beim Eber ist die Nebenhodenentzündung in der Regel bakteriell bedinat. virale Krankheitserreger spielen keine Rolle. In der Vergangenheit waren vor allem Mycobacterium spp. und Brucella spp. als Erreger einer Nebenhodenentzündung nachweisbar. Heute nehmen relativ unspezifische Keime wie Streptokokken, Coliforme und Arcanobacterium pyogenes deren Platz ein (SCHNURRBUSCH, 2001). Auch Infektionen mit Chlamydien können eine Epididymitis bedingen (WELCHMAN et al., 1999). Darüber hinaus ist die Infektion mit Burkholderia pseudomallei in Asien eine Ursache von schweren Epididymo-Orchitiden der Eber (JOSEPH et al., 1974).

Generell kann die bakterielle Infektion des Nebenhodens auf hämatogenem, lymphogenem oder auf kanalikulärem Wege erfolgen. Das Nebenhodengewebe wird ödematisiert und es sind Exsudation sowie zellige Infiltration zu beobachten. Die interstitielle Ansammlung von Flüssigkeit und Zellen führt zur Kompression der Ductuli efferentes und des Nebenhodenkanals, was letztendlich zur Obturation und damit zur Spermiostase führen kann. Ist der Entzündungsprozess längerfristig, tritt eine zelluläre Degeneration und ein Samenstau infolge Fibrose der samenableitenden Wege ein. Bei einer Infektion mit Eitererregern wird mitunter Abszedierung festgestellt.

Je nach Verlauf wird zwischen akuter und chronischer Epididymitis bzw. Epididymoorchitis unterschieden. Die akute Form ist mit Fieber, Störung des

Allgemeinbefindens und schmerzhaften Bewegungsstörungen verbunden. An Nebenhoden, Hoden und Skrotum sind vermehrte Wärme, erhöhte Schmerzhaftigkeit und starke Umfangsvermehrung festzustellen. Bei einseitiger Erkrankung erscheint der Hodenspiegel als deutlich asymmetrisch. Chronische Erkrankungen sind dagegen schwieriger zu diagnostizieren. Hoden und Nebenhoden verkleinern sich und weisen eine feste Konsistenz auf. Diese Veränderungen sind jedoch nicht immer palpierbar. Einen Hinweis auf die chronische Epididymo-orchitis gibt die verminderte Fertilität (SCHNURRBUSCH, 2001).

Die Hydrozele vaginalis testis ist als Zyste des Processus vaginalis definiert. Unter physiologischen Bedingungen schwimmt das Hodenkonvolut in einer geringen Menge an Flüssigkeit. Bei der Hydrozele kommt es infolge von angeborenen und erworbenen Störungen, wie gestörte Lymphdrainage oder Quetschungen, zur vermehrten Ansammlung von Flüssigkeit in der Skrotalhöhle. Das Skrotum erscheint vergrößert, ist bedingt schmerzhaft und weist Fluktuation auf. Des Weiteren zeigen die betroffenen Tiere einen geringgradigen Anstieg der Körpertemperatur. Differentialdiagnostisch ist dabei an ein Skrotalhämatom zu denken, welches allerdings mit hochgradigem Schmerz einhergeht und ursächlich auf verschiedene Traumata zurückzuführen ist (BUSCH, 2001). Dieser intraskrotale Bluterguss stellt sich sonographisch als anechogener Bereich innerhalb des Processus vaginalis dar, der von echogeneren Strukturen durchzogen ist (BECK, 1990). Die Hydrozele soll aufgrund ihrer großen echoarmen bis echofreien Zone nachweisbar sein (BUSCH, 2001). Die Unterscheidung von anechogener Hämato- und Hydrozele ist rein sonographisch jedoch nicht immer möglich (BECK, 1990).

SHORE et al. (1995) stellten Hydrozelen bei 26 Bullen mittels Ultraschall dar, und verfolgten die Entwicklung der skrotalen Flüssigkeitsansammlung über einen Zeitraum von vier Monaten. In der Studie von BRASS (1987) wurde bei einem Eber anhand klinischer und sonographischer Befunde die Diagnose Hydrozele gestellt.

2.5 Sonographie in der medizinischen Diagnostik

2.5.1 Grundlagen des Ultraschalls

Als Grundstein für die Ultraschalltechnik wird der von den Brüdern CURIE (1880) entdeckte piezoelektrische Effekt von Kristallen angesehen. Bei der Einwirkung von Kompression auf Piezomaterialien (Zirkonate, Titonate und künstliche Kristalle) findet eine mechanische Deformation statt, welche eine Ladungsverschiebung und damit elektrische Spannung erzeugt. Dieses Phänomen ist auch umkehrbar (DOBRINSKY und KREMER, 1982) und wird als reziproker Piezoeffekt bezeichnet. Dabei werden die elektrischen Schwingungen des Wechselstroms in mechanische Schwingungen der Kristalle konvertiert. Diese mechanischen Schwingungen können auf angrenzende Medien übertragen werden (GINTHER, 1986), in welchen sie sich als Schallwellen fortpflanzen. Mechanische Schwingungen bzw. Dichtewellen, deren Frequenz sich über dem menschlich hörbaren Bereich von etwa 20.000 Hertz (1 Hz = 1 Schwingung pro Sekunde) befinden, werden als Ultraschall bezeichnet (KIEFER und KIEFER, 2003).

Die Fortleitung von Ultraschallwellen ist immer an Materie gebunden. Dabei hängt die Fort- oder Schallleitungsgeschwindigkeit (v), mit welcher sich die Schallwelle im Medium ausbreitet, von dessen Dichte (p) und Elastizität ab (GERWING, 1993). Das Produkt aus Dichte des Mediums und Fortleitungsgeschwindigkeit der Schallwelle ist als akustischer Schallwiderstand oder akustische Impedanz (z) definiert ($z = \rho x v$) (GLADISCH, 1992). Sie gibt an, welcher Widerstand in einem bestimmten Medium überwunden werden muss, um deren Moleküle in Schwingung zu versetzen (WIGGER und KRAMER, 2008). Falls sich dieser Widerstand innerhalb von gleichen unterschiedlichen oder zwischen Medien ändert, das heißt sofern ein Impedanzunterschied an einer Grenzfläche besteht, kommt es je nach Höhe des Impedanzunterschieds zur partiellen oder totalen Reflexion der Ultraschallwellen (GLADISCH, 1993). Der übrige Teil der Schallwellen wird nach den physikalischen Gesetzmäßigkeiten der Optik gestreut, gebrochen, gebeugt oder auch absorbiert (GERWING, 1993). Letztendlich lässt sich jedes Gewebe hinsichtlich seiner akustischen Eigenschaften charakterisieren (Tabelle 1). Beim bildgebenden Ultraschall können dennoch nur reflektierte und rückgestreute Schallwellen zur Darstellung von Geweben genutzt werden (POULSEN NAUTRUP, 1996).

Tabelle 1:	Akustische	Eigenschaften	verschiedener	biologischer	Medien	nach
	GERWING	(1993), modifizie	ert nach KRAME	ER (2004)		

Medium	Schallleitungsgeschwindigkeit (m/s)	Reflexion r (%)	Transmission d (%)
Luft	330	99,88	0,12
Wasser	1495	0,00	100,00
Knochen	3360	46,00	54,00
Muskel	1550-1650	0,48	99,52
Leber	1550	0,30	99,70
Fett	1450-1480	0,12	99,88
	L		

Neben den Eigenschaften von unterschiedlichem Gewebe spielt die Frequenz (f) des Ultraschallimpulses bei der Entstehung von sonographischen Darstellungen eine wichtige Rolle. Diese Anzahl von sich wiederholenden Wellen (Zyklen) pro Sekunde wird in Hertz (Hz) angegeben und steht mit Fortleitungsgeschwindigkeit (v) und Wellenlänge (λ) im Verhältnis f = v / λ . Die Wellenlänge definiert dabei die Länge eines Zyklus im Gewebe. Da Wellenlänge und Frequenz umgekehrt proportional zueinander stehen, nimmt bei höherer Frequenz die Wellenlänge ab und die Verweildauer des Ultraschallimpulses im Gewebe ist demnach kürzer. Daraus folgt, dass hohe Frequenz eine gute Auflösung bietet, aber gleichzeitig eine geringe Eindringtiefe aufweist (WIGGER und KRAMER, 2008). Aufgrund dieser gegensätzlichen physikalischen Eigenschaften von Schallwellen muss bei der Anwendung des Ultraschalls in der Bildgebung immer ein Kompromiss zwischen Eindringtiefe und Auflösung gefunden werden (HERMES, 1998). Die Bildgualität einer sonographischen Darstellung wird vom Auflösungsvermögen und von der Dämpfung des Schallstrahls im Gewebe beeinflusst (GLADISCH, 1992).

Unter Auflösung versteht man den Mindestabstand zwischen zwei Objekten, bei dem diese noch als separate Objekte erkennbar sind (KUCHLING, 1972). Die Auflösung in Richtung der Schallwellenachse wird als axiale Auflösung bezeichnet (WIGGER

und KRAMER, 2008). Sie wird von Frequenz und Dauer des Ultraschallimpulses bestimmt (GLADISCH, 1992). Eine Verbesserung der axialen Auflösung wir durch kürzere Impulse möglich. Diese kann man mittels schnellerer Schwingungen erzeugen, das heißt indem eine höhere Frequenz verwendet wird (LORENZ und DELORME, 2001). Die laterale Auflösung bezeichnet die Auflösung senkrecht zur Schallwellenachse. Sie hängt von der Weite des ausgesendeten Ultraschallstrahls ab, welche je nach Ultraschallkopf (Synonyme: Applikator, Scanner, Sonde, Transducer), Frequenz und Entfernung der Schallwelle vom Schallkopf variiert (WIGGER und KRAMER, 2008). Der Ultraschallstrahl setzt sich aus mehreren Ultraschallkeulen zusammen, die durch die Aktivierung von benachbarten Kristallgruppen im Schallkopf entstehen. Die laterale Auflösung ist umso größer, je geringer die Abstände dieser Kristallgruppen, und je größer die Überlappungen der nacheinander aktivierten Kristallgruppen sind (LORENZ und DELORME, 2001). Neben der Bauart des Schallkopfs ist das laterale Auflösungsvermögen vom Fokus abhängig. In diesem Bereich weist das Ultraschallbündel die geringste laterale Ausdehnung auf und es wird somit die beste laterale Auflösung gewährleistet. Dementsprechend nimmt die Auflösung mit der Entfernung vom Fokus ab (WIGGER und KRAMER, 2008).

Tabelle 2:	Auflösungsvermögen	und	Eindringtiefe	von	Ultraschallwellen	in
	Abhängigkeit von der F	reque	enz (STEIN und	MAR	TIN, 2004)	

Frequenz (MHz)	Aufle (n	Auflösung (mm)			
	axial ¹	lateral ²			
3,5	1	2	160		
5	0,6	1,2	100		
7,5	0,4	0,8	50		
10	0,3	0,6	40		

¹ in Richtung der Schallausbreitung; ² senkrecht zur Schallausbreitung

Unter Dämpfung versteht man in der Sonographie die kontinuierliche Abschwächung der Schallintensität, die bei der axialen Ausdehnung des Schalls im Gewebe auftritt. Sie wird in Dezibel pro Zentimeter (dB/cm) angegeben (GLADISCH, 1992), und steigt proportional zur wachsenden Entfernung vom Schallkopf und zur Erhöhung der Frequenz an (GINTHER, 1986). Darüber hinaus ist die Dämpfung vom beschallten Gewebe abhängig, was durch die Halbwertsschicht definiert wird. Sie bezeichnet die Wegstrecke, auf der die Schallintensität um die Hälfte ihres Ausgangswertes reduziert wird (GLADISCH, 1992; Tabelle 3). Um Dämpfungsverlusten im sonographischen Bild entgegenzuwirken, sind moderne Ultraschallgeräte mit einem elektronischen Tiefenausgleich ausgestattet, der auch als "depth- / time gain compensation" (DGC/TGC) bezeichnet wird. Die Wirkungsweise des Tiefenausgleichs beruht auf dem Prinzip, dass Echos umso mehr verstärkt werden, je später sie beim Schallkopf eintreffen, da sie auf ihrem längeren Laufweg eine stärkere Dämpfung erfahren haben, und damit auf ihre wahre Amplitude angehoben werden müssen (LORENZ und DELORME, 2001).

Tabelle 3:	Dämpfung	des	Ultraschalls	und	Halbwertsschicht	in	verschiedenen
	Medien (GL	ADIS	SCH, 1993)				

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

Das Impuls-Echo-Verfahren ist die Grundlage des diagnostischen Ultraschalls. Dabei werden durch piezoelektrische Kristalle Ultraschallimpulse mit einer Dauer von 0,8 – 1,5 µs ausgesandt. Die gleichen Kristalle dienen den zurückkehrenden Echosignalen

gleichzeitig als Empfänger (GLADISCH, 1992). Die Relation Impulsdauer (Sendezeit) zu Impulsintervall (Empfangszeit) beträgt etwa 1 : 1000 (GINTHER, 1986). Durch Ultraschallkopf und -gerät werden die rückläufigen Impulse je nach Laufzeit (Echolotprinzip) und Intensität ausgewertet (HERMES, 1998). Genauer gesagt wandeln die im Schallkopf integrierten Kristalle Echosignale in elektrische Energie um, wobei elektrische Radio-Frequenz-Signale (RF-Signale) entstehen. Diese werden anschließend vom Ultraschallgerät in verschiedene Grauwertpunkte konvertiert (EBERSPÄCHER, 1991). Jedem Grauwertpunkt, auch als Pixel (Picture Elements) bezeichnet, wird dabei eine bestimmte Koordinate (X/Y) und ein bestimmter Helligkeitswert zugeteilt. Die Entfernung der Reflexion vom Schallkopf wird auf der Y-Achse abgetragen, während die Zuordnung eines Echos zu einer bestimmten Kristallgruppe auf der X-Achse erfolgt (STÜTZEL, 1994). Die Intensität des Echos wird für jedes Pixel durch unterschiedliche Graustufen dargestellt (n = 0 -255), wobei der Wert 0 der Graustufe Schwarz und 255 der Graustufe Weiß entspricht (BADER et al., 1994). Somit kann eine repräsentative, zweidimensionale Abbildung des zu untersuchenden Gewebes mittels unterschiedlichen Helligkeitspunkten erzeugt werden. Diese Modulation von Echoimpulsen in Helligkeitsabstufungen der Bildpunkte wird als B-Mode-Verfahren (B = brightness) stellt das gebräuchlichste Bildwiedergabeverfahren in bezeichnet. Es der diagnostischen Ultrasonographie dar (EBERSPACHER, 1991). Während die B-Bild-Darstellung früher auf dem Compound-Contact-Verfahren basierte, welches statische Bilder erzeugte, wird heutzutage das Echtzeit-Verfahren ("real time ultrasonography") eingesetzt (KRAMER, 2004). Dabei senden und empfangen moderne B-Mode-Ultraschallgeräte pro Sekunde mehrmals Ultraschallimpulse (> 15 Bilder pro Sekunde; GERWING, 1993), was eine rasche Bildfolgefrequenz und damit eine zeitgetreue Wiedergabe von Bewegungen ermöglicht (HERRING und BJORNTON, 1985).

In heutigen Ultraschallgeräten finden unterschiedliche Schallköpfe Einsatz, deren Charakteristika im Folgenden erläutert werden. Prinzipiell werden Scanner nach Art der Abtastung (Schalleinstrahlung) und nach deren Durchführung (mechanisch oder elektronisch) eingeteilt (LORENZ, 1997). In mechanischen Schallköpfen bewegt ein Motor den piezoelektrischen Kristall und damit die Schallinie automatisch über Schaukeln und Wippen in einer festgesetzten Bahn (KRAMER, 2004). Dabei wird ein Bild des unter dem Scanner liegenden Areals erzeugt. Dieser mechanische Aufbau

ermöglichte als erstes eine Echtzeitdarstellung (WIGGER und KRAMER, 2008), wobei eine Fokuszone festgesetzt ist und nicht variiert werden kann (KRAMER, 2004). Elektrische Linear-Array- und Curved-Array-Scanner besitzen zwischen 64 und 256 piezoelektrische Elemente, die in einer Reihe nebeneinander angeordnet sind. Statt durch mechanische Bewegung der Schallguelle erfolgt die Erzeugung Schalllinien durch gezielte, elektrisch gesteuerte Anregung von einzelner Elementgruppen. Früher wurden durch die sequentielle Anregung von wechselweise gerad- und ungeradzahligen Elementgruppen Bilder mit hoher Liniendichte erzeugt. Heute werden nicht Elementgruppen sequentiell erregt, sondern es findet eine parallele Verarbeitung von bis zu 256 Kanälen statt. Dabei kann jedes Element, welches aus einem oder mehreren Kristallen besteht, gezielt aktiviert werden. Ein Linear-Array-Schallkopf, der 400 Kristalle mit 80 Elementen zu je 5 Kristallen besitzt, kann beispielsweise 80 Kanäle parallel zur Informationsgewinnung für eine Bildlinie nutzen (LORENZ und DELORME, 2001).

Bei der Einteilung der Scanner nach ihren Arten der Abtastung sind drei Typen zu unterscheiden. Der Parallel- oder Linearscanner, als elektronischer Schallkopf Linear-Array-Scanner genannt, lotet das zu untersuchende Areal parallel aus und erzeugt ein Rechteckbild (LORENZ und DELORME, 2001). Die Anordnung seiner Elemente folgt einer waagerechten Linie (GERWING, 1993). Als Konvexsonde, auch Curved-Array-Schallkopf (elektronisch) genannt, bezeichnet man einen Scanner, dessen Elemente auf einem Kreisbogensegment aufgebracht sind (LORENZ und DELORME, 2001). Das von ihm erzeugte Bild ist schallkopffern breiter als schallkopfnah (WIGGER und KRAMER, 2008), so dass man eine kegelförmige, in der Tiefe divergierende, Gesichtsfeldauslotung erhält. Die Ansteuerung dieses Scanners erfolgt nach dem Prinzip des Linear-Array-Transducers. Darüber hinaus vereinigt er die Vorteile eines Linear-Array- und Sektorscanners, da er mit relativ großer Auflagefläche für schallkopfnahe Untersuchungen gleichzeitig bei einem kleinen Schallfenster weite Sicht in die Tiefe erlaubt (LORENZ und DELORME, 2001). Neben den eben genannten Schallkopftypen weist der Sektorscanner eine dritte Art der Abtastung auf. Auch hier muss zwischen mechanischen und elektronischen Applikatoren unterschieden werden. Die mechanischen Sektorscanner werden als Rotoroder Wobbler-Schallköpfe bezeichnet. Erstgenannter ist mit einem Rotor versehen, in dem Kristalle um 120° versetzt eingelassen sind. Diese Kristalle rotieren an einem im Gehäuse integrierten
Schallfenster vorbei, wobei ohne weiteres 30 Bilder pro Sekunde erzeugt werden. Der Wobbler-Schallkopf zeichnet sich durch einen hin- und herschwingenden Träger aus, auf dem ein (Einkristall-Wobbler) oder mehrere Kristalle (Annular-Array-Wobbler) aufgebracht sind. Er sendet und empfängt die Schallimpulse durch ein erfasst kuppelförmiges Schallfenster und somit einen sektorförmigen Körperausschnitt. Dabei sind Gesichtsfeldwinkel von 30°, 60° und 90° möglich. Die modernsten Sektorscanner werden als elektronische Phased-Array-Schallköpfe bezeichnet. Dabei zählen auch bestimmte Curved-Array-Sonden, so genannte Mikrokonvexsonden, deren Radius ≤ 2 cm liegt, zu den elektronischen Sektorscannern. Sie gewinnen die Bildlinien durch die zeitlich verzögerte Anregung von Einzelelementen eines linearen Detektors. Die ausgesendete schräge Wellenfront erlaubt eine sektorförmige Auslotung des Körpers über einen Winkel von 90° (LORENZ und DELORME, 2001). Insgesamt bieten Se ktorschallköpfe trotz ihrer geringen Größe und Ankopplungsfläche ein großes Gesichtsfeld (field of view = FOV). Allerdings sind ihre Nahfeldauflösungen gegenüber anderen Applikatoren geringer (WIGGER und KRAMER, 2008).

Neben der Wahl des Schallkopfes stehen der Untersuchungsperson weitere Möglichkeiten zur Modifikation des Ultraschallbildes zur Verfügung. Durch unterschiedliche Geräteeinstellungen Bild vor kann das und nach der Signalverarbeitung beeinflusst werden. Als "Pre-Processing" (Signalvorbearbeitung) werden alle Veränderungen des Signals vor der Digitalisierung und Speicherung des bezeichnet (EBERSPÄCHER, 1991). Dazu zählen die Wahl Bildes der Tiefenausgleichverstärkung, die Enhancement-Einstellung (Gesamtverstärkung) und die Modulation des Dynamikbereichs. Beide letzteren ermöglichen eine Kantenanhebung im Ultraschallbild, was zu einer Kontrastverstärkung und damit zur Verdeutlichung von Bilddetails führt. Diese Prozesse sind allerdings mit einer Änderung der Homogenität verbunden (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Die Signalnachbearbeitung ("Post-Processing") umfasst alle Veränderungen des Bildes nach dem Digitalisieren. Dabei muss die Reject-Funktion angegeben werden, die die Unterdrückung kleinster Echosignale ermöglicht. Je nach Einstellung kann sie ein Hintergrundrauschen verhindern oder schwache Signale der tatsächlichen Echos herausfiltern (DELORME und ZUNA, 1995). Einen weiteren Aspekt des "Post-Processing" stellt die Gamma-Korrektur dar. Mit ihrer Hilfe kann der nichtlineare

Zusammenhang zwischen Eingangsspannung und Helligkeitswiedergabe auf dem Bildschirm ausgeglichen werden (HERMES, 1998).

Zur Befundbeschreibung werden in der Sonographie, neben den gebräuchlichen Begriffen der Diagnostik, die Bezeichnungen Echogenität und Textur verwendet. Die Echogenität beschreibt den Helligkeitsgrad eines gewissen Bereichs bzw. Gewebes in der sonographischen Abbildung. Stellt sich das Areal sehr hell dar, wird es als hyperechogen oder reflexreich bezeichnet, wohingegen Bezirke mit geringer Helligkeit die Bezeichnung hypoechogen oder reflexarm tragen. Für ein Gewebe, dessen Echogenität sich zwischen diesen beiden Begriffen bewegt, wird der Ausdruck mittel echodicht verwendet. Falls ein Bereich überhaupt kein Reflexionsmuster aufweist, und sich demnach auf dem Bildschirm schwarz darstellt, ist er als anechogen oder reflexlos zu klassifizieren. Die Textur bezeichnet den Abstand der einzelnen Bildpunkte innerhalb eines Organs. Sie kann als fein und klein oder grob und groß beschrieben werden (WIGGER und KRAMER, 2008).

2.5.2 Sonographische Darstellung des Skrotalinhalts

In der humanmedizinischen Andrologie wurde der Einsatz der B-Bild-Sonographie erstmals durch KRATOCHWIL (1970) beschrieben. Über die Jahre hinweg erfuhr die Ultraschalluntersuchung breitflächige Anwendung bei der Diagnose von akuten und chronischen skrotalen Erkrankungen. Durch die Entwicklung des Real-Time-Verfahrens in Verbindung mit hochauflösenden Schallköpfen (7,5-17 MHz) ist die Ultrasonographie heutzutage ein essentieller Bestandteil bei der Abklärung von Schmerzpatienten (LESNIK et al., 2006). MUNDEN und TRAUTWEIN (2000) geben einen Überblick über den Einsatz des Ultraschalls bei häufigen skrotalen Erkrankungen.

Im andrologischen Sektor der Veterinärmedizin wurde 1986 erstmalig die Sonographie eingesetzt, um die intraskrotalen Geschlechtsorgane näher zu untersuchen. RATH al. (1986a) beschrieben im Rahmen et der Zuchttauglichkeitsuntersuchung die zweidimensionale Ultraschallbilddarstellung des Skrotalinhalts beim Bullen. Im gleichen Jahr erfolgte der Einsatz der B-Bild-Sonographie am physiologischen Eberhoden (CARTEE et al., 1986). Beide Studien beinhalten Messungen diverser testikulärer Diameter. In den folgenden Jahren wurden Ergebnisse diese durch sonographische In-vitround In-vivo-Untersuchungen des physiologischen Skrotums von Bullen und Ebern ergänzt

(BRASS, 1987; CARTEE et al., 1987; KRAUSE und RATH, 1987; PECHMANN und EILTS, 1987; EILTS und PECHMANN, 1988; RATH et al., 1989; BECK, 1990; CLARK et al., 2002). Beim Bullen kamen ausschließlich 5 und 7,5 MHz Linearscanner zum Einsatz, während beim Eber zusätzlich 5 und 10 MHz-Sektorschallköpfe verwendet worden sind (CARTEE, et al., 1986).

Neben der ultrasonographischen Darstellung des Hodens an sich wurden in einigen Studien auch die Anteile des Nebenhodens (Caput, Corpus und Cauda epididymidis) unterschiedlicher Haussäugetiere beschrieben (CARTEE et al., 1986; BRASS, 1987; BECK, 1990) und epididymale Diameter erhoben (CARTEE et al., 1986; BRASS, 1987). Im Folgenden soll das sonographische Bild des physiologischen Testis und Epididymis inklusive ihrer umliegenden Strukturen allgemein erläutert, und die tierartlichen Besonderheiten des Ebers aufgezeigt werden.

Die Skrotalhaut stellt sich sonographisch als hyperechogene Linie dar (BECK, 1990; GOULETSOU et al., 2003). Die darunter liegende Schicht aus Tunica dartos, Bindegewebe und Faszien weist eine vergleichsweise geringere Echogenität auf. Es folgt der aus Fascia spermatica interna und parietalem Blatt der Tunica vaginalis bestehende Processus vaginalis. Er tritt als einheitlich reflexreiche Linie in Erscheinung (BECK, 1990). Zwischen dem Processus vaginalis und der Organserosa (viszerales Blatt der Tunica vaginalis) liegt das Cavum vaginale, in welchem sich meist eine echoarme bis anechogene Flüssigkeitszone befindet (LEUNG, 1984). Beim Eber beträgt die Breite dieses Bereiches 2 - 3 Millimeter (BECK, 1990). Die Tunica albuginea und die Organserosa werden als hyperechogene Linie abgebildet. Sie stellen sonographisch eine Einheit dar, die das Hodenparenchym umschließt (CARTEE et al., 1986). Sofern sich im Cavum vaginale keine Flüssigkeit befindet, sind Processus vaginalis und Tunica albuginea nicht zu differenzieren (PECHMANN und EILTS, 1986; GOULETSOU et al., 2003). Die Darstellung des Septum scroti unterscheidet sich je nach Strahlengang. Im Longitudinalschnitt weist das Septum mittel- bis hochgradige Echogenität auf, während es im Transversalschnitt echofrei erscheint (BECK, 1990). Das testikuläre Parenchym stellt sich in allen Bereichen als mittel echodicht dar (BRASS, 1987; EILTS et al., 1987; CLARK et al., 2003). Die Textur ist als fein bis mittel und die Musterung als homogen bis geringgradig marmoriert zu bezeichnen. Der Grad der im Parenchym eingelagerten Bindegewebsanteile variiert unter den Spezies, wobei der Eberhoden nur ein geringes Maß an punktförmigen fibrösen Einlagerungen aufweist

(BECK, 1990). Das zentral lokalisierte Mediastinum testis durchzieht den Hoden der Länge nach als breites hyperechogenes Band. Der Durchmesser dieses Bindegewebskörpers scheint proportional zum Hodendurchmesser zu sein (CLARK et al. 2003). In der Mitte des Mediastinum testis kann beim Eber das Rete testis als anechogene feine Linie erkennbar sein (BECK, 1990). BRASS (1987) beschreibt das Rete testis im transversalen Strahlengang als eine dunkle punktförmige Struktur, die von einer echoreichen Zone umgeben ist. Die aus dem Mediastinum testis entspringenden Septula testis sind in der sonographischen Darstellung des porzinen Hodens nur selten zu erfassen (BECK, 1990).

Der Nebenhodenkopf ist am proximalen, bzw. kranio-ventralen Pol des Hodens darstellbar (PECHMANN und EILTS, 1987). Er ist bei Wiederkäuern, Hengst und Eber durch eine anechogene Zone vom Hoden abgegrenzt, die die Bursa testicularis repräsentiert (BECK, 1990). Hinsichtlich Echogenität stellt sich das Caput epididymidis reflexreicher als das testikuläre Parenchym dar (PECHMANN und EILTS, 1987). In den meisten Fällen ist die Textur des Caput mittel bis grob und das Muster inhomogen. Dieses sonographische Bild resultiert aus dem hohen Anteil an Bindegewebssepten, die den Nebenhodenkopf des Ebers durchziehen.

Die Echogenität des Nebenhodenkörpers ist mit der des Hodens vergleichbar oder geringgradig reduziert. Durch das homogene Echomuster und die feine tubuläre Textur unterscheidet sich das Corpus epididymidis vom Nebenhodenkopf. Die Darstellbarkeit dieses Nebenhodensegmentes soll mittels Transversalschnitt von kaudal immer gegeben sein (BECK, 1990).

Der Nebenhodenschwanz ist von allen Anteilen des Epididymis am leichtesten abzubilden (PECHMANN und EILTS, 1987; GOULETSOU et al., 2003). Er stellt sich echoärmer als das Hodenparenchym dar (BRASS, 1987; PECHMANN und EILTS, 1987; GOULETSOU et al., 2003) und weist eine grobe Textur mit inhomogenem Echomuster auf. Anechogene und hyperechogene Areale wechseln sich ab, wobei Zonen mit geringerem Echo durch Septen unterteilt werden (BECK, 1990). Die zahlreichen echolosen, tubulären Strukturen wurden von PECHMANN und EILTS (1987) als charakteristische Eigenschaft des Cauda epididymidis bezeichnet.

Im Samenstrang sind neben mittelgradig echogenen Bereichen, die Fett- und Bindegewebsanteile repräsentieren, auch runde anechogene Strukturen vertreten. Diese stellen das Rankenkonvolut der Arteria testicularis und das venöse Geflecht des Plexus pampiniformis dar, welche im Schallfeld mehrfach geschnitten werden

(BRASS, 1987; BECK, 1990). Der Ductus deferens ist innerhalb des Samenstrangs nie, und neben dem Nebenhodenkörper nur selten, als hypoechogenes Gebilde identifizierbar (BECK, 1990).

2.6 Quantitative Graustufenanalyse

2.6.1 Grundlagen

Die moderne Ultraschalltechnik bietet mit der Entwicklung von hoch auflösenden Geräten und Scannern eine immer größer werdende Zahl von Informationen pro Bild Zeiteinheit (HERMES, 1998). Inzwischen ist die Komplexität und der Sonographiebilder so hoch, dass der Betrachter bei ihrer Beurteilung an die physiologischen Grenzen stößt (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Das menschliche Auge vermag bei normalem Visus bis zu 25 Grautöne zu differenzieren (GEBEL, 2000). Da die meisten Ultraschallgeräte jedoch 256 Graustufen auf dem Monitor darstellen, entsteht ein Informationsverlust beim Betrachten der einzelnen Bilder (ZINK, 1996). Treten geringfügige Veränderungen in der Gewebetextur auf, ist der Untersucher, aufgrund seiner visuellen Voraussetzungen, nicht mehr in der Lage eine qualitativ ausreichende Beurteilung zu treffen (HERMES, 1998). Darüber hinaus ist Echogenität nur bedingt quantifizierbar. Sie nimmt bei verschiedenen Untersuchungspersonen einen unterschiedlichen Stellenwert ein und unterliegt somit einer individuellen Varianz (RÄTH et al., 1984). Aus diesen Gründen erscheint die objektive Aufbereitung sonographischer Daten, welche Zugang zu Detailinformationen des Ultraschallbildes schaffen kann, als attraktive Erweiterung der diagnostischen Einsatzmöglichkeiten in der Sonographie (HERMES, 1998).

Das Ziel der Graustufenanalyse (GSA) ist es, die Aussagekraft der Ultraschalluntersuchung durch die Bestimmung quantitativer Parameter zu erhöhen (GÄRTNER et al., 1998). Sie ermöglicht eine Übertragung von Bildinformationen in numerische Daten und damit die Anwendung statistischer Verfahren zur Objektivierung der Untersuchungsergebnisse (GINTHER, 1995). Dabei liegt das Augenmerk auf der quantitativen Charakterisierung von Gewebetexturen (HERMES, 1998). Die "Textur" bezeichnet in diesem Zusammenhang die räumliche Verteilung von Bildpunkten hinsichtlich Helligkeit, Kontrast und Homogenität (DELORME und ZUNA, 1995).

Zunächst wird bei der GSA eine B-Mode-Standbild erzeugt. Dieses analoge Bild muss nun digitalisiert werden, um daraus einen hohen Informationsgehalt zu gewinnen. Unter Digitalisierung wird eine Rasterung in diskrete Bildpunkte (Pixel) verstanden. Jedem Pixel wird dabei ein Grauwert zwischen 0 und 255 zugeordnet (siehe Kapitel 2.5.1). Es folgt die Auswahl einer repräsentativen Region im zu untersuchenden Gewebe. Dieses Areal wird als "Region of Interest" (ROI) bezeichnet. Die ROI kann eine festgesetzte Größe umfassen (Box, Quadrat, Ellipse), oder wird frei umfahren (Polygonzug) (BADER et al., 1994). Um die sonographische Gewebetextur der ROI zu analysieren gibt es mehrere Möglichkeiten. Zum einen kann die Analyse entweder durch eine im Ultraschallgerät implementierte Software (BLECK et al., 2000), oder durch ein externes Computersystem erfolgen (ZUNA, 1991). Zum anderen stehen für die Auswertung der ROI unterschiedliche Analyseverfahren zur Verfügung. Bei Graustufenanalysen der ersten Ordnung (eindimensional) wird die Häufigkeitsverteilung bestimmter Graustufen anhand einer Tabelle und/oder eines Histogrammes als Grundlage der Grauwertstatistik dargestellt. Das Histogramm bezeichnet eine Grafik, die auf der Abszisse verschiedene Graustufen, und auf der Ordinate die Häufigkeit der Graustufen wiedergibt. Daraus lassen sich Bildhelligkeit, Streuung, Schiefe, Wölbung und Spannweite des Grauwertspektrums sowie die Quantile extrahieren (BLECK et al., 2000). Das eindimensionale Analyseverfahren gibt jedoch keine Auskunft über die räumliche Beziehung der einzelnen Graustufen zueinander. Demnach können zwei ROIs identische Histogramme aufweisen, ohne die gleiche Textur zu besitzen (Abbildung 1). Mehrdimensionale Analyseverfahren berücksichtigen zusätzlich die räumliche Anordnung der Grauwerte. Sie lassen somit erweiterte Aussagen über die Gewebetextur und die Quantität pathologischer Veränderungen zu (PINAMONTI et al., 1989; LIEBACK et al., 1991).



Abbildung 1: Zwei unterschiedliche Schwarz-Weiß-Bilder mit identischen Grauwert-Histogrammen (eindimensional) nach HERMES (1998)

Einen entscheidenden Faktor bei der Grauwertverteilung stellt die Signalverarbeitung im Ultraschallgerät dar. Die Veränderung nur eines Parameters der Bildentstehung ("Pre- und Post-Processing") führt zur Variation der Analyseergebnisse bei identischem Gewebe (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Zur fehlerfreien eine Durchführung der Graustufenanalyse wird deshalb standardisierte Geräteeinstellung mit gleich bleibender Fokuszone gefordert (GEBEL et al., 1984; ZUNA, 1991; BADER et al., 1994). Darüber hinaus ist die ROI so zu wählen, dass sie sich nach Möglichkeit in immer derselben Position befindet (GÄRTNER et al., 1998). BLECK et al. (1997a) bewiesen an Gewebephantomen, dass Grauwert-Histogramme eines identischen Objektes je nach Schallkopftyp und/oder Gesamtverstärkung variieren. Demnach sind texturanalytische Daten, die mit unterschiedlichen Gerätebzw. Schallkopftypen generiert werden, nicht ohne weiteres zu vereinheitlichen (BLECK et al., 1997a; BLECK, 2000).

Des Weiteren können sich Beeinträchtigungen der Bildqualität als Fehlerquellen in die Graustufenanalyse einschleichen. Dazu zählen Verwacklungen, der Druck bei Schallkopfankopplung sowie die Güte des Kontaktes zwischen Scanner und Haut. Ein erhöhter Druck beim Aufbringen der Ultraschallsonde führt mitunter zu Gewebekompression und damit zur Streuung von Grauwerten (GEBEL et al., 1984). Zusätzlich kann die Beschaffenheit des vor dem untersuchten Organ liegenden Gewebes eine Rolle bezüglich Schwankung der Grauwerte einnehmen. Dies ist allerdings meist nicht hinreichend genau abschätzbar (ZIELKE et al., 1985).

2.6.2 Einsatz der quantitativen Graustufenanalyse

2.6.2.1 Humanmedizin

Den ersten Schritt hinsichtlich Einführung der quantitativen Graustufenanalyse in die medizinische Diagnostik setzte die Entwicklung der Computertechnologie. Dadurch war es möglich die eindimensionale Häufigkeitsverteilung von Grauwerten eines B-Mode-Bildes zu generieren (GEISSLER, 1975). Eine weitere technische Voraussetzung stellte das "Real-Time-Verfahren" dar, welches eine artefaktfreie Auswahl von Ultraschallbildern zur optimalen Positionierung der ROI zugelassen hat. Folglich wurde die Variabilität der Messungen gesenkt und deren Reproduzierbarkeit erhöht (GEBEL und KUBALE, 1982). Die computergestützte Analyse von Grauwert-Histogrammen als diagnostisches Hilfsmittel fand in der Humanmedizin durch RÄTH et al. (1984) Eingang. Sie untersuchten, ob ein diffuser Leberparenchymschaden aufgrund Änderung der Häufigkeitsverteilung innerhalb einer standardisierten ROI im Ultraschallbild objektiv dargestellt werden kann. Dazu wurden sowohl Compound- als auch Real-Time-Scanner eingesetzt. Das verwendete Ultraschallsystem digitalisierte mit 256 Graustufen (8 bit). Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass der subjektive Begriff "Echogenität" mittels Graustufenanalyse objektiviert werden kann. Die Grauwertauflösung spiele dabei eine untergeordnete Rolle, da ein reduziertes Spektrum von 64 Graustufen (6 bit) die gleichen Messergebnisse lieferte.

Im Laufe der Jahre hat sich die Graustufenanalyse in der Humanmedizin etabliert und wird inzwischen in vielen Bereichen der sonographischen Diagnostik als Hilfsmittel eingesetzt (BLECK et al., 2000).

Ein großer Stellenwert kommt der Graustufenanalyse auf dem kardiologischen Sektor zu. Der Einsatz einer quantitativen Gewebecharakterisierung in der Echokardiographie ermöglichte es, infarktgeschädigte Areale des Myokards zu identifizieren (McPHERSON et al., 1986). Darüber hinaus konnte durch die eindimensionale Graustufenanalyse die Klassifikation der Kardiomyopathien erweitert werden (SKORTON und COLLINS, 1988; LIEBACK et al., 1989). Zur

Charakterisierung Gewebetextur besseren der des Herzmuskels wurden mehrdimensionale Analyseverfahren verwendet. Dadurch war es möglich, eine nicht echokardiographische Diagnostik perivaskulärer invasive hinsichtlich Proteinablagerungen (myokardiale Amyloidose) (PINAMONTI et al., 1988). Myokardfibrose (FERDEGHINI et al., 1991) und akuter Myokarditis (LIEBACK et al., 1996) zu betreiben. Schließlich konnten beginnende Abstoßungsreaktionen bei der Herztransplantation mittels quantitativer Echokardiographie frühzeitig erkannt werden (LIEBACK et al., 1989, 1994; HARDOUIN et al., 1994; STEMPFLE et al., 1994).

In der Inneren Medizin wurde die Graustufenanalyse als diagnostisches Hilfsmittel bei einer Vielzahl an Organen beschrieben. Wie schon erwähnt zeigten RÄTH et al. (1984) am Beispiel der Leber, dass die diagnostische Aussagekraft einer computergestützten Grauwertanalyse der subjektiven Beurteilung von B-Mode-Ultraschallbildern in Spezifität und Sensitivität überlegen ist. LORENZ et al. (1984) ermittelten durch die Auswertung von Grauwert-Histogrammen sonographische Referenzwerte der Leber gesunder Probanden. Bei einer standardisierten Einstellung des Ultraschallsystems war die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben. Ein Wechsel des Ultraschallgerätes lieferte jedoch unterschiedliche Resultate.

Auch die Milz wurde als intraabdominales Organ mit Hilfe der ein- und mehrdimensionalen Graustufenanalyse näher charakterisiert. BLECK et al. (1997b) gelang eine sonographische Differenzierung von physiologischem und durch Megalie verändertem Milzgewebe. Diese Methode stellt eine sinnvolle und nicht invasive Alternative zur Feinnadelbiopsie dar, da das Risiko von posttraumatischen Blutungen gänzlich wegfällt (BLECK et al., 1997b).

In einer gastroenterologischen Studie werteten KÖLBEL et al. (1987) die Pankreassonographien von 94 Probanden guantitativ aus. Dabei zeigte sich, dass retroperitoneale Fett als hervorragendes Referenzgewebe für das die eindimensionale Graustufenanalyse verschiedenen Pankreasanteile der herangezogen werden kann. Diese Feststellung erlaubte es den Autoren die Echogenität der physiologischen Bauchspeicheldrüse genauer zu objektivieren. WILDGRUBE und DEHWALD (1990) beschrieben das Auftreten von verfälschten Mischwerten bei der Echostrukturanalyse des Pankreas. Die missverständlichen Ergebnisse resultierten aus Messungen in Randzonen, strukturellen Überlagerungen und Meteorismus.

Literatur

In der Diagnostik verschiedener Schilddrüsenerkrankungen hat die quantitative Gewebecharakterisierung entscheidende Akzente gesetzt. Sowohl MÜLLER-GÄRTNER (1986) als auch BECKER et al. (1989) nutzten die Graustufenanalyse zur Bewertung von fokalen und diffusen Parenchymveränderungen. Laut ihren Ergebnissen kommt der Objektivierung der Echogenität eine große praktische Bedeutung zu. ZIELKE et al. (1985) haben gezeigt, dass mit Hilfe der Echotexturanalyse die Spezifität und Sensitivität der Diagnose von Morbus Basedow von subjektiv 80 Prozent auf über 90 Prozent gesteigert werden kann. Außerdem fand das Verfahren Anwendung in der Abschätzung der Dignität von tumorösen Schilddrüsenerkrankungen (HIRNING et al., 1989; MÜLLER et al., 1989; MÜLLER-GÄRTNER, 1986).

die Auf Gebiet Frauenheilkunde dem der wurde computergestützte Graustufenanalyse hauptsächlich in der Differenzierung von Mammatumoren eingesetzt. Die objektive Bewertung des Gewebes im B-Mode-Bild ermöglichte eine Unterscheidung von Karzinomen. Adenomen und anderen proliferativen Mastopathien (GARRA et al., 1993; GOLDBERG et al., 1992; LEFEBVRE et al., 2000). Durch die hohe Sensitivität der nicht invasiven Methode konnte die Zahl an erforderlichen Gewebebiopsien bei der Brustkrebsdiagnostik erheblich reduziert werden. BADER et al. (1994) zeigten durch ihre Grauwertstatistiken signifikante Unterschiede zwischen malignen Geschwülsten und gutartigen Zubildungen wie Zysten oder Hämatomen auf. Hoch differenzierte Mammakarzinome und Adenome konnten mittels Grauwert-Histogrammen nicht eindeutig separiert werden, bis der Einsatz einer Grauwertabhängigkeitsmatrix eine Unterscheidung zuließ (BADER et al., 2000). Die Echostrukturanalyse erlaubte es in der Schwangerschaftsdiagnostik Vorhersagen über alters- und nikotinbedingte Veränderungen der Plazenta und schwangerschaftsassoziiertem Bluthochdruck zu machen (MORRIS, 1988). Somit war es möglich Risiken fetaler Schädigung frühzeitig zu erkennen und zu behandeln. Zusätzlich fand die Graustufenanalyse Anwendung in der Beurteilung der fetalen Lungenreife. SOHN et al. (1992) verglichen fetales Leber- und Lungengewebe. Während sich die Grauwertverteilung der Leber im Schwangerschaftsverlauf nur geringfügig veränderte, erschien das Lungengewebe hinsichtlich Echostruktur je nach Reifegrad unterschiedlich. Aus dem direkten Vergleich beider Gewebe wurde auf Geburtsrisiken wie das neonatale Atemnotsyndrom geschlossen. Des Weiteren erhoben WISCHNICK et al. (1999) Grauwertparameter der ersten und zweiten

Ordnung an Sonogrammen der Zervix uteri schwangerer Frauen. Nach Ansicht der Autoren übertrifft diese Methode die Aussagekraft einer konventionellen palpatorischen Untersuchung bezüglich Zervixkonsistenz. Außerdem kann aus den gewonnenen Ergebnissen das Risiko einer Zervixinsuffizienz abgeschätzt werden. Ergänzt wurde eben genannte Studie durch die Veröffentlichung von TEKESIN et al. (2002). Sie stellten fest, dass der mittlere Grauwert bei Probandinnen mit verkürzter Zervix uteri niedriger ist, als bei Frauen mit ungestörter Schwangerschaft. Die Ergebnisse von RÖMER (2006) bestätigten diese Aussage. Demzufolge weist die Graustufenanalyse eine hohe Spezifität und Sensitivität in der Beurteilung der humanen Zervix auf, und stellt somit einen guten Prädikator für eine Frühgeburt dar. In der humanmedizinischen Andrologie wurde die quantitative Sonographie mitunter zur Differenzierung von Zubildungen der Prostata eingesetzt. FEIBER et al. (1984) nutzten für ihre Echotexturanalyse 21 EDV-Merkmale und 10 visuelle Parameter. Anhand dieser Charakteristika wurden die Probanden in Befundgruppen eingeteilt. Die Unterscheidung zwischen Prostataadenom und -karzinom gelang bei der subjektiv visuellen Beurteilung mit einer Spezifität von 75,8 Prozent und einer Sensitivität von 72,7 Prozent. Dagegen wies die Differenzierung mittels Graustufenanalyse eine Treffsicherheit von 90,5 Prozent in beiden Punkten auf. Die Ergebnisse einer ähnlichen Studie von ZIELKE et al. (1985) bestätigten diese Beobachtungen. Neben Beiträgen zur Prostatadiagnostik fand die quantitative Gewebecharakterisierung Anwendung in der Sonographie des männlichen Hodens. HAMM und FOBBE (1995) nutzten eine eindimensionale Graustufenanalyse um präpuberale von geschlechtsreifen Hoden abzugrenzen. Darüber hinaus setzten FERDEGHINI et al. (1995) eine mehrdimensionale Texturanalyse ein, um die verschiedenen physiologischen Entwicklungsstadien des Hodens vom Neonaten bis zu einem Alter von 65 Jahren objektiv zu definieren. Die Autoren sehen darin einen Informationsgewinn bezüglich sonographischer wertvollen Darstellung von histologischen Veränderungen am Hoden.

2.6.2.2 Veterinärmedizin

Auch in der Veterinärmedizin fand die quantitative Graustufenanalyse in zunehmenden Maß Einsatz. Die routinemäßige Anwendung dieser Methode in der

sonographischen Diagnostik besitzt jedoch bis dato nicht den Stellenwert wie in der Humanmedizin.

Auf dem Gebiet der Gynäkologie analysierte HERMES (1998) die zyklusbedingten Veränderungen des Endometriums beim Europäischen Reh (Capreolus capreolus) mittels Grauwert-Histogrammen. Er wies nach, dass die mittlere Echogenität des Endometriums ab dem dritten Monat der Diapause signifikant abnimmt. Damit wurde ein entscheidender Beitrag zur Gravididitätsdiagnostik geleistet. GERTSCH (1997) verglich die ein- und mehrdimensionale Grauwertanalyse am Endometrium der Stute. Dabei brachte das aufwendigere Verfahren keinen zusätzlichen Informationsgewinn bezüglich des Zyklusstandes. Nach Ansicht des Autors lagen die Vorteile der computergestützten Bildanalyse gegenüber der subjektiven Bildauswertung im Gedächtnis, in der Objektivität, Schnelligkeit und Gründlichkeit. Als Nachteile wurden die standardisierten Aufnahmebedingungen, und die Unfähigkeit des Systems Artefakte zu erkennen, beschrieben. Insgesamt war es GERTSCH (1997) nicht möglich zyklusbedingte Texturveränderungen des Endometriums darzustellen. Weitere Arbeiten, die sich mit der Echotexturanalyse des equinen Endometriums befassten, führten zu widersprüchlichen Ergebnissen. LORBER (1999) fand mit Hilfe eindimensionalen der Graustufenanalyse eindeutige zyklusabhängige Veränderungen im B-Mode-Bild der uterinen Schleimhaut. So wurde der niedrigste mittlere Grauwert 3,27 ± 1,27 Tage vor der Ovulation erreicht. Ab diesem Zeitpunkt stieg er bis etwa drei Tage post ovulationem an. Außerdem wurde eine positive Korrelation zwischen mittlerem Grauwert und der Blutserumkonzentration an Progesteron sowie eine negative Korrelation zwischen mittlerem Grauwert und 17ß-Östradiol nachgewiesen. In der Studie von WEVER et al. (2002) wies der mittlere Grauwert des Endometriums zyklischer Stuten 96 Stunden vor der Ovulation ein Minimum auf, und stieg ab 24 Stunden vor der Ovulation wieder an. Zur Gewinnung der Daten wurden Ultraschallbilder des Uteruskörpers ausgewertet, da die Ödematisierung hier früher, intensiver und mit einer geringeren Variabilität eintritt. KRETZSCHMAR (2004)beschrieb mittleren den Grauwert als einzigen Texturparameter des Endometriums, der einen deutlichen Zyklusverlauf widerspiegelt. Des Weiteren kam sie zu dem Schluss, dass nur die Gesamtflächenauswertung als Standard für die Echotexturanalyse des equinen Endometriums geeignet wäre, da variierende "Regions of Interest" zu unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der Einzelparameter führten. Beim Rind

setzte SCHMAUDER (2003) eine mehrdimensionale Grauwertanalyse zur Charakterisierung des Endometriums ein. Dabei wurden sowohl zyklusabhängige als auch entzündungsbedingte Veränderungen der sonographischen Gewebestruktur objektiv dargestellt. BERTMANN (2005) prüfte die Aussagekraft mehrerer Echotexturparameter am bovinen Endometrium. Die Analyse der Sonogramme schien geeignet zu sein, um eine Gravidität vor dem 20. Trächtigkeitstag zu diagnostizieren. Auch bei der Spezies Schwein wurden die trächtigkeits- und zyklusspezifischen Veränderungen des Uterus mittels sonographischer Graustufenanalyse untersucht, und die Eignung dieser Methode zur Diagnostik der Frühgravidität eruiert (KAUFFOLD und ALTHOUSE, 2007; VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, 2007). Es zeigte sich, dass die uterine Echogenität von zyklierenden und tragenden Sauen am zwölften Tag post ovulationem einen signifikanten Unterschied aufwies. Demnach schien die Nutzung dieses Verfahrens zur frühen Trächtigkeitsdiagnostik möglich zu sein.

Neben dem Uterus wurde auch das Ovarium verschiedener Tierarten mit Hilfe der Echostrukturanalyse evaluiert. Die Untersuchungen von Corpora lutea bei Jungkühen ergaben zyklusabhängige Schwankungen im mittleren Grauwert. Während dem Metöstrus hohe Werte zugeordnet wurden, repräsentierten niedrige Werte den frühen und mittleren Diöstrus, um schließlich im Proöstrus ein Minimum zu erreichen. Außerdem bestand eine negative Korrelation zwischen den mittleren Grauwerten und der Progesteronkonzentration im Blutplasma (TOM et al., 1998a). Damit wurden die Ergebnisse der In-vitro-Studie von SINGH et al. (1997) bestätigt. In einer weiteren Arbeit skizzierten TOM et al. (1998b) den mittleren Grauwert der Follikelwand im Verlauf des bovinen Zyklus. Dabei brachten die Autoren eine Abnahme der Echogenität mit einer erhöhten Vaskularisation der Theca interna in Verbindung.

Letztendlich wurde die Graustufenanalyse im gynäkologischen Sektor auch zur quantitativen Gewebecharakterisierung der Milchdrüse eingesetzt. RUBERTE et al. (1994) erhoben beim Schaf mehrere In-vivo-Beurteilungskriterien hinsichtlich der anatomischen Struktur laktierender Euter. Mit Hilfe der Kombination aus konventioneller Sonographie und Echotexturanalyse war es möglich die Milchdrüsenmorphologie, die Milchproduktion und die Pathogenese von mammären Erkrankungen objektiv zu beschreiben.

veterinärmedizinischen In der Andrologie wurde eine computergestützte Echotexturanalyse bei verschiedenen Spezies genutzt, um der sonographischen Darstellung des Hodens mehr Informationen abzugewinnen. EVANS et al. (1996) prüften in einer In-vitro-Studie, ob sich testikuläre Gewebeveränderungen während Reifung bei Bullenkälbern der geschlechtlichen mittels eindimensionaler Graustufenanalyse darstellen lassen. Sie beschrieben einen Anstieg des mittleren Grauwertes mit zunehmendem Entwicklungsstand der Tiere. Darüber hinaus stand die Erhöhung der Echogenität mit der Zunahme der Tubulusdurchmesser und der Proliferation des germinativen Epithels in Korrelation. In einer ähnlichen Arbeit gelang es CHANDOLIA et al. (1997) den Verlauf der mittleren Grauwerte am Hoden von Bullenkälbern In-vivo präziser zu skizzieren. Bereits in der sechsten bis achten Lebenswoche war ein geringgradiger Anstieg der testikulären Grauwerte zu verzeichnen. Es folgte eine "Plateauphase", die bis zur 20. Lebenswoche anhielt. Diese mündete in einen stetigen Anstieg der Helligkeitswerte, um schließlich im Alter von ca. zehn Monaten ein Maximum zu erreichen. Beide genannten Arbeitsgruppen sahen in der Quantifizierung der Sonogramme eine nicht invasive Methode, um die Maturität des Hodenparenchyms während der postnatalen Entwicklung zu ermitteln. KASTELIC et al. (2001) führten an einer altersdefinierten Gruppe von Mastbullen die sonographische Echotexturanalyse des Hodens durch. Dabei wurde die mittlere Echodichte des testikulären Parenchyms mit dem täglichen Spermienausstoß verglichen, und eine positive lineare Regression aufgezeigt (p < 0,002). Wenig später setzte GRAUE (2002) die eindimensionale Graustufenanalyse ein, um die Echotextur der Hoden von Bullen unterschiedlichen Alters zu definieren. Die Auswertung der Grauwerthäufigkeit ergab einen signifikanten Unterschied in der Echodichte zwischen den verschiedenen Altersklassen. Des Weiteren spiegelte sich der Grad der geschlechtlichen Beanspruchung in den Grauwert-Histogrammen wieder. Eine positive Korrelation der mittleren Grauwerte mit der jeweiligen Spermiengesamtzahl verdeutlichte dies (p < 0.05). Nach Ansicht der Autorin stellte die Auswertung von Grauwert-Histogrammen ein Verfahren dar, welches die Detektierung von altersabhängigen Echotexturunterschieden am bovinen Hoden ermöglichte. Abschließend sei die Studie von HÖHNE (2002) erwähnt. Dabei wurde die Anwendbarkeit der Graustufenanalyse zur Objektivierung sonographischer Befunde von Prostata und Hoden beim Rüden geprüft. Eine Korrelation zwischen Lebensalter und Grauwerthäufigkeit des Hodenparenchyms ließ sich anhand der statistischen

Ergebnisse nicht nachweisen. Ebenso musste ein Zusammenhang zwischen Grauwerten und Hodenvolumen, sowie Grauwerten und Spermiengesamtzahl verneint werden. Allerdings ergab die Untersuchung der Rüdenpopulation von 56 Tieren einen nahezu konstanten Grauwert der Hoden ($80,6 \pm 6,7$). Die quantitative Sonographie der Prostata führte zu ähnlichen Ergebnissen hinsichtlich Varianz der mittleren Grauwerte und deren Verhältnis zu weiteren Messparametern. Obwohl keine Erarbeitung eines Grauwertes für eine bestimmte gewebliche Veränderung erfolgen konnte, erwies sich die Analyse der Grauwerthäufigkeit als eine Methode zur Quantifizierung von sonographisch darstellbaren Veränderungen des caninen Hodens.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Tiere

Zur Verfügung standen zehn Eber aus einer Dreirassenkreuzung ((Deutsche Landrasse x Deutsches Edelschwein) \bigcirc x Duroc \bigcirc). Sie stammten von einem Ferkelerzeuger und wurden zwischen dem 25. und 28.06.2007 geboren. Im Alter von 21 Tagen sind sie in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen aufgestallt worden. Die Tiere dienten der praktischen Ausbildung von Studierenden der Veterinärmedizin. Die Untersuchungen wurden alle im Rahmen von Lehrveranstaltungen für Studierende der Veterinärmedizin durchgeführt.

Die Hälfte des Probandenkollektivs war perinatal mit dem Mykotoxin Zearalenon belastet. Folglich wurden die Eber in zwei Gruppen (belastet und unbelastet) mit jeweils fünf Tieren eingeteilt. Alle Eber stammten aus einem genehmigten Tierversuch mit dem Aktenzeichen 29-101/07 (Freistaat Thüringen, Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz).

3.1.1.1 Haltung und Fütterung

Die Eber wurden auf geschlossenem Betonboden mit Stroheinstreu aufgestallt.

Nach dem Absetzen befanden sich alle Tiere in einer Großgruppe. Ab der 13. Lebenswoche wurden die Schweine in Gruppen von 2 – 3 Tieren in einer Box gehalten. Vom 180. Lebenstag bis zur Beendigung der Studie waren die Eber in Einzelboxen untergebracht. Dabei war der Sichtkontakt zu Artgenossen jederzeit gewährleistet.

Die Eberferkel erhielten nach Einstallung ein Ferkelaufzuchtfutter (Rohprotein: 175 g/kg TM; Lysin: 12,5 g/kg TM; ME: 13,8 MJ/kg). Danach wurde ein Aufzuchtfuttermittel (Rohprotein: 170 g/kg TM; Lysin: 9 g/kg TM; ME: 12,9 MJ/kg) verabreicht. Die Menge der Einzelrationen wurde nach anerkannten Schätzformeln für die Umsetzbare Energie pro Kilogramm monatlich neu berechnet. Wasser stand den Tieren ad libitum zur Verfügung.

3.1.1.2 Impfregime

Im Herkunftsbetrieb wurden die Tiere gegen Porcine reproductive and respiratory syndrome (Ingelvac PRRS MLV, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, München) und Mycoplasma hyopneumoniae (M+Pac, Essex Tierarznei, München) geimpft. Ferner ist eine Vakzination gegen Rhinitis atrophicans (Respiporc ART+EP, IDT Biologika GmbH) in der siebten und zehnten Lebenswoche und dann alle vier Monate durchgeführt worden.

Die Immunisierung gegen Porcine reproductive and respiratory syndrome (Porcilis PRRS, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim) wurde im Alter von vier Monaten wiederholt.

Eine Impfung zum Schutz vor Porzinem Parvovirus und Rotlauf erfolgte im Alter von sechs und sieben Monaten (Porcilis Ery+Parvo, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim).

3.1.2 Ultraschallgerät

Alle sonographischen Untersuchungen wurden mit dem Ultraschallgerät Honda HS-1500V (Honda Electronics Co., Ltd., Toyohashi Aichi Prefecture, Tokio, 441-3193 Japan) durchgeführt. Der verwendete Schallkopf richtete sich nach der Untersuchungsart. Zur Wiederholungsuntersuchung 50 wurde eine mm Multifrequenz-Transrektalsonde (HLV-375M) herangezogen, für die Grauwertanalyse ist ein 25 mm Multifrequenz-Mikrokonvexscanner (HCS-3710M) verwendet worden. Jedem der beiden Schallköpfe wurde, abhängig von der untersuchten Lokalisation, eine fest definierte Einstellung des Ultraschallgerätes zugeordnet und vor Untersuchungsbeginn überprüft. Das Leistungsniveau des Gerätes und die verwendeten Einstellungen sind in den Tabellen 4 und 5 aufgeführt.

Tabelle 4:Verwendete Einstellungen des Ultraschallgerätes Honda HS-1500V /
Wiederholungsuntersuchung (Transrektalsonde)

Parameter	Leistungsniveau	NHK	NHKÖ	NHS
Betriebsmodus	B-, B/B-, B/M- Mode	B-Mode		
Frequenz in MHz	5.0 / 7.5 / 10.0	7.5	5.0	7.5
Gesamtverstärkung	36-100 dB		75	
Dynamikbereich	35-95 dB	65		
Tiefenausgleich (TGC)	6 stufenlos regelbare Schieberegler	auf mittlerer Position arretiert		rretiert
Fokusposition	1 bis 7 bzw. 11	2 von 7	11 von 11	2 von 7
Fokuslänge	je nach Bildgröße	23 mm		
Dynamischer Fokus	ein / aus	ein		
Bild-/ Zeilenkorrektur (Reject-Funktion)	hoch / niedrig / aus	hoch		
γ-Korrektur	1-8	5		
Graustufenanzeige	ein / aus	ein		
Dildinyarajan	oben / unten	oben		
DIGITVEISION	links / rechts	links		
Bildgröße R	40-120 mm	60 mm	80 mm	60 mm

- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKÖ: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- TGC: Time Gain Compensation

Tabelle 5:Verwendete Einstellungen des Ultraschallgerätes Honda HS-1500V /
Graustufenanalyse (Mikrokonvexsonde)

Parameter	Leistungsniveau	NHK	NHKÖ	NHS
Betriebsmodus	B-, B/B-, B/M- Mode	B-Mode		
Frequenz in MHz	5.0 / 7.5 / 9.0	9.0	7.5	9.0
Gesamtverstärkung	36-100 dB		75	
Dynamikbereich	35-95 dB		65	
Tiefenausgleich (TGC)	6 stufenlos regelbare Schieberegler	auf mittlerer Position arretiert		rretiert
Fokusposition	1 bis 7 bzw. 11	2 von 7	10 von 11	3 von 7
Fokuslänge	je nach Bildgröße		23 mm	
Dynamischer Fokus	ein / aus		ein	
Bild-/ Zeilenkorrektur (Reject-Funktion)	hoch / niedrig / aus	hoch		
γ-Korrektur	1-8	1		
Graustufenanzeige	ein / aus	ein		
Bildinyarajan	oben / unten	en oben		
Diditiversion	links / rechts	links		
Bildgröße R	40-120	60	80	60
Histogramm-	ein / aus		ein	
Messung	Box /Ellipse/Trace	Box		

- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKÖ: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- TGC: Time Gain Compensation

Alle festgehaltenen B-Mode-Standbilder wurden im jpg-Format archiviert. Als temporäres Speichermedium diente dazu ein gerätinterner Flash-Speicher, der eine Kapazität von 60 Bildern aufwies. Die gesicherten Aufnahmen wurden über eine serielle Schnittstelle auf die Festplatte eines Personal Computers transferiert, so dass eine endgültige Datensicherung und eine kontinuierliche Nutzung des Gerätespeichers gewährleistet war.

3.2 Methoden

3.2.1 Peripartale Belastung der Eber mit Zearalenon

Die Erstellung der mykotoxinbelasteten Eber erfolgte nicht in vorliegender Studie, sondern im Rahmen eines anderen Forschungsprojektes.

Dazu wurde trächtigen Jungsauen (Hybriden aus den Rassen Deutsches Edelschwein und Deutsche Landrasse) vom 100. Tag der Gravidität bis zum 21. Tag post natum kristallines Zearalenon (Z2125 Zearalenone, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) per Muffin in einer Dosierung von 1.500 µg Zearalenon / kg Futter täglich oral verabreicht. Die Ausscheidung des Mykotoxins über die Milch wurde im Rahmen eines anderen Forschungsprojektes dokumentiert, um sicherzustellen, dass die Ferkel laktogen das Toxin bzw. seine Metabolite aufnehmen.

3.2.2 Studienablauf

An den lebenden Ebern erfolgte nach einer allgemeinen und klinisch-andrologischen Untersuchung die sonographische Darstellung der verschiedenen Abschnitte des Nebenhodens. Weiterhin wurde der potentielle Einfluss der Ejakulation auf die Graustufenanalyse des Nebenhodens untersucht. Nach der Kastration wurden die Nebenhoden makroskopisch beschrieben und histologische Präparate zur Analyse des lichtmikroskopischen Aufbaues angefertigt.

3.2.2.1 Wiederholungsuntersuchung

Nach sonographischer Darstellung der Strukturen Nebenhodenkopf, Nebenhodenkörper und Nebenhodenschwanz wurden diese, zur Untersuchung der Reproduzierbarkeit, über zehn Tage bei allen zehn Ebern vom 220. bis 230. Lebenstag täglich einmal abgebildet. Weiterhin erfolgte am 245. Lebenstag eine fünfmalige Wiederholung der Darstellung aller Lokalisationen im Abstand von einer Minute. Dabei wurde festgehalten, ob sich die Strukturen darstellen lassen oder nicht.

3.2.2.2 Graustufenanalyse

Die Grauwertanalyse wurde pro Tier (n = 10) und Nebenhoden einmal die Woche über sechs Wochen hinweg vom 255. bis 290. Lebenstag durchgeführt. Dabei wurden die Lokalisationen Nebenhodenkopf, Nebenhodenkörper und Nebenhodenschwanz sonographisch aufgesucht, ein möglichst "artefaktfreies" B-Mode-Standbild generiert und jeweils zwei Regions of Interest (ROIs) analysiert. Die Untersuchung erfolgte jeweils eine Stunde vor und eine Stunde nach dem Absamen.

3.2.2.3 Verlaufsschemata

Um die klinischen, andrologischen, spermatologischen und insbesondere sonographischen Untersuchungen innerhalb des praktischen Studienteils zeitlich einzuordnen, wurden diese schematisch gegenübergestellt.

Aus Tabelle 6 ist der Zeitraum der sonographischen Wiederholungsuntersuchung in Abhängigkeit vom Lebensalter der Eber ersichtlich. Während dieser Periode wurden zeitlich versetzt klinische, andrologische und spermatologische Untersuchungen durchgeführt.

Die sonographischen Graustufenanalysen (GSA) begannen zehn Tage nach Beendigung der Wiederholungsuntersuchung (Tabelle 7). Jeder GSA ging eine klinisch-andrologische Untersuchung voraus. Zudem zeigt Tabelle 7, dass die GSA, in Abhängigkeit von der wöchentlichen Samengewinnung, immer doppelt durchgeführt wurde (prä / post ejaculationem). Nach der Samengewinnung fand jeweils eine spermatologische Untersuchung statt. Tabelle 6:Klinisch-andrologische, spermatologische sowie sonographischeWiederholungsuntersuchung in Abhängigkeit vom Lebensalter der Eber

Alter (LT)	Sonographische Wiederholungsuntersuchung	Klinisch- andrologische Untersuchung	Samengewinnung; spermatologische Untersuchung
220			
225	Alle Eber 1x täglich		
230			
235		1x wöchentlich	1x wöchentlich
240			
245	Alle Eber 5x am Tag		
240	(1-minütiger Abstand)		

LT: Lebenstage Schraffierte Fläche: In diesem Zeitraum fand keine sonographische Untersuchung statt. Tabelle 7: Klinisch-andrologische und spermatologische Untersuchung sowie sonographische Graustufenanalyse (GSA) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Eber

Alter (LT)	GSA	Samengewinnung; spermatologische Untersuchung	GSA	Klinisch- andrologische Untersuchung
255				
260				
265	1 v wächontlich:		1x wächoptlich:	
270	1 Stunde prä	1x wächentlich	1 Stunde post	1x wöchentlich
275	eiaculationem		eiaculationem	vor der GSA
280	cjaculationem		cjaculationem	
285				
290				

- GSA: Sonographische Graustufenanalyse
- LT: Lebenstage

3.2.3 Klinische Untersuchung

Die Untersuchungen fanden zwischen dem 215. und 285. Lebenstag statt. Vor jeder sonographischen Untersuchung des Nebenhodens erfolgte eine klinische Allgemeinuntersuchung, bei der folgende Parameter erhoben wurden:

- Rektale Körpertemperatur
- Körpergewicht
- Körperlänge
- Futteraufnahme
- Dokumentation von Gesundheitsstörungen

Anschließend wurde eine klinisch-andrologische Untersuchung durchgeführt, bei der die Hodengröße (Länge und Breite), die Hodenkonsistenz sowie die Konsistenz des Nebenkopfes und -schwanzes dokumentiert wurden.

3.2.3.1 Rektale Körpertemperatur

Die Körperinnentemperatur wurde rektal mit einem Fieberthermometer (microlife Vet-Temp, Microlife AG, Widnau/Schweiz) gemessen.

3.2.3.2 Körpergewicht

Um das Körpergewicht zu ermitteln, wurden die Eber in einen Kastenstand mit integrierter Waage (No. 87/55957, Baumann Waagen- und Maschinenbau GmbH, Thiersheim) gelockt. Das Gewicht wurde in Kilogramm notiert.

3.2.3.3 Körperlänge

Die Körperlänge wurde im Kastenstand mit Hilfe eines Bandmaßes (LUX-Tools 2 m, Emil Lux GmbH & Co. KG, Wermelskirchen) bestimmt. Am aufrecht stehenden Tier, bei gerader Rückenlinie, ist dabei der Abstand von Rüsselscheibe zu kaudalem Hodenende in Zentimeter erfasst worden.

3.2.3.4 Futteraufnahme

Die Beurteilung der Futteraufnahme erfolgte adspektorisch während der Untersuchung und durch Rücksprache mit den betreuenden Tierpflegern.

3.2.3.5 Dokumentation von Gesundheitsstörungen

Dabei wurden äußerlich sichtbare Merkmale festgehalten. Im Einzelnen waren dies: Verhaltensanomalien, Störungen des Bewegungsapparates, Hautläsionen, ophthalmologische Störungen, Kotkonsistenz, Asymmetrien der Hoden, Umfangsvermehrungen im Bereich des Hodens und des Präputiums.

3.2.3.6 Hodenlänge

Zur Messung der Hodenlänge wurde eine Schublehre (250 mm, Black & Decker GmbH, Idstein) verwendet. Es ist der Abstand von Nebenhodenkopf über Hoden zu

Nebenhodenschwanz in der Mitte der Längsachse erfasst worden. Die Dicke des Skrotums inkl. Hodenhüllen wurde dabei miteinbezogen. Die Angaben erfolgten in Zentimeter.

3.2.3.7 Hodenbreite

Die Hodenbreite wurde an der breitesten Stelle des Hodens mit Hilfe oben genannter Schublehre in Zentimeter gemessen. Zur Erleichterung der Messung ist dabei der jeweils gegenüber liegende Hoden manuell nach proximal verlagert worden.

3.2.3.8 Hodenkonsistenz

Um die Konsistenz der Hoden zu ermitteln, wurde ein Tonometer (Mitutoyo Absolute, 10 mm, Mitutoyo Messgeräte GmbH, Neuss) verwendet. Dabei wurde, nach dem Anlegen des Gerätes am Skrotum, ein Metallstempel mit definierter Kraft in das testikuläre Gewebe gedrückt. Die Auslenkung des Stempels wurde in Millimeter angegeben. Diese Auslenkung entspricht umgekehrt proportional dem Härtegrad des Gewebes.

Um genauere Werte zu erhalten, wurde jeweils eine Doppelmessung durchgeführt und das arithmetische Mittel berechnet. Das Verschieben des Hodens während der Messung wurde durch eine manuelle Fixation verhindert.

3.2.3.9 Konsistenz Nebenhodenschwanz

Die Bestimmung der Konsistenz erfolgte tonometrisch mit dem oben genannten Gerät. Es wurde eine Doppelmessung mit arithmetischem Mittelwert vorgenommen. Um den stetigen Kontakt von Tonometer und Nebenhodenschwanz zu gewährleisten, wurde der Hoden während der Messung manuell nach proximal geschoben und fixiert.

3.2.3.10 Konsistenz Nebenhodenkopf

Da der Nebenhodenkopf, aufgrund seiner anatomischen Position, für eine tonometrische Messung nicht zugänglich ist, wurde die Konsistenz dieses Organs palpatorisch bestimmt. Zur Bewertung der Palpationsbefunde kam ein Score-System zum Einsatz (Tabelle 8).

Score	Konsistenz
1	weich-elastisch
2	weich-prall-elastisch
3	prall-elastisch
4	prall-derb-elastisch
5	derb-elastisch

Tabelle 8:	Score-System zur Konsistenzbeschreibung
------------	---

3.2.4 Sonographische Untersuchung

Zur Durchführung der sonographischen Untersuchung wurden die Eber in oben aufgeführten Kastenstand gelockt. Eine weitergehende Fixation der Tiere fand nicht statt. Jedoch war während der Untersuchung, neben dem Untersucher selbst, ständig eine Hilfsperson zugegen. Diese lenkte die Eber mit dem Anbieten von Futterpellets und anderen Hilfsmitteln an der Kopfseite des Kastenstandes so ab, dass der Untersucher am Schwanzende der Tiere die Sonographie des Nebenhodens durchführen konnte.

Vor der eigentlichen Untersuchung erfolgte eine Reinigung des Skrotums mit Wasser und Seife. Gegebenenfalls wurde das Skrotum rasiert, um den einwandfreien Kontakt von Skrotalhaut und Scanner zu gewährleisten. Als Kontaktgel wurde ein Gleitgel für den veterinärmedizinischen Gebrauch (Gleit-Gel selectavet, Dr. Otto Fischer, Weyarn-Holzolling) verwendet. Nach dem Auftragen des Gels wurde noch ca. eine Minute gewartet, so dass das Gel in die Haut einwirken konnte.

Alle sonographischen Untersuchungen zur Charakterisierung des Epididymis wurden transkutan durchgeführt. Zur Analyse der Echogenität sind Standbilder im B-Mode erzeugt worden. Ziel war es, ein von benachbarten Strukturen eindeutig abzugrenzendes Schnittbild des Epididymis in einer definierten Fokusposition abzubilden.

3.2.4.1 Darstellung der Cauda epididymidis

Am Beginn der sonographischen Untersuchung stand die Darstellung des Nebenhodenschwanzes. Dazu wurde der Hoden inklusive Nebenhoden mit der freien Hand im Skrotum maximal nach dorsal verlagert, um das darzustellende Organ in eine Position zu bringen, in der eine Verschieblichkeit ausgeschlossen war. Nun wurde der Scanner auf die skrotale Ausbuchtung des Nebenhodenschwanzes gesetzt. Dabei zeigte das Vorderende der Sonde nach dorsal, das Hinterende nach ventral. Die Cauda epididymidis ist somit im Längsschnitt abgebildet worden. So bald das Tier sich nicht bewegte, wurde das Bild gespeichert, so dass die Bewegungsartefakte der sonographischen Darstellung auf ein Minimum reduziert waren. Weitergehend wurde, um eine gewisse Reproduzierbarkeit der Bilder zu gewährleisten, die Darstellung als Schnittbild gewählt, auf welcher die Lumina des längsgeschnittenen Ductus epididymidis den größten Durchmesser aufwiesen (Abbildung 2).

DORSAL



Abbildung 2: Schematische Darstellung des Hodens zur Demonstration der Schallkopfposition bei der Untersuchung der Cauda epididymidis

3.2.4.2 Darstellung des Corpus epididymidis

Zur Untersuchung des Nebenhodenkörpers wurde der Hoden manuell von ventral in hängender Position fixiert. Aus der anatomisch besonderen Lage des Corpus epididymidis, welches durch Hodengewebe verdeckt und damit sonographisch nicht direkt zugänglich ist, ergibt sich die Position des Scanners. Eine sonographische Abbildung kann nur erfolgen, wenn der Nebenhodenkörper zusammen mit dem Hoden dargestellt wird. Dazu wurde der Scanner in der Mitte der Hodenlängsachse, horizontal auf der Skrotalhaut positioniert, so dass das Vorderende der Sonde nach lateral und das Hinterende nach medial gerichtet war. Auf dem Monitor zeigte sich ein sonographischer Querschnitt Hoden in Schallkopfnähe von und Nebenhodenkörper schallkopffern. Aus Gründen der Wiederholbarkeit wurde angestrebt das Corpus epididymidis in der Mitte des Bildes und das Mediastinum testis kreisrund abzubilden (Abbildung 3).



Abbildung 3: Schematische Darstellung des Hodens zur Demonstration der Schallkopfposition bei der Untersuchung des Corpus epididymidis

3.2.4.3 Darstellung des Caput epididymidis

Der Nebenhodenkopf wurde ohne Fixation des Hodens untersucht. Der Scanner ist dafür ventral auf Höhe der Extremitas capitata des Hodens angesetzt worden. Dabei zeigte das Sonden-Vorderende nach kranial, das Hinterende nach kaudal. Nun wurde im sonographischen Bild, mit Blick auf das Hodengewebe, die kraniale Hodenbegrenzung aufgesucht. Nach weiterer Auslenkung der Sonde nach kranial folgte der Nebenhodenkopf, welcher der Extremitas capitata des Hodens aufliegt. Folglich wurde das Caput epididymidis im sonographischen Längsschnitt dargestellt. Dieser epididymale Anteil unterschied sich durch Echogenität und Gewebestruktur vom testikulären Gewebe sowie vom arteriellen Rankenkonvolut im Funiculus spermaticus (Abbildung 4).



Abbildung 4: Schematische Darstellung des Hodens zur Demonstration der Schallkopfposition bei der Untersuchung des Caput epididymidis

3.2.4.4 Durchführung der Grauwertanalyse

Die Werte der quantitativen Graustufenanalyse wurden direkt nach der Bildaufzeichnung vom Ultraschallgerät berechnet, und sind in jedem sonographischen Standbild eingeblendet (Abbildung 5).

Als Regions of Interest (ROIs) wurden innerhalb des Fokusbereichs zwei quadratische Messboxen in das Bild eingefügt. Für die fest definierte Grundfläche der Boxen (A = 0,25 cm²) errechnete das Ultraschallgerät jeweils eine Grauwertnormalverteilung in Form einer Kurve, den Mittelwert dieser Verteilung (Lmean), die Standardabweichung (SD), den Modalwert für die meist aufgefundenen Grauwertpixel (Nmost) und einen Quotienten aus Nmost und N-all. Dabei ist N-all ein vom Gerät festgesetzter Maximalwert von Grauwertpixeln, der je nach Einstellung des Ultraschallgerätes variieren kann. Dieser Wert wurde bei durchgeführter Untersuchungsreihe jedoch für jede Lokalisation fest definiert.



Abbildung 5: B-Mode-Standbild mit Cauda epididymidis und Testis im Längsschnitt. Die ROIs sind definiert (Box A und B). Die dazugehörigen Histogramme und Ergebnisse der Graustufenanalyse sind in der unteren Bildhälfte eingeblendet (Lmean und die Kantenlänge der quadratischen Messbox sind durch Pfeile markiert).

3.2.5 Ejakulatgewinnung

Zur Samenentnahme wurden die Eber im Alter von sechs Monaten an ein Phantom (Minitueb Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) als Sprungpartner gewöhnt.

Die Ejakulatgewinnung erfolgte einmal wöchentlich vom 220. bis zum 290. Lebenstag der Tiere durch manuelle Desemination. Dazu wurde der Penis, nach dem Aufsprung und Ausschachten, mit der behandschuhten Hand erfasst, seitlich abgelenkt und rhythmischer Druck auf die Penisspitze ausgeübt. Diese manuelle Imitation des Zervikalkanals der Sau wurde bis zum Ende der Ejakulation aufrechterhalten. Zur Aufnahme des Ejakulats diente ein mit Samenauffangbeutel (Minitueb Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) ausgekleideter Thermobecher. Dieser war zusätzlich mit einem Filter (Ebersamenfilter aus Vliesstoff, Minitueb Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) präpariert, um das Bulbourethralsekret abzutrennen. Nach Beendigung des Absamvorganges wurde das Ejakulat unverzüglich einer spermatologischen Untersuchung unterzogen.

3.2.6 Spermatologische Untersuchung

3.2.6.1 Makroskopische Untersuchung

3.2.6.1.1 Volumen

Das Ejakulatvolumen wurde exklusive Bulbourethralsekret in einem Messzylinder bestimmt.

3.2.6.1.2 Farbe

Die Farbbewertung des Ejakulats erfolgte adspektorisch.

3.2.6.1.3 Konsistenz

Dieser Parameter wurde eingeteilt in wässrige, molkige, milchige und rahmige Konsistenz.

3.2.6.1.4 Geruch

Alle Abweichungen vom geschlechtsspezifischen Geruch wurden sensorisch beurteilt und dokumentiert.

3.2.6.1.5 Beimengungen

Das Vorhandensein von Fremdbestandteilen und anderen partikulären Beimengungen im Ejakulat wurde adspektorisch geprüft.

3.2.6.2 Mikroskopische Untersuchung

3.2.6.2.1 Motilität

Zur Bestimmung der unterschiedlichen Motilitätsparameter wurde ein CASA-System (Computer - assisted semen analysis) namens SpermVision® (Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) herangezogen. Diese Art der

Videomikrographie ermöglichte es, die einzelnen Bewegungsparameter objektiv darzustellen. Dabei wurde neben der Gesamt- und Vorwärtsmotilität in % eine Vielzahl von Attributen bestimmt, die in Tabelle 9 aufgeführt sind.

Tabelle 9:Motilitätsparameter,diemitdemSpermVision®-SystemanEberejakulaten erfasst wurden (nach BOYER et al., 1989)

Parameter	Abkürzung	Erläuterung
distance curved line	DCL in μm	Gekrümmte Wegstrecke; Die eigentliche Strecke, die das Spermium während der Messperiode zurücklegt.
distance average path	DAP in μm	Durchschnittliche Wegstrecke; Gemessene Strecke, bei welcher eine ausgeglichene Linie als Referenzwert herangezogen wird.
distance straight line	DSL in μm	Gerade Wegstrecke; Die gerade Strecke, vom Punkt, an welchem das Spermium zu Beginn des Messvorgangs aufgefunden wurde, zu der Lokalisation beim letzten "Frame" der Messung.
curvilinear velocity	VCL in µm / s	Kurvolineare Geschwindigkeit
mean velocity	VAP in µm / s	Mittlere Geschwindigkeit
linear velocity	VSL in µm / s	Lineare Geschwindigkeit
amplitude of lateral head displacement	ALH in µm / s	Die Amplitude der seitlichen Auslenkung des Spermienkopfes.
beat cross frequency	BCF in Hertz	Die Anzahl der periodischen Seitwärtsbewegungen des Spermienkopfes pro Sekunde.
mean coefficient; (VSL/VAP) x 100	STR	Der Durchschnittskoeffizient; gibt die Linearität des durchschnittlichen Bewegungsablaufes an.

wobble coefficient; (VAP/VCL) x 100	WOB	Der Taumelkoeffizient; gibt die Abweichung des kurvolinearen Bewegungsablaufs am durchschnittlichen Bewegungsablauf an.
linear coefficient: (VSL/VCL) x 100	LIN	Die Linearität; ein Schätzwert, welcher die Nähe der Spermien-Laufbahn an einer geraden Linie angibt.
average orientation change	AOC in °	Die durchschnittliche Gradzahl, die sich der Spermienkopf während des Messvorgangs von links nach rechts bewegt.

3.2.6.2.2 Dichte

Die Spermienkonzentration wurde photometrisch (SpermaCue®, Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) bestimmt und wird in Millionen Spemien pro ml angegeben.

3.2.6.2.3 Spermiengesamtzahl

Die Gesamtzahl an Spermien ergab sich aus dem Produkt von Volumen und Dichte und wird in Milliarden angegeben.

3.2.6.2.4 Pathomorphologie

Um physiologische und pathomorphologisch veränderte Spermien zu differenzieren, wurden zwei Tropfen Eosinfärbelösung (Eosin gelblich, Fluka Chemie AG, CH-9470 Buchs) mit einem Tropfen Sperma auf einem Objektträger vermischt, und mit Hilfe eines zweiten Objektträgers dünn ausgestrichen. Nach dem Lufttrocknen wurde das Präparat unter dem Mikroskop (Leitz Laborlux 12, Leica Mikrosysteme GmbH, Wetzlar) im Hellfeld bei 400facher Vergrößerung betrachtet und 200 Spermien, gleichgültig ob sie gefärbt oder ungefärbt sind, auf pathomorphologische Veränderungen hin untersucht. Neben der Bestimmung des Gesamtanteils an Samenzellen mit Kopf- und Geißelveränderungen erfolgte eine Unterteilung in primäre Veränderungen, sekundäre Veränderungen und am Spermium anhaftende Plasmatropfen.

3.2.6.2.5 Membranintegrität

Um die Intaktheit der Spermienzellmembran zu überprüfen. wurde ein hypoosmotischer Schwelltest (HOS-Test) verwendet. Auf dem Prinzip der Osmose beruhend, diffundiert dabei eine hypoosmotische Lösung entlang dem Konzentrationsgradienten in das Spermium und führt zu einer charakteristischen Aufrollung der Geißel. Dieses Phänomen tritt nur bei intakter Zellmembran auf, da bei Membranschäden kein osmotischer Druck aufgebaut wird. Demzufolge wurde differenziert in Spermien mit intakter Zellmembran (aufgerollter Schwanz, curled) und Spermien mit Membranschäden (gerader Schwanz, not curled).

Zur Herstellung des Präparats wurden im ersten Schritt 100 µl Sperma in 1 ml hypoosmolare Lösung verbracht und 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Die Lösung setzte sich wie folgt zusammen:

Hypoosmotische Lösung (150 mosmol)

- 0,735 g Natriumcitrat
- 1,351 g Fructose
- ad 100 ml Aqua dest.

Im zweiten Schritt wurde nach Ende der Inkubationszeit ein Tropfen des Gemisches Objektträger 76 x auf einen (IDL 26 mm, geschnitten, ohne Rand, Interessengemeinschaft der Laborfachhändler GmbH & Co. KG, Nidderau) verbracht und ein Deckglas aufgelegt. Nun erfolgte die mikroskopische Betrachtung (Leitz Laborlux 12, Leica Mikrosysteme GmbH, Wetzlar) im Phasenkontrast bei 400facher Vergrößerung. Dabei wurden 200 Spermien ausgezählt und in "curled" bzw. "not curled" differenziert. Der jeweilige Prozentsatz wurde dokumentiert.

3.2.6.3 pH-Wert

Am frisch gewonnenen Ejakulat wurde der pH-Wert mittels pH-Meter (inoLab pH Level 1 mit pH-Elektrode SenTix 21, WTW GmbH & Co. KG, Weilheim) erfasst und mit zwei Nachkommastellen angegeben.

3.2.7 Histologische Untersuchung

3.2.7.1 Gewinnung des Probenmaterials

Um zu gewährleisten, dass es sich bei den sonographisch dargestellten Strukturen um Nebenhodengewebe, das frei von pathologischen Veränderungen ist, handelt, erfolgte eine histologische Untersuchung entsprechender Gewebeproben. Die Probennahme fand zwischen dem 340. und 385. Lebenstag statt.

3.2.7.1.1 Orchidektomie

Der operative Eingriff wurde am in Seitenlage befindlichen Tier durchgeführt. Dafür sind die Eber mit Hilfe von Futterangebot in den Kastenstand gelockt worden. Es folgte die intramuskuläre Injektion von Azaperon (Stresnil®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss; Dosierung 2 mg/kg KGW) zur Prämedikation. Nach dem Ablegen der Tiere wurde Ketamin (Ursotamin®, Serumwerke Bernburg AG, Bernburg; Dosierung 20 mg/kg KGW) intravenös appliziert, um ein operationsfähiges Stadium zu erreichen. Zur freien Einsicht des Operationsfeldes wurde die oben liegende Hintergliedmaße abduziert und nach kranial ausgebunden. Die präskrotale Schnittführung wurde durch einen Helfer ermöglicht, der den oben liegenden Hoden, mit Hilfe eines sterilen Tuches, nach kranial in die Regio pubis verlagerte. Somit konnte der Operateur in der Medianen einen 10 cm langen Hautschnitt über dem Hoden anlegen, welcher gegebenenfalls mit einer Beinschere verlängert wurde. Der zum Vorschein kommende Processus vaginalis wurde mittels Skalpell vorsichtig eröffnet. Durch Druck von kaudal fiel das Hodenkonvolut durch die Inzision vor. Es folgte das stumpfe Abpräparieren des Mesorchiums. Das Ligamentum caudae epididymidis wurde auf Vaskularisation beurteilt, gegebenenfalls ligiert und mit einem Emaskulator abgesetzt. Der Funiculus spermaticus ist mit einer Durchstichligatur (MARLIN® violett, PGA geflochten, 7 metric; Catgut GmbH, Markneukirchen) möglichst weit proximal doppelt abgebunden worden. Durch Verwendung eines Emaskulators wurde der Samenstrang 2 cm distal der Ligatur gequetscht und partiell durchtrennt. Zur Aufrechterhaltung der Quetschwirkung wurde der Emaskulators über drei Minuten arretiert. Während dieser Zeit durchtrennte der Operateur den Samenstrang

mittels Skalpell distal, nahe am geschlossenen Emaskulator, und setzte den Hoden somit vollständig ab. Der Stumpf des Samenstrangs wurde nach geöffneter
Kastrationszange auf Nachblutungen kontrolliert und zurück in die Bauchhöhle verlagert.

Der zweite Hoden wurde durch die bereits geschaffene Inzision vorgelagert und in gleicher Weise abgesetzt.

Der Wundverschluss erfolgte durch Einzelhefte einer horizontalen Matratzennaht (Safil® violett, PGA geflochten, 5 metric; Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen), welche Processus vaginalis, Subkutis und äußere Haut gleichzeitig erfassten. Am kaudalen Wundwinkel wurde eine 3 cm lange Öffnung belassen, um den Abfluss von Wundsekret zu gewährleisten.

3.2.7.1.2 Probennahme sensu stricto

Zur weiteren Verarbeitung wurden die frisch gewonnenen Hodenkonvolute jeweils in ein 1000 ml Becherglas überführt. Die Gläser waren mit 0,1 molarem Natriumphosphatpuffer befüllt, um Austrocknung und andere schädigende Einflüsse auf epididymales und testikuläres Gewebe zu vermeiden. Diese Pufferlösung setzte sich folgendermaßen zusammen:

0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 7,2):

Lösung A:	NaH2PO4 x H2O Aqua dest.	13,8 g ad 1000 ml
Lösung B:	Na2HPO4 x H2O Aqua dest.	17,8 g ad 1000 ml

Mischungsverhältnis: 28,3 Teile Lösung A : 71,7 Teile Lösung B

Da die Pufferwirkung nur unter gekühlten Bedingungen gegeben ist, wurden die befüllten Bechergläser in zerstoßenem Eis gelagert.

Die eigentliche Probennahme begann mit der Abtrennung des Funiculus spermaticus von Hoden und Nebenhoden mit Hilfe einer Skalpellklinge (Skalpellklingen 12, Rüttgers GmbH & Co. KG, Solingen). Es folgte das Absetzen des Epididymis vom Hoden. Aus den Bereichen Nebenhodenkopf, Nebenhodenschwanz und Hoden wurden jeweils zwei ca. 10 x 5 x 5 mm große Quader entnommen (Abbildung 6). Vom Nebenhodenkörper wurden zwei ca. 5 mm starke Organquerschnitte als

Probenmaterial verwendet. Die Entnahmestellen entsprachen den Arealen, die vorher zur Graustufenanalyse herangezogen worden waren. Laut Segmenteinteilung des Epididymis nach WROBEL und FALLENBACHER (1974a) lagen die Bezirke beim Caput epididymidis in Segment 3, beim Corpus epididymidis in Segment 5 und bei der Cauda epididymidis in Segment 6.



Abbildung 6: Entnahmestellen der Gewebeproben und Segmente 1-6 der Einteilung des Nebenhodens nach WROBEL und FALLENBACHER (1974a)

- A: Entnahmestelle Nebenhodenkopf
- B: Entnahmestelle Nebenhodenkörper
- C: Entnahmestelle Nebenhodenschwanz
- D: Entnahmestelle Hoden

3.2.7.2 Fixierung des Probenmaterials

Die Gewebestücke wurden in 50 ml Tubes (Cellstar® PP-Test Tubes, steril; Greiner Bio-One GmbH, Solingen) verbracht, welche mit Bouin'scher Lösung als Fixationsmittel befüllt waren. Diese Lösung bestand aus den Komponenten Pikrinsäure (Picric Acid – Saturated Solution, 1,3 %; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim), Formalin (Formaldehydlösung min. 37 %; Merck KGaA, Darmstadt) und Eisessig (Essigsäure 100 %, wasserfrei; Merck KGaA, Darmstadt) im Verhältnis 15 : 5 : 1. Nach einer Inkubationszeit von 20 Stunden wurde die Bouin'sche Lösung dekantiert und das Probenmaterial mit 70 %-igem Ethanol (aus Ethanol ≥ 99,8 %, DAB, reinst; Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) überschichtet. Es folgte das mehrmalige Spülen mit 70 %-igen Ethanol bis eine minimale Gelbfärbung des Alkohols angezeigt war.

3.2.7.3 Einbettung des Probenmaterials

Zur Dehydrierung wurden die Gewebestücke, jeweils einzeln in vorbeschrifteten Einbettkassetten, in einen automatischen Gewebeaufbereiter (Histokinette Leica TP 1050 Vacuum tissue processor; Leica Biosystems GmbH, Nussloch) verbracht. Die Einbettung in Paraffinwachs erfolgte mit einem halbautomatischen Histoembeeder (Leica EG 1160; Leica Biosystems GmbH, Nussloch). Dabei wurden die einzelnen Proben in Bleiformen mit flüssigem Paraffinwachs überschichtet und auf einer Kühlplatte bei – 4 $^{\circ}$ aushärten gelassen.

3.2.7.4 Herstellung der Gewebeschnitte

3.2.7.4.1 Objektträgerbeschichtung

Handelsübliche Objektträger (IDL Objektträger, 76x26mm, Mattrand; Interessengemeinschaft der Laborfachhändler GmbH & Co. KG, Nidderau) wurden nach folgendem Protokoll mit 3-Aminopropyltriethoxysilan (APES) beschichtet:

1.) Objektträger mit Aqua dest. waschen.

- 2.) " mit Ethanol \geq 99,8 % entfetten, trocknen lassen.
- 3.) " 20 Sekunden in APES / Aceton- Mischung (1 : 50) eintauchen.
- 4.) " zweimal kurz in Aceton reinst waschen.
- 5.) " zweimal kurz in Aqua bidest. waschen.
- 6.) " 24 Stunden im Wärmeschrank bei 37 °C trocknen.

3.2.7.4.2 Anfertigung der Schnitte

Mit einem Rotationsmikrotom (Leica RM 2125 RT mit Klingen Leica 819; Leica Biosystems GmbH, Nussloch) wurde von jeder Probe ein 5 µm breiter Gewebeschnitt angefertigt. Zur Streckung und Entfaltung wurden die Schnitte in ein auf 38 °C temperiertes Wasserbad (GFL 1052; Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel) gesetzt. Es folgte das Aufziehen auf die oben genannten APES-Objektträger und eine Lufttrocknung über 24 Stunden bei Raumtemperatur.

3.2.7.5 Färbung der Schnitte

Zur Entparaffinierung wurden die Schnitte 20 Minuten in reines Xylol (Xylol (Isomerengemisch); Merck Schuchardt OHG, Hohenbrunn) verbracht. Anschließend folgte die Rehydrierung in absteigender Alkoholreihe für jeweils 5 Minuten in reinem, 96 %-igem, 80 %-igem, 70 %-igem, 60 %-igem und 50 %-igem Ethanol (aus Ethanol ≥ 99,8 %, DAB, reinst; Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe). Vor der eigentlichen Färbung wurden die Schnitte für 5 Minuten in Aqua dest. gespült.

Der Färbeprozess begann mit dem Verbringen der Schnitte in 50 %-iges Hämatoxylin (Hämatoxylin-Lösung modifiziert nach Gill III; Merck KGaA, Darmstadt) für 9 Minuten.

Es folgte das "Bläuen" durch Spülung unter fließendem Leitungswasser für 12 Minuten. Danach wurde mit 1 %-igem Eosin (Eosin gelblich; Fluka Chemie AG; CH-9470 Buchs) für 5 Minuten gegengefärbt. Um die überschüssige Eosinlösung aus dem Gewebe zu entfernen, schloss sich ein kurzes Eintauchen der Schnitte in Leitungswasser und in 80 %-igem Ethanol an. Dabei wurde die Farbintensität des Eosins in den Schnitten mit Hilfe eines Lichtmikroskops (Leica DM 1000; Leica Microsystems GmbH, Wetzlar) unter Durchlicht bei 100-facher Vergrößerung kontrolliert, und gegebenenfalls durch wiederholtes Eintauchen in Ethanol nach unten korrigiert. Anschließend erfolgte die Dehydrierung in reinem Ethanol für 2 x 2,5 Minuten und in reinem Xylol für 2 x 10 Minuten. Eingedeckt wurden die Präparate, indem einige Tropfen des Einschlussmittels Assistent Histokitt (Chemi-Teknik A/S, Oslo, Norwegen) auf die Schnitte getropft und ein Deckglas aufgelegt wurde. Dabei auftretende Lufteinschlüsse sind durch sanften Druck auf das Deckglas beseitigt worden. Die Aushärtung des Eindeckmediums erfolgte bei Raumtemperatur.

63

3.2.7.6 Lichtmikroskopische Auswertung

Bei der histologischen Betrachtung der angefertigten Gewebeschnitte wurden qualitative und quantitative (histomorphometrische) Merkmale untersucht. Die Zielsetzung richtete sich dabei darauf zu zeigen, dass die einzelnen Schnitte lichtmikroskopisch gesundes Nebenhodengewebe repräsentieren. Das dazugehörige Hodengewebe wurde jeweils mit betrachtet, um lichtmikroskopisch erkennbare Störungen der Spermatogenese auszuschließen.

Alle histologischen Präparate wurden unter Durchlicht bei 25- bis 400-facher Vergrößerung stets durch die gleiche Person beurteilt und digitalphotographisch erfasst (Mikroskop Leica DM-R; Leica Microsystems GmbH, Wetzlar mit Digitalkamera Leica DC 300; Leica Microsystems AG, CH-9435 Heerbrugg).

3.2.7.6.1 Epididymis

Die Schnitte des Nebenhodenkopfes entsprachen laut Einteilung nach WROBEL und FALLENBACHER (1974a, 1974b) dem dritten Nebenhodensegment. Beim Nebenhodenkörper wurde Segment 5, beim Nebenhodenschwanz Segment 6 als Referenz herangezogen.

Demzufolge wurden die Präparate systematisch auf die einzelnen Merkmale hin untersucht und diese, inklusive eventueller Abweichungen, festgehalten.

Am Beginn der Betrachtung stand das fibro-muskuläre Interstitium. Neben der groben Verteilung der kollagenen Fasern wurde das Augenmerk auf die Kapillaren, einschließlich Inhalt und perivaskulärem Raum, gerichtet. An der Tunica muscularis wurde die Anzahl der Lagen von Muskelzellen bestimmt.

Der Ductus epididymidis wurde hinsichtlich Schnittbild, Epithelintegrität, Epitheltyp, Epithelhöhe, Anordnung der epithelialen Zellkerne, epithelialem Zytoplasma, luminalem Inhalt und Durchmesser untersucht.

Die histomorphometrisch ermittelten Werte für Epithelhöhe und luminalen Durchmesser sind Ergebnis des arithmetischen Mittelwertes aus jeweils mindestens fünf Einzelmessungen und werden in µm angegeben.

3.2.7.6.2 Testis

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung des porzinen Hodens wurde, wie beim Nebenhoden, zuerst das bindegewebige Interstitium betrachtet. Dabei überprüfte die

Untersuchungsperson die Kapillaren inklusive Inhalt, den perivaskulären Raum und die Ausprägung der testikulären Septen. Darüber hinaus wurden die Leydig'schen Zwischenzellen begutachtet und festgestellt, ob sie die dominante Zellfraktion des Interstitiums bilden.

Die Tubuli seminiferi wurden hinsichtlich Vollständigkeit des Keimepithels überprüft. Im Einzelnen sind folgende Zelltypen, von basal nach luminal, in die Betrachtung eingegangen: Spermatogonien, Sertoli-Zellen, primäre Spermatozyten, runde Spermatiden, elongierende Spermatiden, elongierte Spermatiden und Spermatozoen.

3.2.8 Statistische Methoden

Die statistischen Auswertungen erfolgten in der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen unter Verwendung des Statistikprogrammpakets BMDP/Dynamic, Release 7.0 (DIXON, 1993). Die graphischen Abbildungen wurden auf einem Personalcomputer mit dem Programm Microsoft® Excel® 2003 (Microsoft® Corporation) erzeugt.

Zur Deskription Daten wurden arithmetische der Mittelwerte $(\overline{\mathbf{x}})$ mit Standardabweichungen Standardfehler Mittelwertes (SEM, s/\sqrt{n}), (s), des Variationskoeffizienten $(S/\overline{X}),$ Minima (X min), Maxima (x max) und Stichprobenumfänge (n) berechnet und tabellarisch wiedergegeben. Bei rechtsschiefer Verteilung positiver quantitativer Merkmale wurde eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt.

Die qualitativen Merkmale wurden nach Gruppen getrennt ausgezählt und in Form von Häufigkeitstabellen dargestellt.

Beim Vergleich der Gruppen auf signifikante Unterschiede in den einzelnen Parametern kam der t-Test zum Einsatz. Diesem ging jeweils ein Levene-Test voraus, um die Merkmale auf gruppenabhängige Streuungsunterschiede zu prüfen. Die Berechnungen beider Testverfahren wurden mit dem Programm BMDP3D durchgeführt.

65

Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei den quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelationsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) und der Regressionsgeraden (y = mx + b) (Tabelle 10).

Zur statistischen Prüfung des Zeit- und Lokalisationseinflusses auf Signifikanz wurde bei den angenähert normalverteilten Parametern der sonographischen Untersuchung eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit dem Programm BMDP2V durchgeführt.

Die einzelnen Ergebnisse wurden mit zwei Nachkommastellen angegeben. Bei der Bewertung der Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt, das heißt Ergebnisse mit p $\leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen. Die Angabe der p-Werte erfolgte – wenn möglich – exakt.

Bei allen klinischen, sonographischen und spermatologischen Untersuchungen standen die Daten des gesamten Probenkollektivs zur Verfügung (n = 10). Für die histologische Untersuchung fanden neun Tiere Berücksichtigung, da bei einem Probanden auf eine Orchidektomie und somit Probennahme verzichtet wurde.

Tabelle 10:	Angewandte Korre	elationsanalysen	mit BMDP6D
-------------	------------------	------------------	------------

	Korrelation		
	Parameter 1	Parameter 2	Statistisches Verfahren
Spermatologische Untersuchung	Volumen, pH-Wert, Spermiengesamtzahl, Dichte, Gesamtmotilität, Vorwärtsbeweglichkeit, lebende Spermien, tote Spermien, pathologisch veränderte Spermien, curled tails, not curled tails, Motilitätsparameter von SpermVision® (siehe Tabelle 8)	Rektale Körpertemperatur	Pearsonscher Produkt- Moment- Korrelationskoeffizient r
e Untersuchung	Mittlerer Grauwert von Caput, Corpus und Cauda epididymidis; Häufigster Grauwert von Caput, Corpus und Cauda epididymidis	Konsistenz von Caput, Corpus und Cauda epididymidis	Pearsonscher Produkt- Moment- Korrelationskoeffizient r
Sonographische	Mittlerer Grauwert von Caput, Corpus und Cauda epididymidis; Häufigster Grauwert von Caput, Corpus und Cauda epididymidis	Spermiengesamtzahl, Ejakulatvolumen	Pearsonscher Produkt- Moment- Korrelationskoeffizient r

4 ERGEBNISSE

4.1 Klinische, spermatologische und histologische Untersuchungsbefunde

4.1.1 Klinische Allgemeinbefunde

Die bei zehn geschlechtsreifen Ebern, welche während des Untersuchungszeitraumes zwischen 215 und 285 Tage alt waren, erhobenen klinischen Befunde sind in Tabelle 11 aufgeführt. Dabei wurde für die Parameter Körperinnentemperatur (KT), Körpergewicht (KGW) und Scheitel-Steiß-Länge (SSL) jeweils der arithmetische Mittelwert (\bar{x}), die Standardabweichung (s), der Standardfehler des Mittelwertes (SEM) sowie die Minima (x min), Maxima (x max) und deren Spannweite (Range) berechnet.

Tabelle 11:	Klinische Befunde von zehn Ebern über sechs Messzeitpunkte (jewei	ls
	n = 60)	

	Mittelwert (\overline{x})	S	SEM	x min	x max	Range
КТ	38,47	± 0,21	0,03	38,00	39,00	1,00
KGW	181,48	± 14,08	1,82	151,00	214,00	63,00
SSL	167,35	± 6,19	0,80	154,00	180,00	26,00

- KT: Körpertemperatur in °C
- KGW: Körpergewicht in kg
- SSL: Scheitel-Steiß-Länge in cm
- s: Standardabweichung
- SEM: Standardfehler des Mittelwertes
- x min: kleinster Wert der Messreihe
- x max: größter Wert der Messreihe
- Range: Spannweite

Die Zunahmen des Körpergewichts und der Scheitel-Steiß-Länge über die sechs Untersuchungszeitpunkte (Woche 1 – 6) sind in den Abbildungen 7 und 8 graphisch dargestellt. Das KGW nahm von 167,4 \pm 10,0 auf 196,4 \pm 10,5 kg und die SSL von 162,9 \pm 5,5 auf 171,9 \pm 5,4 cm zu. Die gemittelte Körperinnentemperatur blieb über den gesamten Untersuchungszeitraum nahezu gleich, wobei sich sämtliche Einzelmessungen im physiologischen Bereich bewegten.



Abbildung 7: Verlauf des Körpergewichtes der zehn Eber (n = 10) über den Untersuchungszeitraum von sechs Wochen





Des Weiteren wurden der Parameter Futteraufnahme sowie eventuell auftretende Gesundheitsstörungen dokumentiert. Alle Tiere nahmen während des gesamten Untersuchungszeitraumes die angebotene Futtermenge auf. Die Betrachtung der unter 3.2.3.5 genannten Merkmale ergab ein Ausbleiben von äußerlich sichtbaren Gesundheitsstörungen im Probandenkollektiv.

4.1.2 Andrologische Befunde

Die Ergebnisse der Testikulometrie und der Konsistenzmessungen am Hoden bzw. Nebenhoden sind in Tabelle 12 getrennt nach Körperseite aufgeführt. Die Hodenlänge umfasste dabei die Länge des Hodens inklusive Nebenhoden und Skrotum (18,4 \pm 1,1 cm links und 18,2 \pm 1,1 cm rechts). Die Hodenbreite schloss die doppelte Dicke der Skrotalhaut mit ein (8,7 \pm 0,6 cm links und 8,7 \pm 0,6 cm rechts). Diese quantitativen Daten gingen auf In-vivo-Untersuchungen zurück.

Als qualitative Merkmale galten Verschieblichkeit, Abziehbarkeit und vermehrte Wärme der Skrotalhaut. Darüber hinaus zählten dazu Form, Lage, Symmetrie und Schmerzhaftigkeit von Hoden und Nebenhodenschwanz. Die Skrotalhaut sämtlicher Tiere war leicht verschieblich, abziehbar sowie frei von vermehrter Wärme. Eine längs-ovale Form, symmetrische Ausprägung und perineale Lage konnte allen Hoden zugesprochen werden, welche zudem Schmerzfreiheit aufwiesen. Die Nebenhodenschwänze aller Probanden lagen den kaudo-dorsalen Hodenenden symmetrisch auf und traten hier als walnussgroße, kolbige Ausbuchtungen in Erscheinung.

	Mittelwert ($\overline{\mathbf{X}}$)	S	SEM	x min	x max	Range
HI li	18,39	± 1,07	0,14	16,80	21,00	4,20
HI re	18,24	± 1,08	0,14	16,30	21,20	4,90
Hb li	8,70	± 0,60	0,08	7,70	9,90	2,20
Hb re	8,68	± 0,63	0,08	7,60	9,90	2,30
Kst Ho li	4,95	± 0,44	0,06	3,95	5,80	1,85
Kst Ho re	4,95	± 0,42	0,05	4,12	5,67	1,55
Kst NHS li	6,35	± 0,37	0,05	5,71	7,12	1,41
Kst NHS re	6,44	± 0,37	0,05	5,62	7,16	1,54
Kst NHK li	3,22	± 0,64	0,08	2,00	4,00	2,00
Kst NHK re	3,23	± 0,65	0,08	2,00	4,00	2,00

Tabelle 12: Andrologische Befunde von zehn Ebern über sechs Messzeitpunkte (jeweils n = 60)

HI li/re:	Hodenlänge links / rechts in cm
-----------	---------------------------------

- Hb li/re: Hodenbreite links / rechts in cm
- Kst Ho li/re: Konsistenz Hoden links / rechts in mm
- Kst NHS li/re: Konsistenz Nebenhodenschwanz links / rechts in mm
- Kst NHK li/re: Konsistenz Nebenhodenkopf links / rechts nach Score-System (Tabelle 7)
- s: Standardabweichung
- SEM: Standardfehler des Mittelwertes
- x min: kleinster Wert der Messreihe
- x max: größter Wert der Messreihe
- Range: Spannweite

Ergebnisse

In den Abbildungen 9 und 10 ist die Entwicklung von Hodenlänge bzw. -breite der Eber (n = 10) über die sechswöchige Untersuchungsperiode graphisch dargestellt. Für beide Parameter wurden die Werte des rechten und linken Hodens zusammengefasst, so dass jeder eingezeichnete Punkt dem arithmetischen Mittelwert (inklusive Standardabweichung) von 20 Einzelmessungen entspricht. Die Hodenlänge fiel über den Untersuchungszeitraum von 18,96 ± 0,85 cm auf 17,83 ± 0,85 cm ab, während die Hodenbreite einen annähernd konstanten Wert aufwies (Woche 1: 8,84 ± 0,60 cm; Woche 6: 8,59 ± 0,59 cm).



Abbildung 9: Entwicklung der Hodenlänge der zehn Eber (n = 10) über den Untersuchungszeitraum von sechs Wochen



Abbildung 10: Entwicklung der Hodenbreite der zehn Eber (n = 10) über den Untersuchungszeitraum von sechs Wochen

4.1.3 Spermatologische Befunde

Alle untersuchten Eber zeigten bei Anwesenheit eines Sprungpartners (Phantom) eine ausreichende bis ausgeprägte Libido sexualis und einen ungestörten Ablauf der Paarungsreflexkette.

Die gewonnenen Ejakulate wiesen bei der makroskopischen Beurteilung eine grauweiße Farbe, eine molkige bis milchige Konsistenz und den geschlechtsspezifischen Geruch auf. Zudem waren sie frei von partikulären Beimengungen. Die Resultate der Volumetrie, der pH-Messung und der mikroskopischen Untersuchung sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tabelle 13:Spermatologische Befunde von zehn Ebern über sechs Messzeitpunkte
(n = 60)

					ſ	_
	Mittelwert (X)	S	SEM	x min	x max	Range
Volumen	214,35	72,17	9,32	76,00	360,00	284,00
pH-Wert	7,48	0,12	0,15	7,23	7,97	0,74
GSZ	84,78	24,01	3,10	45,14	201,25	156,11
Dichte	413,25	82,38	10,64	288,00	594,00	306,00
Total Mot	91,08	5,58	0,72	71,67	98,24	26,57
Prog Mot	78,39	9,95	1,28	41,14	93,82	52,68
Prim Path	3,19	3,41	0,45	0,00	17,50	17,50
Sek Path	1,98	2,15	0,28	0,00	7,00	7,00
PlasmaT	11,41	6,57	0,86	0,00	28,00	28,00
Path Ges	5,19	3,75	0,48	0,00	16,50	16,50
HOS c	50,03	16,11	2,08	7,00	79,00	72,00
HOS nc	49,97	16,11	2,08	21,00	93,00	72,00
DCL	56,23	15,46	2,00	29,04	92,59	63,55
DAP	30,03	7,87	1,02	16,07	46,03	29,96
DSL	19,23	6,80	0,88	8,59	34,66	26,07
VCL	123,30	36,36	4,69	62,50	202,28	139,78
VAP	65,99	18,70	2,42	33,93	102,87	68,94

VSL	42,45	15,80	2,04	18,80	77,63	58,83
ALH	3,35	0,60	0,77	2,03	4,69	2,66
BCF	33,09	5,03	0,65	24,49	41,93	17,44
STR	0,63	0,08	0,01	0,40	0,76	0,36
WOB	0,53	0,03	0,004	0,49	0,64	0,15
LIN	0,33	0,04	0,01	0,25	0,43	0,18
AOC	19,59	5,55	0,72	9,56	29,60	20,04

- s: Standardabweichung
- SEM: Standardfehler des Mittelwertes
- x min: kleinster Wert der Messreihe
- x max: größter Wert der Messreihe
- Range: Spannweite
- Volumen: Ejakulatvolumen in ml
- GSZ: Spermiengesamtzahl in Milliarden
- Dichte: Ejakulatdichte in Millionen Spermien / ml
- Total Mot: Gesamtmotilität in %
- Prog Mot: Vorwärtsmotilität in %
- Prim Path: Primär pathomorphologisch veränderte Spermien in %
- Sek Path: Sekundär pathomorphologisch veränderte Spermien in %
- PlasmaT: Spermien mit persistierendem Plasmatropfen in %
- Path Ges: Gesamtanteil der pathomorphologisch veränderten Spermien in %
- HOS c: Spermien mit aufgerolltem (= curled) Schwanz in %
- HOS nc: Spermien ohne aufgerollten (= not curled) Schwanz in %
- DCL AOC: Die Erläuterungen der Motilitätsparameter sind Tabelle 8, Abschnitt 3.2.6.2.1 zu entnehmen.

In den Abbildungen 11 A – D sind die arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen der Parameter Ejakulatvolumen, Ejakulatdichte, Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien und Anteil der pathomorphologisch veränderten Spermien für die einzelnen Probanden graphisch dargestellt. Diese gehen jeweils auf eine Anzahl von sechs Ejakulaten zurück (n = 6).



Abbildung 11 A: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Ejakulatvolumina in ml (jeweils n = 6 Ejakulate)



Abbildung 11 B: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Ejakulatdichten in Millionen Spermien pro µl (jeweils n = 6 Ejakulate)



Abbildung 11 C: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Vorwärtsbeweglichkeiten der Spermien in % (jeweils n = 6 Ejakulate)



Abbildung 11 D: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen der Gesamtanteile an pathomorphologisch veränderten Spermien in % (jeweils n = 6 Ejakulate)

4.1.4 Histologische Befunde

Insgesamt standen für die histologische Untersuchung die Hoden und Nebenhoden von neun Ebern nach Kastration als Probenmaterial zur Verfügung (n = 9).

Die angefertigten Gewebeschnitte von Caput, Corpus und Cauda epididymidis wurden auf die qualitativen und quantitativen Merkmale der histologischen Nebenhodensegmente hin betrachtet. Diese Befunde wurden durch die lichtmikroskopische Beurteilung des Hodengewebes ergänzt, um eine genauere Aussage über den testikulären Gesundheitsstatus treffen zu können.

4.1.4.1 Epididymis

Alle histologischen Schnittbilder des Nebenhodenkopfes (n = 18) entsprachen Segment 3 der oben genannten Einteilung (distaler Caput epididymidis). Das Epithel des Ductus epididymidis zeigte den typischen zweireihigen Aufbau, welcher sich aus hochzylindrischen Hauptzellen mit Stereozilien (apikal) und polygonalen Basalzellen zusammensetzte. Die Hauptzellkerne waren nahezu alle in der basalen Zellhälfte lokalisiert und nur undeutlich von den Basalzellkernen abzugrenzen. Das Zytoplasma der Hauptzellen enthielt mittelgradig azidophile Granula. Zudem traten intraepithelial vereinzelt lymphoide Zellen auf. Der Verlauf des Epithels erschien ungebuchtet. Das Lumen des Nebenhodenganges beinhaltete eine große Zahl an miteinander verklumpten Spermatozoen. Subepithelial war der Ductus epididymidis von mehreren zirkulären Lagen glatter Muskelzellen begrenzt, deren durchschnittliche Anzahl Tabelle 14 zu entnehmen ist. Das bindegewebige Interstitium wies bei keinem der Tiere eine perivaskuläre Infiltration mit Entzündungszellen auf (Abbildung 12 A und B).

Histomorphometrisch wurden die Parameter "Epithelhöhe" und "luminaler Durchmesser" erfasst. Die arithmetischen Mittelwerte der beiden Merkmale beruhen auf jeweils n = 72 Einzelmessungen (9 Eber x 2 Nebenhoden x 4 Messungen) und sind inklusive Standardabweichung in Tabelle 14 aufgelistet.

77

Tabelle 14: Histologische und histomorphometrische Befunde (n = 9 Eber) des Epididymis

		Caput epididymis	Corpus epididymidis	Cauda epididymidis
Segment		3	5	6
Luminaler ø in µm	X	438,02	431,84	800,72
(n = 72)	S	39,68	44,57	73,71
Epithelhöhe in µm	x	69,81	74,00	44,88
(n = 72)	S	4,35	4,59	4,22
Schichten an	x	3,89	4,44	11,28
Myozyten¹ (n =18)	S	0,32	0,51	1,36
Perivaskuläre Entzündungs- infiltrationen	ja / nein	nein	nein	nein
Spermatozoen	ja / nein	ja	ja	ja
Buchtung des Epithels²	0 - 2	0	0 + 1	2

- ¹ Die Anzahl der Myozytenschichten wurde subjektiv bewertet (9 Eber x 2 Nebenhoden x 1 Beurteilung).
- ² Die Ziffern haben folgende Bedeutung:
 - 0 = ungebuchtet
 - 1 = leicht gebuchtet
 - 2 = stark gebuchtet
- $\overline{x}:$ arithmetischer Mittelwert
- s: Standardabweichung

Ergebnisse



Abbildung 12: Caput epididymidis (Segment 3), Hämatoxylin-Eosin-Färbung

- A) Übersicht über das epididymale Gewebe, Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
- B) Querschnitt des Ductus epididymidis, Vergrößerung 200fach,
 Balkenlänge 50 µm

Der Ductus epididymidis wies im distalen Nebenhodenkörper (Segment 5) bei sämtlichen Präparaten ein zweireihiges Epithel mit Stereozilien, welches aus Hauptund Basalzellen bestand, auf (Abbildung 13 A und B). Im Gegensatz zum Nebenhodenkopf waren die Hauptzellkerne und die Kerne der Basalzellen durch eine kernfreie Zytoplasmazone deutlich voneinander abgesetzt. Zudem lagen die Basalzellkerne auf großen Strecken in zwei bis drei Schichten übereinander. Das Zytoplasma der Hauptzellen war im lumenseitigen Drittel nahezu kernfrei und enthielt wenig azidophile Granula. Intraepithelial traten vereinzelte Lymphozyten und Makrophagen auf. Der Verlauf des Epithels erschien im Querschnitt abschnittsweise leicht gebuchtet (Abbildung 13 C) und teils glatt (Abbildung 13 D). Die Faltenkämme der gebuchteten Bezirke wiesen tropfenförmige Zytoplasmaprojektionen auf, die oben genannte Granula enthielten und scheinbar in das Lumen abgeschnürt werden. Diese Sekretionsprodukte bildeten zusammen mit einer großen Anzahl an Spermatozoen den luminalen Inhalt. Der subepitheliale Raum war durch mehrere Lagen zirkulär angeordneter, glatter Myozyten gekennzeichnet (siehe Tabelle 14). Im interstitiellen Gewebe des Corpus epididymidis war keine Infiltration von Entzündungszellen nachweisbar. Als quantitative Daten wurden die Epithelhöhe $(74,00 \pm 4,59 \ \mu m)$ und der luminale Durchmesser $(431,84 \pm 44,57 \ \mu m)$ histomorphometrisch erhoben.



- Abbildung 13:Corpus epididymidis (Segment 5), Hämatoxylin-Eosin-FärbungA)Übersicht über das epididymale Gewebe, Vergrößerung 25fach,
 - Balkenlänge 500 µm
 - B) Zwei Querschnitte des Ductus epididymidis, Vergrößerung 100fach, Balkenlänge 100 µm
 - C) Zweireihiges hochprismatisches Epithel des Ductus epididymidis mit gebuchtetem Verlauf, Vergrößerung 400fach, Balkenlänge 20 µm
 - D) Zweireihiges hochprismatisches Epithel des Ductus epididymidis mit glattem Verlauf, Vergrößerung 400fach, Balkenlänge 20 µm

Die Schnittbilder des Cauda epididymidis (Segment 6) wiesen hinsichtlich ihrer histologischen Charakteristika deutliche Unterschiede zu Segment 3 und 5 auf. Das zweireihige hochprismatische Epithel (Haupt- und Basalzellen) des Ductus epididymidis erschien im Querschnitt stark gebuchtet (Abbildung 14 A - D). An den epithelialen Faltenkämmen waren hochgradig sich abschnürende

Ergebnisse

Zytoplasmaprojektionen nachweisbar (Abbildung 14 C). Das Zytoplasma der Hauptzellen enthielt wenig bis keine azidophile Granula. Intraepithelial traten sporadisch lymphoide Zellen auf. Die Epithelhöhe fiel im Vergleich zum Nebenhodenkörper auf einen Wert von 44,88 \pm 4,22 µm ab. Dementgegen stieg der luminale Durchmesser des Nebenhodenganges auf ein Maximum von 800,72 \pm 73,71 µm an. Der luminale Inhalt bestand neben azidophiler Granula und Zytoplasmabestandteilen aus einem Spermienkonglomerat. Die subepithelial lokalisierten, glatten Muskelzellen bildeten eine prominente Tunica muscularis (Abbildung 14 B), die aus 10 – 13 Zelllagen bestand (Tabelle 14). Das Interstitium war durch das hohe Vorkommen von weitlumigen Kapillaren gekennzeichnet (Abbildung 14 D). In keinem Präparat des sechsten Segmentes konnte eine Infiltration mit inflammatorischen Zellen nachgewiesen werden.



- Abbildung 14: Cauda epididymidis (Segment 6), Hämatoxylin-Eosin-Färbung
 - A) Übersicht über das epididymale Gewebe, Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
 - B) Querschnitt des Ductus epididymidis, Vergrößerung 100fach,
 Balkenlänge 100 µm
 - C) Zweireihiges hochprismatisches Epithel des Ductus epididymidis, Vergrößerung 400fach, Balkenlänge 20 µm
 - D) Interstitielle Kapillaren, Vergrößerung 100fach, Balkenlänge 100 µm

4.1.4.2 Testis

Bei der histologischen Untersuchung des testikulären Gewebes wurden die Samenkanälchen und das Interstitium beurteilt. Das Keimepithel aller examinierten Tubuli seminiferi wies die physiologisch vorhandenen Zelltypen auf (Spermatogonien, Spermatozyten, runde Spermatiden, elongierende Spermatiden inklusive Sertoli-Zellen), welche eine vollständige Spermatogenese kennzeichnen (Abbildung 15 B). Eine klar definierte Basalmembran, der sich subepithelial eine Schicht aus Myofibroblasten anschloss, stellte die Trennlinie zwischen den einzelnen Tubuli und dem interstitiellen Gewebe dar. Des Weiteren war das komplette Hodenparenchym von bindegewebigen Septula testis durchzogen (Abbildung 15 A), die aus der kollagenfaserreichen Tunica albuginea entsprangen und größere Areale von Samenkanälchen begrenzten. Die intratestikulären Blutgefäße konnten in den Septen, innerhalb der Organkapsel und im Interstitium beurteilt werden. Eine perivaskuläre Infiltration mit Entzündungszellen war in keinem Präparat nachweisbar. Das Interstitium des Hoden wies neben lockeren kollagenen Fasern, Fibrozyten, Kapillaren und vereinzelten mononukleären Zellen ein hohes Vorkommen an Leydig'schen-Zwischenzellen auf. Sie zeichneten sich durch ihre polygonale Form, das stark azidophile Zytoplasma und durch einen runden Kern mit deutlichem Nukleolus aus (Abbildung 15 B). Als dominante Zellfraktion bestimmten die Leydig-Zellen das histologische Erscheinungsbild des testikulären Interstitiums.



Abbildung 15: Testis, Hämatoxylin-Eosin-Färbung

- A) Übersicht über das testikuläre Gewebe, Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
- B) Ausschnitt aus der Wand eines Tubulus seminiferus contortus mit spermatogenem Epithel und interstitiellen Leydig-Zellen, Vergrößerung 400fach, Balkenlänge 20 µm

4.2 Sonomorphologie des porzinen Epididymis

Um die sonographischen Charakteristika des Nebenhodens beim Schwein darzustellen, wurden die Lokalisationen Caput, Corpus und Cauda epididymidis abgebildet. Dabei kamen sowohl eine Linear- (Wiederholungsuntersuchung) als auch eine Mikrokonvex-Sonde (Graustufenanalyse) zum Einsatz.

4.2.1 Reproduzierbarkeit der sonographischen Darstellungen

Zum Nachweis der Reproduzierbarkeit hinsichtlich sonographischer Darstellung von Nebenhodenkopf, Nebenhodenkörper und Nebenhodenschwanz fanden zwei Arten der Wiederholungsuntersuchung Anwendung. Bei der zeitlichen Wiederholung wurde geprüft, ob sich die drei Lokalisationen des Nebenhodens aller Probanden an zehn aufeinander folgenden Tagen jeweils einmal sonographisch darstellen lassen (n = 10 pro Eber, Nebenhoden und Lokalisation). Des Weiteren erfolgte bei jedem Eber eine individuelle Wiederholungsuntersuchung. Dabei wurde getestet, ob es möglich ist Caput, Corpus und Cauda epididymidis fünfmal im Abstand von einer Minute mittels Ultraschall abzubilden (n = 5; Abbildung 16 A - E).

Sowohl bei der zeitlichen als auch bei der individuellen Wiederholung waren alle drei Lokalisationen des Nebenhodens immer sonographisch darstellbar.



Abbildungen 16 A – E: Fünfmalige sonographische Darstellung der rechten Cauda epididymidis eines Probanden im Rahmen der individuellen Wiederholungsuntersuchung (B-Mode, Längsschnitt, Linear-Scanner, 7,5 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB)

4.2.2 Caput epididymidis

Der Nebenhodenkopf wurde mit kranio-kaudal ausgerichteter Sonde (siehe 3.2.4.3) und einer Frequenz von 7,5 MHz (Linearscan) bzw. 9,0 MHz (Mikrokonvexscan) im Längsschnitt dargestellt.

Die Skrotalhaut war in direkter Schallkopfnähe als eine hyperechogene Linie zu erkennen. Subkutan folgten Tunica dartos, Bindegewebe und Faszien als eine dickere Schicht von 0,5 – 1 cm Ausmaß. Eine abwechselnde Echogenität von mittelund hochgradig echodichten Streifen verlieh diesem Areal ein heterogenes Grundmuster. Der darunter liegende Processus vaginalis stellte sich als hyperechogenes Band dar. Eine klare Abgrenzung dieser Struktur von der reflexreichen fibrösen Organkapsel des Caput epididymidis war sonographisch nicht immer möglich.

Der Nebenhodenkopf lag dem kranialen Hodenpol kappenartig auf. Die Abgrenzung zum testikulären Gewebe war über eine dünne, schwach echogene bis echolose Zone gegeben, die als Bursa testicularis angesehen wurde (Abbildung 17 A – D). Eine klare kraniale Trennlinie zum Funiculus spermaticus konnte nicht beobachtet werden. Beide Strukturen bildeten einen fließenden Übergang, wobei eine Unterscheidung in der Gewebetextur möglich gewesen ist. In der Tiefe konnte eine hyperechogene Zone dargestellt werden, die eine Trennung von Samenstrang und Nebenhodenkopf erlaubte. Das Gewebe des Caput epididymidis wies eine mittlere Echogenität auf, die im Vergleich zum Hodenparenchym geringgradig reflexreicher war. Die Textur des Nebenhodenkopfes war mittelgroß und fein gemustert, wobei die insgesamt homogene Struktur durch vereinzelte hyperechogene Streifen und kleine echoarme Areale unterbrochen war (Abbildungen 17 A + B).

Der Funiculus spermaticus wies großteils eine mittlere Echodichte auf. Dabei handelte es sich um Bindegewebe, Fettgewebe und das dichte venöse Geflecht des Plexus pampiniformis. Zudem war der Samenstrang von kreisrunden bis ovalen anechogenen Strukturen durchsetzt, welche Gefäßanschnitte der Arteria testicularis repräsentierten. Insgesamt unterschied sich der Funiculus spermaticus durch sein stark heterogenes Grundmuster vom Gewebe des Caput epididymidis.



Abbildung 17: B-Mode-Standbilder des Caput epididymidis (Längsschnitt)

A)+B): Linear-Scan; 7,5 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB,

Dynamikbereich 65 dB

C)+D): Mikrokonvex-Scan mit Histogrammen; 9,0 MHz,

Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB

- Cpe: Caput epididymidis
- Fsp: Funiculus spermaticus

T: Testis

Dicke Pfeile: Bursa testicularis

Dünne Pfeile: Anschnitte der Arteria testicularis

4.2.3 Corpus epididymidis

Die Darstellung des Nebenhodenkörpers erfolgte im sonographischen Querschnitt mit einer Frequenz von 5,0 MHz (Linear-Scan) bzw. 7,5 MHz (Mikrokonvex-Scan).

Auch hier erschien die Skrotalhaut als dünne echointensive Linie. Die Unterhaut sowie die testikulären Faszien wiesen als homogene Schicht eine mittelgradige Echogenität auf. Zwischen den hyperechogenen Linien des Processus vaginalis und der Tunica albuginea stellte sich das Cavum vaginale als eine schmale anechogene Zone dar. Dieser Hohlraum zeichnete sich zudem als echoloses Areal ab, das schallkopffern Hoden und Nebenhodenkörper flankierte (Abbildung 18 A – D).

Neben den Hodenhüllen wurde das homogene Hodenparenchym sonographisch abgebildet, welches ein fein marmoriertes Echomuster mittlerer Reflexgebung aufwies. In dessen Zentrum trat das Mediastinum testis als längsovale, hyperechogene Struktur in Erscheinung.

Der Nebenhodenkörper lag in Schallkopfferne dem Hoden als annähernd ovales Gebilde direkt auf. Seine fibröse Organkapsel stellte sich zusammen mit der Tunica albuginea in der Kontaktzone Testis – Epididymis als eine deutlich hyperechogene Trennschicht dar. Das Gewebe des Corpus epididymidis wies eine geringe bis mittlere Echogenität auf, welche im Vergleich zum Hoden reflexärmer war. Die Struktur des Nebenhodenkörpers war als inhomogen anzusehen, da sich Areale aus feinen, mittel echodichten Bildpunkten in gleichmäßigen Abständen mit kleinen echoarmen Bezirken abwechselten. In einigen Fällen waren innerhalb dieses Grundmusters sehr dünne hyperechogene Streifen sichtbar, welche als Bindegewebssepten angesprochen wurden.

In direkter Nachbarschaft zum Hoden und Nebenhodenkörper zeichnete sich in einigen Fällen schallkopffern das Mesorchium sonographisch ab. Die Gekrösefalte wies sowohl mittel bis stark echodichte Bezirke als auch anechogene Areale auf. Diese inhomogene grobe Musterung spiegelte den Gefäß- und Bindegewebsreichtum wider. Eine klare Abgrenzung zum Nebenhodenkörper konnte nicht beobachtet werden. Jedoch war die Unterscheidung der beiden Strukturen anhand ihrer divergierenden Muster für den geübten Untersucher möglich.

87



Abbildung 18:	B-Mode-Standbilder des Corpus epididymidis (Querschnitt)
	A)+B): Linear-Scan; 5,0 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB,
	Dynamikbereich 65 dB
	C)+D): Mikrokonvex-Scan mit Histogrammen; 7,5 MHz,
	Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB

Schwarze Pfeile: Mediastinum testis

Weiße Pfeile: Corpus epididymidis

- Cv: Cavum vaginale
- T: Testis

4.2.4 Cauda epididymidis

Die sonographische Darstellung der Cauda epididymidis erfolgte mit dorso-ventral ausgerichteter Sonde und einer Frequenz von 7,5 MHz (Linear-Scan) bzw. 9,0 MHz (Mikrokonvex-Scan) im Längsschnitt.

Die Hodenhüllen wiesen das gleiche Erscheinungsbild wie bei der Darstellung des Nebenhodenkörpers (siehe Abschnitt 4.2.3) auf. Des Weiteren ist auch hier das Cavum vaginale als anechogenes Areal erkennbar (Abbildung 19 A – D).

Der Nebenhodenschwanz lag dem Hoden als dorsale Kappe direkt auf. Eine Abgrenzung beider Strukturen war durch die echofreie Zone der Bursa testicularis gegeben, deren Breite mit steigender Echotiefe stetig zunahm (Abbildung 19 A + B). Das insgesamt schwach echogene Gewebe der Cauda epididymidis wies ein inhomogenes, stark marmoriertes Grundmuster auf. Dabei wechselten sich kreisrunde und ovale reflexlose Areale (Anschnitte des Ductus epididymidis) mit hyperechogenen Bezirken (Interstitium) ab, was dem Nebenhodenschwanz eine tubuläre Struktur verlieh. Insgesamt stellte sich das epididymale Gewebe im Vergleich zum testikulären Parenchym mit einer groben und großen Textur echoärmer dar.



- Abbildung 19: B-Mode-Standbilder des Cauda epididymidis (Längsschnitt) A)+B): Linear-Scan; 7,5 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB
 - C)+D): Mikrokonvex-Scan mit Histogrammen; 9,0 MHz,

Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB

- Weiße Pfeile: Bursa testicularis
- Cde: Cauda epididymidis
- Cv: Cavum vaginale
- T: Testis

4.3 Vergleich der anatomischen, histologischen und sonographischen Darstellung des porzinen Epididymis







Abbildung 20: Vergleichende Darstellung des

porzinen Caput epididymidis

- A) Makroskopische Anatomie
- B) Mikroskopische Anatomie;
 Hämatoxylin-Eosin-Färbung,
 Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
- C) Sonographie; Linear-Scan, 7,5 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB







Abbildung 21:

Vergleichende Darstellung des

porzinen Corpus epididymidis

- A) Makroskopische Anatomie
- B) Mikroskopische Anatomie;
 Hämatoxylin-Eosin-Färbung,
 Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
- C) Sonographie; Linear-Scan, 5,0 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB







Abbildung 22:

Vergleichende Darstellung des

- porzinen Cauda epididymidis
- A) Makroskopische Anatomie
- B) Mikroskopische Anatomie;
 Hämatoxylin-Eosin-Färbung,
 Vergrößerung 25fach,
 Balkenlänge 500 µm
- C) Sonographie; Linear-Scan, 7,5 MHz, Gesamtverstärkung 75 dB, Dynamikbereich 65 dB

4.4 Ergebnisse der quantitativen Graustufenanalyse

Die nachstehend aufgeführten Untersuchungsergebnisse basieren auf den Auswertungen der eindimensionalen Graustufenanalysen von Nebenhodenkopf, körper und -schwanz. Bei jedem Eber (n = 10) wurde pro Nebenhoden, Lokalisation und Untersuchungszeitpunkt (prä und post ejaculationem) ein möglichst artefaktarmes B-Mode-Standbild generiert, um darin zwei Regions of Interest (ROIs) zu analysieren. Die Analysen umfassten die Erhebung der Graustufenparameter mittlerer Grauwert (Lmean) und meist aufgefundener Grauwert (Nmost) inklusive der entsprechenden Histogramme. Durch eine sechsmalige Wiederholung im Abstand von einer Woche konnten arithmetische Mittelwerte (\bar{x}) mit Standardabweichungen (s) der genannten Parameter für die Lokalisationen und die Untersuchungszeitpunkte berechnet werden (aus jeweils 240 ROIs).

4.4.1 Caput epididymidis

Der Nebenhodenkopf wies von den drei untersuchten Lokalisationen des Nebenhoden die größte objektive Echodichte bezüglich mittlerer Grauwert (19,83 \pm 0,40) auf. Das arithmetische Mittel des Nmost-Wertes betrug 156,26 \pm 10,58. Die Auswertung der nach dem Spermienausstoß durchgeführten Vergleichsmessungen (Zeitpunkt 2) zeigte eine höchst signifikante Veränderung (p < 0,0001) der beiden Parameter (22,49 \pm 0,45 bzw. 144,90 \pm 6,31) in Abhängigkeit von der Ejakulation.

4.4.2 Corpus epididymidis

Auch beim Nebenhodenkörper konnten deutliche Unterschiede hinsichtlich des Untersuchungszeitpunktes nachgewiesen werden. Der mittlere Grauwert stieg von $15,95 \pm 0,46$ prä ejaculationem auf $17,84 \pm 0,45$ post ejaculationem an, während der Nmost-Wert von $80,53 \pm 4,59$ auf $77,28 \pm 4,19$ nach Spermienabgabe hin abfiel. Diese Veränderungen waren für beide Grauwertparameter höchst signifikant (p < 0,0001). Insgesamt wies das Gewebe des Nebenhodenkörpers eine objektive Echogenität (mittlerer Grauwert) auf, die zwischen Caput und Cauda epididymidis lag (siehe 4.4.4, Tabelle 15).

4.4.3 Cauda epididymidis

Der abwechselnd an- und hyperechogene Nebenhodenschwanz zeichnete sich durch die geringste Echodichte aller Nebenhodengewebe aus, was der mittlere Grauwert (Lmean) von $10,09 \pm 0,38$ prä ejaculationem verdeutlichte. Analog zu den beiden anderen epididymalen Lokalisationen stieg der Lmean auch hier höchst signifikant (p < 0,0001) an (12,07 ± 0,66). Die Veränderung des Nmost-Wertes verhielt sich gegensätzlich. Dabei war ein Abfall von 156,20 ± 8,52 vor dem Spermienausstoß auf 133,70 ± 6,73 post ejaculationem zu verzeichnen (p < 0,0001).

94

4.4.4 Vergleich der Grauwertparameter bezüglich Messzeitpunkt und Lokalisation

Die Lokalisationen Caput, Corpus und Cauda epididymidis wiesen sowohl im mittleren Grauwert als auch im Nmost-Wert höchst signifikante Unterschiede hinsichtlich des Messzeitpunktes auf (p < 0,0001). Des Weiteren hatten alle Nebenhodenanteile einen Anstieg des mittleren Grauwertes und einen Abfall des Nmost-Wertes post ejaculationem gemeinsam.

Beim Vergleich der Lokalisationen untereinander wurde aufgezeigt, dass sich die erfassten Grauwertparameter von Nebenhodenkopf, -körper und -schwanz höchst signifikant unterschieden (p < 0,0001). Somit konnte eine klare Rangfolge der Nebenhodenabschnitte hinsichtlich ihrer objektiven Echogenität festgelegt werden (Kopf \rightarrow Körper \rightarrow Schwanz; stark echogen \rightarrow schwach echogen). Zudem wurde die Wechselwirkung von Messzeitpunkt und Lokalisation auf Signifikanz geprüft. Die detaillierten Ergebnisse der Graustufenanalyse sind den Tabellen 15 – 18 zu entnehmen.

Tabelle 15:Vergleich der mittleren Grauwerte (Lmean) prä und post ejaculationem
(Zeitpunkt 1 und 2; jeweils n = 240)

	Zeitpunkt	Lmean (\overline{x})	Lmean (s)	Differenz (\overline{x})
Caput epididymidis	1	19,83	0,40	2.66
ouput opinious	2	22,49	0,45	2,00
Corpus epididymidis	1	15,95	0,46	1.90
	2	17,84	0,45	1,00
Cauda epididymidis	1	10,09	0,38	1.97
	2	12,07	0,66	.,07
Tabelle 16:Prüfung des Einflusses von Zeitpunkt und Lokalisation auf den mittleren
Grauwert (Lmean) mittels 2-faktorieller ANOVA (analysis of variance)

	Signifikanz
Zeitpunkt (prä / post ejaculationem)	p < 0,0001
Lokalisation (NHK, NHKÖ, NHS)	p < 0,0001
Wechselwirkung (Zeitpunkt x Lokalisation)	p < 0,0001

- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKÖ: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- Tabelle 17:Vergleich der Nmost-Werte prä und post ejaculationem (Zeitpunkt 1 und
2; jeweils n = 240)

	Zeitpunkt	Nmost (\overline{x})	Nmost (s)	Differenz (\overline{x})
Caput epididymidis	1	156,26	10,58	11.37
	2	144,90	6,31	
Corpus epididymidis	1	80,53	4,59	3 25
	2	77,28	4,19	0,20
Cauda epididymidis	1	156,20	8,52	22 30
	2	133,70	6,73	,00

Tabelle 18:Prüfung des Einflusses von Zeitpunkt und Lokalisation auf den Nmost-
Wert mittels 2-faktorieller ANOVA (analysis of variance)

	Signifikanz
Zeitpunkt (prä / post ejaculationem)	p < 0,0001
Lokalisation (NHK, NHKÖ, NHS)	p < 0,0001
Wechselwirkung (Zeitpunkt x Lokalisation)	p = 0,0031

NHK: Nebenhodenkopf

NHKÖ: Nebenhodenkörper

NHS: Nebenhodenschwanz

4.5 Gruppenunterschiede

Unter 3.1.1 und 3.2.1 wurde beschrieben, dass die Hälfte der Probanden perinatal mit Zearalenon belastet war. Um festzustellen ob sich die Mykotoxin-Exposition des Muttertieres auf die Geschlechtsgesundheit der Eber ausgewirkt hat, wurden die Parameter der klinischen, andrologischen, spermatologischen und sonographischen Untersuchung von Kontrollgruppe (n = 5) und Mykotoxin-Gruppe (n = 5) mittels t-Test verglichen. Diesem Verfahren ging ein Levene-Test voraus, um gruppenabhängige Streuungsunterschiede nachzuweisen bzw. auszuschließen. Für beide Methoden wurde ein Signifikanzniveau von p < 0,05 zugrunde gelegt.

Innerhalb der klinischen Parameter waren keine nennenswerten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisbar. Der Vergleich der andrologischen Befunde ergab dagegen signifikante Unterschiede in der Länge und Konsistenz des rechten Hoden. Während bei der Kontrollgruppe eine Länge von 18,82 \pm 0,92 cm und eine Konsistenz 4,77 \pm 0,07 mm vorlag, war der rechte Testikel der Mykotoxin-Gruppe mit Werten von 17,65 \pm 0,38 cm und 5,12 \pm 0,21 mm signifikant kürzer und weicher.

Bei der vergleichenden Betrachtung der spermatologischen Ergebnisse konnten ebenfalls deutliche Gruppenunterschiede aufgezeigt werden. Die arithmetischen

Mittelwerte der Motilitätsparameter DAP (distance average path), DSL (distance straight line), VCL (curvilinear velocity), VAP (mean velocity) und VSL (linear velocity) waren bei der Kontrollgruppe signifikant höher als bei der Mykotoxin-Gruppe. Folglich konnte den Spermien der unbelasteten Tiere eine schnellere Fortbewegung zugesprochen werden. Eine detaillierte Auflistung des spermatologischen Gruppenvergleichs ist der Tabelle 25 (Anhang) zu entnehmen.

Letztendlich wurden auch die Ergebnisse der Graustufenanalyse gruppenabhängig mit oben genannten Testverfahren verglichen. Die Betrachtung umfasste sowohl den mittleren Grauwert als auch den Nmost-Wert für die drei Segmente des Epididymis pro Körperseite und Zeitpunkt (prä / post ejaculationem).

Der Nmost-Wert wies einzig beim rechten Nebenhodenkopf prä ejaculationem einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf (168,37 ± 11,10 Kontrollgruppe; 150,00 ± 9,49 Mykotoxin-Gruppe). Dagegen zeigte der mittlere Grauwert bei drei Lokalisation-Zeitpunkt Kombinationen nennenswerte Abweichungen. Er nahm beim linken Corpus epididymidis prä ejaculationem (16,27 ± 0,48 Kontrolle; 15,42 ± 0,52 Mykotoxin) und beim rechten Nebenhodenkörper post ejaculationem (18,10 ± 0,25 Kontrolle; 17,71 ± 0,17 Mykotoxin) signifikant unterschiedliche Werte an. Außerdem konnte beim rechten Cauda epididymidis prä ejaculationem (10,25 ± 0,26 Kontrolle; 9,88 ± 0,21 Mykotoxin) eine gruppenabhängige Signifikanz im mittleren Grauwert nachgewiesen werden. Alle weiteren Vergleiche der Grauwertparameter sind in Tabelle 26 (Anhang) aufgeführt.

4.6 Beziehungen zwischen der rektalen Körpertemperatur und den spermatologischen Untersuchungsbefunden

Für die zehn Eber wurden alle spermatologischen Befunde mit der rektalen Körpertemperatur zum Messzeitpunkt in Beziehung gesetzt (siehe Tabelle 27, Anhang). Davon wiesen die Parameter pH-Wert, Spermiengesamtzahl, Anteil an primär pathomorphologisch veränderten Spermien und Anteil aller pathomorphologisch veränderten Spermien jeweils eine signifikante (p < 0,05) Korrelation zur Körperinnentemperatur auf.

In Abbildung 23 ist der pH-Wert (Ejakulat) in Relation zur rektalen Körpertemperatur der Eber als lineare Regressionsfunktion graphisch dargestellt. Es zeigt sich eine

geringgradige Erhöhung des pH-Wertes bei steigender Temperatur. Zwischen den beiden Parametern besteht eine schwach positive Korrelation (p = 0.04; r = 0.26).



Abbildung 23: Korrelation zwischen dem pH-Wert (Ejakulat) und der rektalen Körpertemperatur

Die Beziehung zwischen Spermiengesamtzahl und rektaler Körpertemperatur ist in Abbildung 24 als Regressionsgerade aufgetragen. Mit steigender Körpertemperatur, welche sich im physiologischen Bereich bewegt, erhöht sich auch die Spermiengesamtzahl. Es besteht eine signifikante schwach positive Korrelation (r = 0,26; p = 0,04) zwischen den beiden Parametern.



Abbildung 24: Korrelation zwischen der Spermiengesamtzahl und der rektalen Körpertemperatur

In Abbildung 25 ist der Anteil der primär pathomorphologisch veränderten Spermien in Relation zur rektalen Körpertemperatur als lineare Regressionsfunktion dargestellt. Mit Erhöhung der Temperatur geht ein Anstieg der primär pathologischen Spermienformen einher. Die hoch signifikante Korrelation (p = 0,002) weist einen Koeffizienten von r = 0,39 auf. Eine ähnliche Beziehung besteht zwischen dem Anteil aller pathomorphologischen Spermien und der rektalen Körpertemperatur, welche als lineare Regressionsfunktion in Abbildung 26 skizziert ist. Bei Zunahme der Körpertemperatur steigt der Prozentsatz an pathologischen Samenzellen, was die signifikant positive Korrelation (r = 0,34; p = 0,01) widerspiegelt.



Abbildung 25: Korrelation zwischen dem Anteil der primär pathomorphologisch veränderten Spermatozoen und der rektalen Körpertemperatur



Abbildung 26: Korrelation zwischen dem Anteil aller pathomorphologisch veränderten Spermatozoen und der rektalen Körpertemperatur

4.7 Beziehungen zwischen den Ergebnissen der quantitativen Graustufenanalyse und der Konsistenz von Caput und Cauda epididymidis

Für die zehn Eber wurden sowohl die mittleren Grauwerte als auch die Nmost-Werte mit den Ergebnissen der vorangegangen Konsistenzmessungen von Caput und Cauda epididymidis verglichen. Die dabei gegenüber gestellten arithmetischen Mittel der Einzelparameter resultieren aus der Zusammenfassung der Werte für linken und rechten Nebenhoden über sechs Untersuchungstage.

In Tabelle 19 sind die Ergebnisse der Korrelationsanalyse detailliert aufgelistet. Insgesamt konnte keine signifikante Beziehung zwischen objektiver Echodichte und Konsistenz des Epididymis nachgewiesen werden.

Tabelle 19:ErgebnissederKorrelationsanalysenzwischendenGraustufenparameternundderKonsistenzvonCaputundCaudaepididymidis

Parameter 1	Parameter 2	r	р
Lmean NHK prä ej.	Konsistenz NHS	0,31	0,38
Lmean NHK prä ej.	Konsistenz NHK	-0,35	0,32
Lmean NHK post ej.	Konsistenz NHS	0,09	0,81
Lmean NHK post ej.	Konsistenz NHK	-0,14	0,70
Lmean NHKÖ prä ej.	Konsistenz NHS	0,03	0,93
Lmean NHKÖ prä ej.	Konsistenz NHK	-0,14	0,71
Lmean NHKÖ post ej.	Konsistenz NHS	-0,16	0,67
Lmean NHKÖ post ej.	Konsistenz NHK	0,07	0,85
Lmean NHS prä ej.	Konsistenz NHS	-0,18	0,61
Lmean NHS prä ej.	Konsistenz NHK	-0,13	0,72
Lmean NHS post ej.	Konsistenz NHS	-0,03	0,94
Lmean NHS post ej.	Konsistenz NHK	-0,15	0,67
Nmost NHK prä ej.	Konsistenz NHS	-0,27	0,45
Nmost NHK prä ej.	Konsistenz NHK	-0,09	0,82

Nmost NHK post ej.	Konsistenz NHS	-0,19	0,61
Nmost NHK post ej.	Konsistenz NHK	0,47	0,17
Nmost NHKÖ prä ej.	Konsistenz NHS	0,11	0,76
Nmost NHKÖ prä ej.	Konsistenz NHK	-0,41	0,24
Nmost NHKÖ post ej.	Konsistenz NHS	-0,01	0,98
Nmost NHKÖ post ej.	Konsistenz NHK	-0,002	1,00
Nmost NHS prä ej.	Konsistenz NHS	0,18	0,62
Nmost NHS prä ej.	Konsistenz NHK	0,22	0,54
Nmost NHS post ej.	Konsistenz NHS	-0,20	0,58
Nmost NHS post ej.	Konsistenz NHK	0,16	0,65

Lmean: mittlerer Grauwert

- Nmost: Modalwert für die häufigste Graustufe
- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKÖ: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- ej.: ejaculationem

4.8 Beziehungen zwischen den Ergebnissen der quantitativen Graustufenanalyse und bestimmten spermatologischen

Untersuchungsbefunden

Die Ergebnisse der sonographischen Nebenhodengewebetexturen (Lmean und Nmost) wurden getrennt nach Lokalisation und Zeitpunkt mit den Parametern Spermiengesamtzahl und Ejakulatvolumen in Relation gesetzt. Die dabei verglichenen arithmetischen Mittelwerte beruhen auf der Zusammenfassung der Ergebnisse für linken und rechten Nebenhoden über sechs Untersuchungstage.

Signifikante Korrelationen (p < 0,05) lagen ausschließlich beim Nebenhodenkopf vor. Der mittlere Grauwert (Lmean) des Caput epididymidis wies prä ejaculationem eine positive lineare Beziehung (r = 0,73) zur Spermiengesamtzahl auf, wogegen er nach der Ejakulation mit dem Ejakulatvolumen positiv linear korrelierte (r = 0,64). Die zeitlichen Gegenstücke (hinsichtlich Ejakulation) dieser Korrelationen lagen jeweils nur knapp über der Signifikanzgrenze (Tabelle 28, Anhang).

In Abbildung 27 ist die Spermiengesamtzahl in Relation zum mittleren Grauwert des Nebenhodenkopfes prä ejaculationem als lineare Regressionsfunktion aufgetragen. Die Punkte beschreiben die arithmetischen Mittelwerte pro Tier über sechs Untersuchungstage. Mit steigender Echogenität geht eine Erhöhung der Spermiengesamtzahl einher. Zwischen den beiden Parametern besteht eine signifikante positive Korrelation (r = 0,73; p = 0,02).

Die Beziehung zwischen Ejakulatvolumen und mittlerem Grauwert des Caput epididymidis post ejaculationem ist in Abbildung 28 als Regressionsgerade graphisch dargestellt. Die signifikant positive Korrelation (r = 0,64; p = 0,045) beschreibt einen Anstieg des Ejakulatvolumens bei zunehmender Echodichte des Nebenhodenkopfes.



Abbildung 27: Korrelation zwischen dem mittleren Grauwert des Nebenhodenkopfes prä ejaculationem (Lmean NHK prä ej.) und der Spermiengesamtzahl



Abbildung 28: Korrelation zwischen dem mittleren Grauwert des Nebenhodenkopfes post ejaculationem (Lmean NHK post ej.) und dem Ejakulatvolumen

5 DISKUSSION

5.1 Diskussion der Fragestellung

Im Gegensatz zum Hoden findet der Epididymis bisher bei der Untersuchung von Besamungsebern kaum Beachtung, obwohl die Spermatozoen erst durch die Maturation während der epididymalen Passage ihre volle Befruchtungsfähigkeit erreichen (BAMBERG, 1975). Die Ziele der vorliegenden Arbeit waren es daher, die Sonographie des porzinen Nebenhodens in der speziellen andrologischen Untersuchung von Besamungsebern zu etablieren, und mittels eindimensionaler Graustufenanalyse die objektive Echogenität des gesunden epididymalen Gewebes je nach Lokalisation zu bestimmen. Sinn und Notwendigkeit einer digitalen Bildanalyse ergeben sich durch die eingeschränkte Fähigkeit des menschlichen Auges maximal 25 Grautöne zu unterscheiden (GEBEL, 2000) sowie der Tatsache, dass Beschreibungen echographischer Befunde immer dem subjektiven Eindruck des Untersuchers unterliegen (GÄRTNER et al., 1998). Zudem belegt die zunehmende Zahl an Publikationen in der Veterinärmedizin (RUBERTE et al., 1994; GERTSCH, 1997; HERMES, 1998; TOM et al., 1998a+b; LORBER, 1999; WEVER et al., 2002; SCHMAUDER, 2003; KRETZSCHMAR, 2004; BERTMANN, 2005; VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, 2007), insbesondere in der veterinärmedizinischen Andrologie (EVANS et al., 1996; CHANDOLIA et al., 1997; KASTELIC et al., 2001; GRAUE, 2002; HÖHNE, 2002), den Bedarf sonographische Gewebetexturen mittels Graustufenanalyse zu quantifizieren.

Die östrogene (McNUTT, 1928) und uterotrophe (STOB et al., 1962) Wirkung des Mykotoxins Zearalenon (ZEA, ZEN, F2) ist seit langem bekannt. Demzufolge wurde in mehreren Studien gezeigt, dass die ZEA-Exposition von weiblichen Schweinen, insbesondere von Jungsauen (DIEKMAN und GREEN, 1992), zu Veränderungen des Geschlechtsapparates (STOB et al., 1962; KURTZ et al., 1969; NELSON et al., 1973; YOUNG et al., 1981; JAMES und SMITH, 1972), zu Störungen im Sexualzyklus (ETIENNE und JEMMALI, 1982; YOUNG und KING, 1986a) und zu Einbußen hinsichtlich der Reproduktionsleistung (MILLER et al., 1973; CHANG et al., 1979; LONG et al., 1982; LONG und DIEKMAN, 1984; KORDIC et al., 1992) führen kann. Auch beim Eber äußerte sich die Aufnahme unterschiedlicher Mengen an ZEA in morphologischen und funktionellen Störungen der Geschlechtsgesundheit (CHRISTENSEN et al., 1972; PALYUSIK, 1977; VANYI und SZEKY, 1980; BERGER

et al., 1981; YOUNG und KING, 1986b), wobei mitunter widersprüchliche Ergebnisse auftraten (RUHR et al., 1983). Fakt ist, dass dem Konsum von ZEA ein schädlicher Einfluss auf die porzine Reproduktionsleistung zugesprochen wird. Dabei gelten Jungsauen als die empfänglichste Spezies für das Mykoöstrogen (TIEMANN und DÄNICKE, 2007). Zudem ist ein Übergang von ZEA und seinen Metaboliten von der graviden Sau auf die Feten erwiesen (DÄNICKE et al., 2007). Allerdings prüften bis dato einzig YANG et al. (1995) die Auswirkungen einer ZEA-Belastung des Muttertiers auf die Nachkommenschaft anhand von körperlichen Parametern in der neonatalen und juvenilen Altersstufe. Aufgrund des nicht unerheblichen Einflusses von ZEA in der Schweineproduktion und dem Mangel an Studien hinsichtlich der Auswirkung Muttertier – Nachkommen wurde in der vorliegenden Arbeit als Nebenaspekt überprüft, wie sich eine perinatale Zearalenon-Exposition auf klinische und spermatologische Parameter beim geschlechtsreifen Eber auswirkt.

5.2 Bewertung des Tiermaterials

Zur Untersuchung standen zehn Eber des gleichen Alters mit identischer Rasse und Herkunft. Demnach musste dem aus der Literatur bekannten Einfluss von Alter und Gewicht (ALLRICH et al., 1983; WROBEL und FALLENBACHER, 1974b; CLARK et al., 2003; HEIDRICH et al., 1968) auf die Organgröße und -struktur des Hoden bzw. Nebenhoden beim Eber keine Rechnung getragen werden. Allerdings war die Hälfte der Tiere perinatal mit dem Mykotoxin Zearalenon belastet, was zu einer selektiven Betrachtung der Untersuchungsergebnisse beim Auftritt von signifikanten Gruppenunterschieden führte. Es ist möglich, dass die relativ kleine Gruppengröße die Aussagekraft der Werte einschränken könnte.

5.3 Diskussion der Methodik

5.3.1 Spermatologische Untersuchung

Wie in den Arbeiten von BRASS (1987), BECK (1990), CHANDOLIA et al. (1997), KASTELIC et al. (2001) GRAUE (2002) und HÖHNE (2002) beschrieben, ging auch in der vorliegenden Studie der eigentlichen Sonographie des Hoden bzw.

Nebenhoden eine klinisch-andrologische sowie spermatologische Untersuchung aller Tiere voraus. Die Voruntersuchungen dienten dazu, die Geschlechtsgesundheit aller Eber möglichst präzise zu erfassen. Diesbezüglich sollen nun die Methoden der Spermabeurteilung auf ihre Aussagekraft hin diskutiert werden.

Bei der Ejakulatgewinnung kam die manuelle Desemination mittels behandschuhter Hand als Methode der Wahl zum Einsatz, da sie einer künstlichen Vagina hinsichtlich Durchführung der Prozedur (SHIPLEY, 1999) und Risiko einer mikrobiellen Kontamination (WEITZE, 2001c) überlegen ist. Dabei wurden Vinylhandschuhe verwendet, um die spermizide Wirkung bestimmter Latexverbindungen zu vermeiden (KO et al., 1989). Eine automatisierte Absamung ist bezüglich Spermaqualität mit der "Handmethode" nahezu vergleichbar (LELLBACH et al., 2008). Aufgrund des kleinen Probandenkollektivs fand diese Methode jedoch keine Anwendung.

Die makroskopische Untersuchung aller Eberejakulate wurde nach den Kriterien einschlägiger Fachliteratur durchgeführt (HOFFMANN, 1993; WEITZE, 2001b). Dabei war ausschließlich der Parameter Ejakulatvolumen objektivierbar, während die weiteren Attribute subjektiv, laut Forderung der Autoren, beurteilt wurden.

Zur objektiven Bestimmung der Spermienmotilität wurde das CASA-System (Computer - assisted semen analysis) SpermVision® herangezogen, welches in den Arbeiten von SUTKEVICIENE et al. (2005) und DIDION (2008) ebenfalls Anwendung bei Eberejakulaten fand. Neben der Motilitätsanalyse ist es mithilfe von CASA-Systemen generell möglich, die Spermienkonzentration zu bestimmen und Anomalien der Spermienmorphologie zu bewerten (THURSTON et al., 1999). Damit einige Defizite verbunden. Zum sind jedoch einen macht die geringe Wiederholbarkeit der CASA-Konzentrationsmessungen (HANSEN et al., 2006) eine Konzentrationen durch subjektive Überprüfung der zusätzliche Schätzung erforderlich. Zum anderen erfordert die automatisierte Beurteilung der Spermienmorphologie durch CASA eine nicht unerhebliche Zeitspanne, die je nach System zwischen 20 und 100 Minuten benötigt. Dabei wird eine speziesspezifische Standardisierung im Untersuchungsprozess gefordert, die bei den meisten Tierarten noch nicht etabliert ist (VERSTEGEN et al., 2002). Folglich wurden in vorliegender Studie die Spermienkonzentration und der Anteil an pathomorphologischen Spermien im Ejakulat mit den konventionellen Untersuchungsmethoden Photometrie und Eosinfärbung erhoben (HOFFMANN, 1993; WEITZE, 2001b), da die CASA

Diskussion

hinsichtlich dieser Parameter mitunter zweifelhafte Ergebnisse liefert. In punkto Bewertung der Spermienmotilität stellt die computergestützte Spermienanalyse allerdings eine hochgradig zuverlässige und präzise Methode dar, sofern die Systemeinstellungen (settings) für die jeweilige Spezies genormt und die weiteren Einflussfaktoren der Untersuchung (Verdünner, Kammertiefe, Einfüllvolumen, etc.) standardisiert sind (VERSTEGEN et al., 2002). In dieser Arbeit wurden die genormten Systemeinstellungen von SpermVision® (Minitueb Labor- und Abfülltechnik GmbH & Co. KG, Tiefenbach) für die Tierart Schwein gewählt und die standardisierten instrumentellen Settings laut Herstellerangaben verwendet. Somit sollten mögliche Fehlerquellen bei der Bewertung der Spermienmotilität durch CASA minimiert worden sein.

Die Spermienkonzentration kann grundsätzlich mit vier unterschiedlichen Methoden bestimmt werden: Auszählung in einer Zählkammer, Dichtemessung mittels Photometer, elektronischer Teilchenzähler (Counter) und CASA, wobei die Zählkammer als Methode der Wahl gilt (WEITZE, 2001b). In vorliegender Studie fand ein auf die Spezies Schwein kalibriertes Photometer (siehe 3.2.6.2.2) Anwendung, da es eine exakte Dichtemessung mit sehr hoher Korrelation (r = 0,92) zum Zählkammerverfahren erlaubt (MÜLLER und BRANDL, 1978). Ein Counter erreicht mitunter geringgradig höhere Korrelationen (r = 0,94 - 0,97), kam aber aufgrund der immens hohen Anschaffungskosten nicht in Betracht. Das CASA-System schied zur Bestimmung der Spermienkonzentration als ungeeignet aus, da dessen Messergebnisse zu stark variieren (HANSEN et al., 2006).

Ein zusätzliches Verfahren, welches im Rahmen der spermatologischen Untersuchung eingesetzt wurde, war der Hypoosmotische Schwelltest (HOS-Test) nach VAZQUEZ et al. (1997). Dieser wird in der Literatur auch unter dem Synonym osmotischer Resistenztest (ORT) gefunden (QUINTERO-MORENO et al., 2004), und differenziert Spermien anhand der Fähigkeit ihrer Plasmamembran den Elektrolytfluss zu regulieren. Im Gegensatz zu einer Lebend-Tot-Färbung wird dadurch nicht nur evaluiert, ob die Spermienmembran intakt ist, sondern auch deren biochemische Aktivität beurteilt (FOXCROFT et al., 2008). Des Weiteren liegen wissenschaftliche Beweise vor, dass die Ergebnisse des ORT positiv mit der Penetration der Zona pellucida (JEYENDRAN et al., 1984) und den In-vitro-Fertilisationsraten bei Schweinen (GADEA und MATÁS, 2000) korrelieren. Für die In-

vivo-Fertilität von Besamungsebern konnte allerdings nur ein geringfügiger oder kein Zusammenhang nachgewiesen werden (PÉREZ-LLANO et al., 2001). Dennoch scheint der HOS-Test ein potenter Parameter für die Beurteilung der Samenqualität beim Eber zu sein (GADEA et al., 1998; SCHILLING und VENGUST, 1985; SCHILLING et al., 1986), was durch eine jüngste Arbeit zur osmotischen Resistenz von porzinen Spermien (DRUART et al., 2009) noch unterstrichen wird.

5.3.2 Sonographische Untersuchung

Alle Anteile des porzinen Epididymis können sonographisch transkutan abgebildet werden, wobei die Untersuchungsrichtung einen entscheidenden Einfluss auf die Darstellbarkeit hat (BECK, 1990). In der vorliegenden Arbeit wurde der Nebenhodenkopf von ventral (Längsschnitt), der Nebenhodenkörper von kaudolateral (Querschnitt) und der Nebenhodenschwanz von kaudal (Längsschnitt) beschallt. Die jeweiligen Ausrichtungen des Scanners wurden durch eigene Vorversuche eruiert, um eine optimale Darstellbarkeit zu gewährleisten. Dabei lag eine hochgradige Analogie zu der Studie von BECK (1990) vor, in welcher neben der Beschreibung der idealen Untersuchungsrichtung leider keine aussagekräftigen Abbildungen der einzelnen Nebenhodenanteile des Ebers zu finden sind.

Zur sonographischen Darstellung des porzinen Hodens In-vivo kam in der Vergangenheit mehrmals (CARTEE et al., 1986; BRASS, 1987; BECK, 1990) eine 5,0 MHz Linearsonde zum Einsatz. Im Vergleich dazu wurde für die konventionelle B-Bild-Sonographie des Nebenhodens beim Eber in vorliegender Studie eine Transrektalsonde mit einer Frequenz von 5,0 bzw. 7,5 MHz verwendet. Jedem epididymalen Anteil (Caput, Corpus, Cauda) wurde jeweils die Schallkopffrequenz fest zugeordnet (siehe Kapitel 3.2.4), welche sich, anhand der Ergebnisse erwähnter Vorversuche, als idealer Kompromiss zwischen Bildauflösung und Eindringtiefe (HERMES, 1998) darstellte. Die Einstellungen des Pre- und Post-Processing blieben bei jeder Lokalisation konstant und orientierten sich an der Maßgabe ein helles, kontrastreiches B-Bild zu generieren, das möglichst wenig sonographische Artefakte aufweist.

Zur objektiven Beschreibung der epididymalen Echotextur wurde eine eindimensionale Analyse der Grauwertverteilung verwendet. Dieses Verfahren liefert

Diskussion

weniger Informationen als eine mehrdimensionale Texturanalyse, die in mehreren Bereichen der Humanmedizin etabliert ist (BLECK et al., 1997a). Dennoch kamen in der Mehrzahl an veterinärmedizinischen Studien (CHANDOLIA et al., 1997; HERMES, 1998; LORBER, 1998; TOM et al., 1998a+b; KASTELIC et al., 2001; GRAUE, 2002; HÖHNE, 2002; VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, 2007) Graustufenanalysen Ordnung (eindimensional) der ersten zum Einsatz. Grauwertparameter höherer Ordnung wurden einzig bei der Echotexturbeschreibung des bovinen (SCHMAUDER, 2003; BERTMANN, 2005) und equinen (GERTSCH 1997; KRETZSCHMAR, 2004) Endometriums bestimmt. Dabei war ein nachweisbarer Informationsgewinn durch zusätzliche Daten nicht immer zu verzeichnen.

Die eindimensionale Graustufenanalyse des Epididymis ist bislang bei keiner Tierart vermerkt. Als entfernte Referenzen können einzig die guantitative Grauwertanalyse des Hodens beim Bullen (CHANDOLIA et al., 1997; KASTELIC et al., 2001; GRAUE, 2002) und beim Rüden (HÖHNE, 2002) angegeben werden. Deshalb waren mitunter eigene Vorversuche unumgänglich, um die für die Graustufenanalyse optimale Prozedur inklusive aller Geräteeinstellungen zu ermitteln. Bei der Wahl des Sondentyps und der eingesetzten Frequenz lag das Augenmerk auf einer möglichst hohen Bildauflösung, welche eine detailliertere Texturbeschreibung liefern kann. SCHMAUDER (2003) wies nach, dass eine "schlechtere" Sonde zu einem Qualitätsund Informationsverlust der sonographischen B-Bilder führt. Dadurch ist es mitunter nicht mehr möglich, Änderungen in der objektiven Echotextur zu erfassen. In vorliegender Arbeit erbrachte ein Mikrokonvex-Scanner mit einer Frequenz von 7,5 bzw. 9,0 MHz, je nach Lokalisation (siehe Tabelle 5), die besten Ergebnisse. Die Überlegenheit dieses Schallkopfes gegenüber der zur Wiederholungsuntersuchung verwendeten Transrektalsonde war hinsichtlich dem Frequenz-Eindringtiefe-Verhältnis, der Bildauflösung und letztlich der Bildqualität deutlich erkennbar. Des Weiteren wurden alle Systemeinstellungen inklusive Fokusposition und Größe der Regions of Interest (ROIs) pro Lokalisation standardisiert (GEBEL et al., 1984; ZUNA, 1991; BADER et al., 1994), um eine Variation der Analyseergebnisse (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993) zu vermeiden. Auch die Positionen der ROIs können bei der Graustufenanalyse zu Messungenauigkeiten führen (GÄRTNER et al., 1998). Folglich wurden sie immer durch denselben Untersucher an definierten B-Mode-Schnittbildern der drei Nebenhodenanteile (siehe Kapitel 3.2.4) festgelegt.

Diskussion

Vergangene Studien (CHANDOLIA, 1997; KASTELIC, 2001; GRAUE, 2002; HÖHNE, 2002) am Hoden haben unter anderen aufgezeigt, dass es mehrere Messungen bzw. ROIs erfordert, um die quantitative Echotextur eines Organs präzise zu bestimmen. Dieser Forderung wurde Folge geleistet und pro Lokalisation zwei ROIs (jeweils A = 0,25 cm²) analysiert. Es ist möglich, dass eine höhere Anzahl an ROIs eine Veränderung der Grauwertergebnisse mit sich gebracht hätte. Dies war aus unterschiedlichen Gründen nicht praktikabel. Zum einen wäre mit einer Mehrzahl an Analysen auch eine längere Untersuchungsdauer verbunden, da die geräteinterne Analyse der ROIs unverzüglich nach der Aufnahme des B-Mode-Standbildes erfolgen muss. Dies würde wiederum zu einer vermehrten Unruhe des in seiner Verhaltensweise temperamentvollen Ebers führen und somit Verwacklungen in den Aufnahmen provozieren. Da solche Bildunschärfen als grobe Fehlerquellen in der Graustufenanalyse betrachtet werden (GEBEL et al., 1984), lag der Fokus eher auf der Minimierung von Fehlern als auf der Maximierung der Messpräzision durch mehr ROIs. Allerdings wurde die Genauigkeit der Grauwertparameter durch die sechsmalige Wiederholung der Untersuchungsgänge gesteigert, bei welchen eine gleich bleibend hohe Qualität der Nebenhodenstruktur zu verzeichnen war. Zudem wäre es bei der sonographischen Abbildung des Corpus epididymidis nicht möglich gewesen mehr als zwei standardisierte ROIs einzufügen, da es die relativ kleine Fläche des Organs nicht erlaubte. Der Einsatz eines externen Computersystems zur Graustufenanalyse (ZUNA, 1991) hätte die Untersuchungsdauer am Tier eventuell verkürzt und damit eine Mehrzahl an auswertbaren ROIs zugelassen. Fraglich bleibt, ob mehr ROIs zu signifikanten Unterschieden in den arithmetischen Mittelwerten der einzelnen Grauwertparameter geführt hätten. Fakt ist, dass eine externe Graustufenanalyse in der tierärztlichen Praxis aufgrund des zusätzlichen Zeit- und Kostenaufwandes nur schwerlich realisierbar wäre.

Ein weiterer Einflussfaktor der Graustufenanalyse ist die Beschaffenheit des vor dem zu untersuchenden Organ liegenden Gewebes (ZIELKE et al., 1985). Im vorliegenden Fall waren damit Haut (Caput und Cauda epididymidis) und Hodengewebe (Corpus epididymidis) gemeint, deren Dicke und Ausprägung je nach Entwicklungsstand der Tiere variiert. Auch diese "Störgrößen" wurden minimiert, indem nur Eber der gleichen Alters- und Gewichtsstufe zur Untersuchung standen.

5.4 Diskussion der Ergebnisse

5.4.1 Klinisch-andrologische Befunde

Eine klinisch-andrologische Untersuchung ist unerlässlich, um die Allgemein- und Geschlechtsgesundheit von Besamungsebern zu erfassen (WEITZE, 2001a). Folglich wurden in vorliegender Studie, neben Adspektion und Palpation der äußeren Genitale, ausgewählte Parameter zur Bestimmung des Gesundheitsstatus aller Eber wiederholt erhoben. Diese "Grunduntersuchung" ging den eigentlichen sonographischen Befunderhebungen am porzinen Genitale immer voraus (CARTEE et al., 1986; BRASS, 1987; BECK, 1990).

Der arithmetische Mittelwert der rektalen Körpertemperatur aller Probanden über sechs Untersuchungsgänge betrug 38,47 °C (± 0,21). Der physiologische Grenzwert von 39,0 °C wurde dabei bei keiner Einzelmessung üb erschritten. Demnach konnte ein Vorliegen von systemischen Infektionen nahezu ausgeschlossen werden.

Das mittlere Körpergewicht (167,4 \pm 10,0 auf 196,4 \pm 10,5 kg) sowie die mittlere Scheitel-Steiß-Länge (162,9 \pm 5,5 auf 171,9 \pm 5,4 cm) der 7 – 9 Monate alten Eber stiegen über den sechswöchigen Untersuchungszeitraum stetig an. Darüber hinaus ist Tabelle 20 (Anhang) zu entnehmen, dass kein Eber im Probandenkollektiv einen Rückschritt bezüglich der genannten Parameter aufwies. Demnach lag ein Wachstumsprozess der Einzeltiere zugrunde, der auf eine ungestörte Allgemeingesundheit der Einzeltiere hindeutet.

Als weitere Indikatoren der Allgemeingesundheit wurden die unter Abschnitt 3.2.3.4 bzw. 3.2.3.5 angeführten Merkmale adspektorisch überprüft. Eine ungestörte Futteraufnahme und das Ausbleiben von sichtbaren Gesundheitsstörungen bei allen Ebern stellten weitere Indizien für die uneingeschränkte Gesundheit der beiden Untersuchungsgruppen dar.

Die spezielle andrologische Untersuchung umfasste sowohl die Adspektion der äußeren Genitale als auch die Palpation von Skrotum, Hoden, Nebenhoden und Samensträngen (WEITZE, 2001a). Über sechs Untersuchungsgänge hinweg konnten bei keinem Tier Anomalien hinsichtlich Symmetrie, Lage, Form, Hauttemperatur sowie Verschieblich- und Schmerzhaftigkeit der einzelnen Organe diagnostiziert werden. Im Rahmen der Palpation wurde zudem die Konsistenz des

Diskussion

Caput epididymidis subjektiv bewertet, und deren Ausprägung einem Konsistenz-Score zugeordnet. Die physiologische prall-elastische Konsistenz des Nebenhodenkopfes war bei allen Einzeluntersuchungen mit Abweichungen gegeben (Score 2 – 4; Tabelle 12), was eine pathologische Ausprägung (Score 1 bzw. 5) ausgeschlossen hat. Eine objektive Konsistenzbewertung mittels Tonometrie war beim porzinen Caput epididymidis aufgrund der schwer zugänglichen Position nicht möglich. Allerdings kam diese Methode bei der Konsistenzbestimmung von Hoden (HAHN et al., 1969) und Nebenhodenschwanz zum Einsatz. Anhand der Messergebnisse von Testis (4,95 \pm 0,44 mm links; 4,95 \pm 0,42 mm rechts) und Cauda epididymidis $(6,35 \pm 0,37 \text{ mm links}; 6,44 \pm 0,37 \text{ mm rechts})$ konnte ein Konsistenzunterschied zwischen den beiden Organen verdeutlicht werden. Dabei fiel eine geringgradige Standardabweichung der Messwerte auf, was eine hohe Messgenauigkeit und Wiederholbarkeit widerspiegelte. Frühere Ergebnisse der Tonometrie von Eberhoden (ESBENSHADE et al., 1979; MAHONE et al., 1979) bestätigten diese Beobachtung (Standardabweichung zwischen 0,3 und 0,5 mm). ESBENSHADE et al. (1979) fanden zudem heraus, dass die Festigkeit des porzinen Hodens mit zunehmendem Lebensalter und Körpergewicht ansteigt. Im Alter von 282 Tagen wiesen Ebergruppen (n = 10) in Abhängigkeit von der Haltungsform eine tonometrische Hodenkonsistenz von 0,38 ± 0,2 mm (Stallhaltung mit 0,9 m² Fläche / Tier) bzw. 0,58 \pm 0,3 mm (Weidehaltung) auf. Die in vorliegender Studie ermittelten Konsistenzen liegen ungefähr zwischen diesen Werten, wobei die Eber in Stallhaltung mehr Bewegungsraum zur Verfügung hatten (ca. 5 m²). Sofern der Haltungsfaktor berücksichtigt wird, sind die Ergebnisse der Konsistenzmessung mit Referenzwerten von ESBENSHADE et al. (1979) vergleichbar. den Zur tonometrischen Konsistenz des porzinen Nebenhodenschwanzes liegen keine Angaben in der Literatur vor. Folglich gestaltet sich die Interpretation dieser Ergebnisse schwierig.

Als weitere andrologische Parameter wurden Hodenlänge (inklusive Nebenhoden) und -breite mithilfe eines Messschiebers objektiv erfasst. Dieses klinische Verfahren stellt einen wichtigen und präzisen Bestandteil in der andrologischen Eberuntersuchung dar (GAUS und WEITZE, 1984). Beim Vergleich der Hodenlänge von linkem und rechtem Hoden sowie der Hodenbreite links und rechts fiel auf, dass der linke Testikel geringgradig größere Ausmaße aufwies als der rechte. Identische Beobachtungen machten sowohl KAWANA und SAKAKIBARA (1997) als auch

CLARK et al. (2003), die die Hodenbreite sonographisch (n = 29) eruierten. Hinsichtlich Ausprägung der porzinen Hodendimensionen liegen in der Literatur unterschiedliche Aussagen vor. Dabei müssen die Einflussfaktoren Alter, Gewicht und Rasse (FENT et al., 1983) berücksichtigt werden. In der Studie von SCHINCKEL et al. (1983) wurden Eber einer Rassenkreuzung (225 Lebenstage, ca. 160 kg) untersucht. Die durchschnittliche Hodenlänge (einschließlich Nebenhoden) lag bei 14,96 ± 0,20 cm, während sich die Hodenbreite auf 6,84 ± 0,17 cm belief. Die genannte Arbeit liefert einen Anhaltspunkt zur Bewertung der porzinen Hodendimensionen In-vivo. Dennoch sind deren Ergebnisse mit der vorliegenden Studie nicht direkt vergleichbar, da aufgeführte Einflussfaktoren abweichen. Fest steht, dass die erhobenen Maße an palpatorisch gesunden Hoden über den Richtwerten für Jungeber (HÜHN, 1970) liegen. Da Hodenlänge bzw. -breite signifikant positiv mit der Spermiengesamtzahl korrelieren (HÜHN, 1970; HURTGEN, 1984). vorliegende Hodendimensionen ausreichende deuten auf eine Spermaproduktion der Eber hin, was im nachfolgenden Kapitel bestätigt wird.

Beim Vergleich der Entwicklung von Körpergewicht und Hodendimensionen über sechs Wochen fiel auf, dass mit Zunahme der Körpermasse eine Abnahme der Hodenlänge und eine konstante Hodenbreite einherging (Abbildungen 7, 9, 10). Da sowohl Hodenlänge als auch Hodenbreite eine hohe positive Korrelation zum Körpergewicht aufweisen (r = 0,75 bzw. 0,76; GAUS und WEITZE, 1984), wäre zumindest bei der Hodenlänge ein gegensätzliches Ergebnis zu erwarten gewesen. Da in der Berechnung dieser Korrelationskoeffizienten die Gewichtsklasse der Eber vorliegender Studie allerdings nicht berücksichtigt wurde, war eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse fragwürdig. Die Beobachtungen hinsichtlich des Verlaufs von Hodenlänge und -breite konnten mithilfe der Arbeit von TRUDEAU und SANFORD (1986) erläutert werden. Die Autoren zeigten, dass die Ausprägung beider testikulären Maße je nach Jahreszeit bzw. Monat variiert. In den Frühlingsmonaten (entspricht Zeitraum vorliegender Studie) fällt die porzine Hodenlänge stetig ab, während die Hodenbreite je nach Monat schwankt. Demnach waren vorliegende Hodenlängen und -breiten, unter Berücksichtigung von Messungenauigkeiten, nachvollziehbar.

5.4.2 Spermatologische Befunde

Im Rahmen der Ejakulatgewinnung zeigten alle untersuchten Eber eine ungestörte Paarungsreflexkette sowie eine ausgeprägte Libido sexualis. Zudem war jederzeit eine dreiphasige Ejakulation zu beobachten, wobei das filtrierte Sekret der beiden Hauptphasen das zu untersuchende Ejakulat bildete. Der folgende Abschnitt beinhaltet die Vergleiche der über sechs Untersuchungsgänge gepoolten spermatologischen Parameter für jedes Einzeltier mit den Referenzwerten aus der Literatur, einschließlich deren Bewertung.

Makroskopisch waren alle Ejakulate durch einen geringgradig ausgeprägten geschlechtsspezifischen Geruch und durch die Freiheit von partikulären Beimengungen gekennzeichnet. Dies spricht zum einen für eine hygienisch einwandfreie Samengewinnung, zum anderen gegen hämorrhagisch-eitrige Krankheitsprozesse an den Geschlechtsorganen (WEITZE, 2001b). Die grau-weiße Farbe aller Proben bestätigt diese Annahmen. Als weiteres Merkmal wurde die Konsistenz erfasst, welche zwischen molkig und milchig variierte. Diese Ausprägungen gelten beim Eber als physiologisch (MUDRA, 1991), wobei eine molkeartige Konsistenz nicht automatisch auf eine erniedrigte Spermiengesamtzahl verweist (WEITZE, 2001b). Dennoch ist eine Schätzung der Spermienkonzentration im Ejakulat anhand der Konsistenz möglich. Demzufolge wären bei der vorliegenden Konsistenzvariation Spermienkonzentrationen zwischen 0,1 und 0,5 Millionen Spermien pro µl zu erwarten (SHIPLEY, 1999). Der einzige rein objektive Parameter der makroskopischen Untersuchung ist das Ejakulatvolumen. Sowohl HOFFMANN (1980) als auch MUDRA (1991) geben als Mindestanforderung für Eberejakulate ein Volumen von 100 ml an. Jeder Eber dieser Studie (\overline{X} von sechs Ejakulaten) konnte diesen Grenzwert erfüllen (Abbildung 11 A). Folglich lag laut makroskopischen Befunden kein Indiz für eine Dysspermie vor.

Zu den mikroskopischen Attributen zählt unter anderem die Spermienkonzentration, welche bei Besamungsebern (MUDRA, 1991) und bei Jungebern im Alter von acht Monaten (HÜHN, 1970) die Schwelle von 0,2 Millionen Spermien pro μ l nicht unterschreiten sollte. Die Ejakulate der untersuchten Eber konnten dieser Auflage bei weitem gerecht werden (Abbildung 11 B). Zudem fiel der arithmetische Mittelwert aller Ejakulate (0,41 ± 0,08 Millionen Spermien pro μ l) in den Bereich, der laut

grobsinnlicher Dichteschätzung prognostiziert wurde (0,1 – 0,5). Als Produkt aus Spermienkonzentration und Ejakulatvolumen stellte die Spermiengesamtzahl ein weiteres spermatologisches Kriterium dar. Der Minimalwert im Probandenkollektiv betrug 61 Milliarden Spermien und lag somit weit über den geforderten Werten für geschlechtsgesunde Jung- und Besamungseber (HÜHN, 1970; MUDRA, 1991).

Die Spermienmotilität (progressiv und gesamt) gilt als guter Indikator zur Bewertung der physiologischen Spermienfunktion. Obwohl die alleinige Aussagekraft dieses Parameters bezüglich Fertilität als widersprüchlich betrachtet wird (GADEA, 2005), korrelierten die Ergebnisse der durch CASA bestimmten Motilitäten signifikant mit der Fruchtbarkeit von Besamungsebern (HIRAI et al., 2001; HOLT et al., 1997). Für den Anteil an progressiv motilen Eberspermien werden im Allgemeinen 70 % gefordert (CRABO, 1997; HOFFMANN, 1980). Als geringerer "Industriestandard" gilt dieser Wert ebenso für die Gesamtmotilität (FLOWERS, 1997; HURTGEN, 1984; MUDRA, 1991; WEITZE, 2001b), sofern das Sperma zur Besamung verwendet werden soll. In Abbildung 11 C ist graphisch dargestellt, dass alle Eber dieser Studie den höheren Standard der Vorwärtsbeweglichkeit erfüllten. Auf eine Supravitalfärbung wurde aufgrund dieser hohen Motilitätswerte verzichtet, da der Grenzwert für die Diagnose Nekrospermie (ca. 30 %; HOFFMANN, 1993) theoretisch nicht erreicht werden konnte. Die Überprüfung des Anteils an pathomorphologischen Spermien fand im Eosin-Ausstrich statt. Der Grenzwert für morphologisch veränderte Spermien beim Eber liegt laut einhelliger Autorenmeinung bei 20 % (HOFFMANN, 1980; HURTGEN, 1984; MUDRA, 1991). Auch diesbezüglich befanden sich alle Tiere im physiologischen Bereich, wie der Abbildung 11 D zu entnehmen ist. Spermien mit anhaftendem Zytoplasmatropfen wurden erfasst, aber nicht als pathologisch gewertet, da sie auch beim geschlechtsgesunden Eber gehäuft auftreten 1993). Die Membranintegrität der Spermien wurde mittels (HOFFMANN, hypoosmotischem Schwelltest nach JEYENDRAN et al. (1984) überprüft. Der arithmetische Mittelwert der Spermien mit intakter Plasmamembran lag bei 50,03 ± 16,11 Prozent mit einer individuellen Variation (32,42 – 66,83 Prozent) je nach Eber. Zur Bewertung dieser Befunde liegen in der Literatur keine festgesetzten Grenzwerte vor. Jedoch bieten die Studien von VAZQUEZ et al. (1997) sowie ZOU und YANG (2000), in welchen befruchtungsfähige Eber getestet wurden, Anhaltspunkte. Bei identischer Inkubationszeit und gleichem hypotonem Medium wiesen die Ejakulate 59,5 ± 6,7 Prozent osmotisch intakte Spermien auf (ZOU und YANG, 2000).

VAZQUEZ et al. (1997) berichteten über eine Variation des Anteils an positiv reagierten Spermien zwischen 42,2 und 68,3 Prozent je nach Inkubationsmedium und -dauer. Die vergleichsweise niedrigeren Werte der vorliegenden Arbeit deuten auf eine geringgradig schlechtere Spermagualität der Eber hin. Die Potentia generandi bzw. Geschlechtsgesundheit kann den Tieren jedoch nicht abgesprochen werden, da keine eindeutige Korrelation zwischen HOS-Ergebnissen und In-vivo Befruchtungsraten beim Schwein nachgewiesen wurde (PÉREZ-LLANO et al., 2001). Als weiteres spermatologisches Merkmal wurde der pH-Wert der Ejakulate mittels pH-Meter objektiv erhoben. Die Ausprägung dieses chemisch-physikalischen Parameters ist einer jahreszeitlichen Variation unterworfen (TRUDEAU und SANFORD, 1986), so dass im vorliegenden Fall die Monate März und April betrachtet werden müssen. Eben genannte Autoren geben für diese Periode einen durchschnittlichen pH-Wert von Ebersperma an, der von 7,4 bis 7,5 reicht. Der Ejakulat-pH dieser Studie fiel mit einem arithmetischen Mittelwert von 7,48 ± 0,12 in die bereits beobachtete Spannweite. Dieses Ergebnis spricht für eine physiologische Zusammensetzung der Spermaproben.

Insgesamt erfüllten alle Ejakulate die Kriterien zur Besamung beim Schwein. Demzufolge lag aus spermatologischer Hinsicht kein Indiz vor, das gegen die ungestörte Geschlechtsgesundheit der untersuchten Eber sprechen würde.

5.4.3 Histologische Befunde

Für die Befunderhebung standen epididymale und testikuläre Gewebeproben von neun der ursprünglich zehn Eber zur Verfügung. Die Reduktion ergab sich aus dem Verzicht auf Kastration eines Tieres, welches der Klinik weiterhin zu Studien- und Lehrzwecken dienen sollte.

Zur Darstellung der epididymalen und testikulären Mikrostruktur wurden histologische Proben aller Kompartimente 5 µm dick geschnitten (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a) und mittels Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Diese Standard-Färbemethode kam in vorliegender Studie bewusst zum Einsatz, da sie eine möglichst umfassende Betrachtung der histologischen Charakteristika und somit eine Detektion von pathologischen Veränderungen erlaubt. Zudem werden Zellgrenzen klar definiert, was die Histomorphometrie vereinfacht und präzisiert. Letztendlich dienten die histologischen Befunde zur Klärung der Frage, ob die mikroskopischen Organstrukturen der Eber den physiologischen Vorgaben entsprachen. Sofern dies eintraf, konnte den Ergebnissen der Sonographie, unter Berücksichtigung der sonstigen Untersuchungsbefunde, geschlechtsgesunde Eber zugeordnet werden.

Alle untersuchten Gewebeschnitte des Epididymis (aus zwei separaten Gewebeblöcken pro Tier und Lokalisation) waren frei von jeglicher perivaskulären oder interstitiellen Infiltration mit inflammatorischen Zellen. Lediglich intraepithelial waren vereinzelt mononukleäre Zellen zu finden, deren Vorkommen als physiologisch gelten (LIEBICH, 1998).

Als repräsentative Probe des Nebenhodenkopfes wurde das dritte Nebenhodensegment (distaler Caput epididymidis; WROBEL und FALLENBACHER, 1974a, b) untersucht. Das typische, im Querschnitt ungebuchtete zweireihige hochprismatische Epithel konnte ebenso gefunden werden (Abbildung 12), wie die Vielzahl an aggregierten Spermatozoen im Lumen des Ductus epididymidis. Zudem war die undeutliche Abgrenzung der Zellkerne beider Epithelzelltypen (Haupt- und Basalzellen) klar erkennbar (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Das Stratum fibromusculare (LIEBICH, 1998) bestand aus durchschnittlich vier zirkulären Myozytenschichten, was der Vorgabe an 3 - 4 Lagen (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a) entsprach. Histomorphometrisch gesehen, lagen Epithelhöhe sowie der luminale Durchmesser (Tabelle 14) in den Referenzbereichen (65 – 85 µm Epithel; 370 – 570 µm Lumen; WROBEL und FALLENBACHER, 1974b).

Der Nebenhodenkörper (Segment 5; distaler Corpus epididymidis) wies in der Übersichtsaufnahme eine starke Analogie zum Nebenhodenkopf auf. Bei höherer Vergrößerung zeigte sich der gleiche Epithelaufbau, wobei sich die Anordnung der Zellkerne jedoch drastisch unterschied. Die Nuklei von Haupt- und Basalzellen erschienen durch eine kernfreie Zytoplasmazone klar abgegrenzt. Zudem wiesen die Hauptzellen apikal Zytoplasmaprojektionen auf, welche scheinbar ins Lumen abgegeben wurden. Die Querschnitte des Ductus epididymidis waren durch abwechselnd gebuchtete und ungebuchtete epitheliale Verläufe gekennzeichnet (Abbildung 13 C+D). Darüber hinaus unterstrich die Epithelhöhe von 74 \pm 4,59 µm den diskontinuierlichen Abfall der Höhe im Verlauf des Nebenhodenkanals (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Das Stratum fibromusculare wies im Durchschnitt vier Lagen auf. Trotz der genannten Gegensätze von Segment 3 und 5

waren luminaler Inhalt sowie Durchmesser der beiden Abschnitte vergleichbar (Tabelle 14). Dennoch erlaubten die Befunde des distalen Corpus epididymidis, welche mit den Schilderungen von WROBEL und FALLENBACHER (1974a, b) übereinstimmten, eine klare histologische Abgrenzung zum ähnlich strukturierten Nebenhodenkopf.

Die Gewebeschnitte der Cauda epididymidis konnten bereits anhand der Lupenvergrößerung von den vorherigen Lokalisationen differenziert werden. Das großflächige Interstitium war von einer geringen Anzahl an Querschnitten des Nebenhodenganges durchsetzt. Dabei fiel das prominente Stratum fibromusculare auf, welches sich aus durchschnittlich elf. vereinzelt bis zu vierzehn. Myozytenschichten zusammensetzte (Abbildung 14 B). Zudem waren Submukosa sowie Interstitium durch eine hochgradige Vaskularisation gekennzeichnet. Die typisch zweireihige epitheliale Auskleidung des Ductus epididymidis wies eine starke Buchtung auf, wobei die Epithelhöhe den geringsten Wert aller untersuchten Abschnitte einnahm (44.88 ± 4.22 µm). Des Weiteren konnte auf den Faltenkämmen eine Vielzahl an tropfenförmigen Zytoplasmaprotrusionen gefunden werden, welche azidophile Granula enthielten und apokrin ins Lumen abgegeben wurden (Abbildung 14 C). Diese sekretorische Aktivität im Nebenhodenschwanz spiegelte auch der luminale Inhalt wieder, welcher neben einem Spermienkonglomerat aus vielen Zytoplasmapartikeln und den oben genannten Granula bestand (WROBEL und FALLENBACHER, 1974a). Die Speicherungsfunktion des Cauda epididymidis (AMANN, 1981) wurde durch den immensen luminalen Durchmesser des Nebenhodenganges verdeutlicht ($800,72 \pm 73,71 \mu m$), der bis zu 1000 μm annehmen kann (WROBEL und FALLENBACHER, 1974b).

Um die histologische Befunderhebung hinsichtlich der Geschlechtsgesundheit zu vervollständigen, wurden alle korrespondierenden porzinen Hoden ebenfalls untersucht. Die Anzahl der Gewebeschnitte und die Färbemethode orientierten sich dabei am Epididymis. Als physiologisch wurden jene Hoden gewertet, welche funktionell vollständige spermatogene Epithelien in unterschiedlichen Zyklusphasen, Leydig'sche Zwischenzellen als dominante Zellfraktion des Interstitiums (mindestens 2/3 aller Zellen; LIEBICH, 1998) und keine Infiltration mit inflammatorischen Zellen aufwiesen. Alle untersuchten Proben konnten diese drei Kriterien erfüllen. Eventuell hätte eine morphometrische Erhebung des Durchmessers der Samenkanälchen,

Volumens der Samenkanälchen sowie der Anzahl und des Gewichts an Leydig-Zellen (ALLRICH et al., 1983) eine genauere Aussage über den testikulären Gesundheitsstatus geben können. Da der Fokus der vorliegenden Arbeit jedoch auf dem Nebenhoden liegt und keine abnormen Hodenbefunde auftraten, wurde auf die Erhebung dieser Parameter verzichtet.

Insgesamt stimmten die Befunde der epididymalen Abschnitte, inklusive der histomorphometrischen Parameter, mit den Ergebnissen von STOFFEL und FRIES (1994), WROBEL und FALLENBACHER (1974a, b) sowie WYSTUB et al. (1988b) überein. Die Präsenz der geforderten Charakteristika und die Freiheit von entzündlichen Prozessen lassen auf eine physiologische Mikrostruktur der Nebenhoden aller Probanden schließen. In Betracht der Befunde vorhergehender Untersuchungen, die ebenfalls keinen Grund zur Beanstandung aufkommen ließen, war es möglich der sonographischen Untersuchung ausschließlich geschlechtsgesunde Eber zuzuordnen.

5.4.4 Sonographische Befunde inklusive Graustufenanalyse

Sowohl CARTEE et al. (1986) als auch BECK (1990) bildeten in der Vergangenheit den Nebenhoden sonographisch ab. Sie beschrieben eine problemlose B-Bild-Darstellung der epididymalen Abschnitte (Caput, Corpus und Cauda epididymidis), was die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen. Da das Hauptaugenmerk in den Studien genannter Autoren unter anderem auf dem Hoden lag, kamen aussagekräftige Abbildungen eindeutige Beschreibungen sowie der Nebenhodenbefunde bei der Spezies Schwein zu kurz. Dementgegen beinhaltet vorliegende Arbeit eindeutige sonographische B-Bilder aller Anteile des porzinen Epididymis, inklusive ausführlicher Erläuterungen der jeweiligen Echostruktur (Kapitel 4.2). Des Weiteren wurde gezeigt, dass der Nebenhoden beim Eber auch mit einer preisgünstigen Ultraschallsonde (Transrektalsonde) in annähernd vergleichbarer Qualität dargestellt werden kann, wie mit High-End-Scannern (Mikrokonvex-Transducer). Eine geräteinterne Graustufenanalyse wäre ebenso mit einer Transrektalsonde möglich gewesen, was in nicht separat aufgelisteten Vorversuchen überprüft wurde. Dennoch fiel die Wahl auf einen Schallkopf, der mit höherer Frequenz / Auflösung arbeitet. Damit war eine Verbesserung des sonographischen

Informationsgewinns bezüglich Echostruktur (SCHMAUDER, 2003) verbunden und folglich präzisere Graustufen-Ergebnisse möglich.

Hinsichtlich der sonographischen Darstellbarkeit war der Nebenhodenschwanz von allen drei epididymalen Anteilen am einfachsten abzubilden. Die adspektorisch erkennbare Lage sowie die problemlose Fixation des Organs (Kapitel 3.2.4.1) erlaubten es nach kürzester Zeit, ein artefaktarmes B-Bild zu generieren. Zudem musste der Nebenhodenschwanz nicht von umliegenden Strukturen, ausgenommen der Hoden, differenziert werden. Beim Nebenhodenkopf wurde seine kranio-ventrale Position palpatorisch erfasst, um die Sonde korrekt zu platzieren. Nach Anlegen des Schallkopfes war es erforderlich, diesen entlang einer kranio-kaudalen Achse zu verschieben und leicht nach medial zu rotieren, so dass die Darstellung des Caput epididymidis zwischen Hoden bzw. Bursa testicularis auf der einen, und dem Gefäßplexus des Samenstranges auf der anderen Seite ermöglicht wurde. Folglich war die sonographische Aufnahme des Nebenhodenkopfes mit einem größeren Aufwand an Zeit und Geschick verknüpft als die des Nebenhodenschwanzes. Für den unerfahrenen Untersucher sollte dies dennoch kein Problem darstellen. Die Darstellung des Corpus epididymidis hingegen gestaltete sich nicht immer einfach. Der Scanner wurde auf der Mitte der Hodenlängsachse quer angelegt, um den Nebenhodenkörper mit dorso-medialer Schallausrichtung hinter dem Hoden sonographisch zu erfassen (Abbildung 3). Zudem musste der mittlere Nebenhodenanteil vom benachbarten Gewebe des Mesorchiums unterschieden werden. Dies erforderte eine längere Zeitspanne als bei den anderen Lokalisationen, da eine Differenzierung ausschließlich bei idealem Schnittwinkel möglich gewesen ist. Zudem musste die Untersuchungsperson eine detaillierte anatomische Kenntnis der Region aufweisen, um Corpus epididymidis und mesorchiales Gewebe nicht akzidentiell zu verwechseln. Insgesamt stellte sich die Sonographie des Nebenhodenkörpers etwas aufwendiger dar als die des Caput und der Cauda epididymidis. Mit den Erfahrungen der Voruntersuchung war diese jedoch problemlos durchführbar.

Die Graustufenanalyse des Epididymis ist ein Novum in der Veterinärmedizin. Es liegen zwar Studien über die quantitative Grauwertbeurteilung des Hodens beim Bullen und Rüden vor (CHANDOLIA et al., 1997; GRAUE, 2002; HÖHNE, 2002; KASTELIC et al., 2001), doch der Nebenhoden blieb bisher unbeachtet. In der

vorliegenden Arbeit wurden die eindimensionalen Graustufenparameter mittlerer Grauwert (Lmean) und Modalwert der häufigsten Grauwertpixel (Nmost) erhoben, um die objektive Echotextur der epididymalen Anteile prä und post ejaculationem zu eruieren.

Der Vergleich von Caput, Corpus und Cauda epididymidis bezüglich ihres mittleren Grauwerts (Lmean) erbrachte signifikante Unterschiede (p < 0.0001) zwischen den Lokalisationen. Diese Divergenz im regionalen Vergleich wurde durch die unterschiedlichen Nmost-Werte (p < 0,0001) bestätigt. Im Verlauf des Epididymis wies der Nebenhodenschwanz, sowohl prä als auch post ejaculationem, die signifikant geringste objektive Echogenität (mittlerer Grauwert) auf. Die Befunde können aus der Anatomie, Funktion und sonographischen Abbildung des epididymalen Abschnitts abgeleitet werden. Als Organ der Spermienspeicherung (AMANN, 1981) beinhaltet der Nebenhodenschwanz den größten Anteil an Seminalplasma und Spermien im großlumigen Ductus epididymidis (WROBEL und Die FALLENBACHER, 1974a). sonographischen Querschnitte des Nebenhodenganges stellten sich folglich als anechogene Flüssigkeitszonen dar (Kapitel 4.2.4), die den mittleren Grauwert vergleichbar niedrig hielten. Eine derartige Ausprägung dieser Areale konnte bei Caput und Corpus epididymidis weder histologisch noch sonographisch beobachtet werden. Demnach sollten die Charakteristika des Nebenhodenschwanzes seine geringe objektive Echogenität prä ejaculationem erklären. Auch nach dem Spermienausstoß stellte sich der Nebenhodenschwanz als reflexärmstes Gewebe im Epididymis dar, wobei sich sein mittlerer Grauwert signifikant erhöhte. Dieser Anstieg hinsichtlich Untersuchungszeitpunkt (prä / post ejaculationem) erschien durch das Fehlen des immensen anechogenen Flüssigkeitsvolumens im Nebenhodengang infolge der Ejakulation als plausibel. Zudem ist es möglich, dass ein noch nicht aufgehobener reflektorischer Kontraktionszustand der epididymalen Muskulatur zu einer Verringerung der luminalen Durchmesser und damit zur Erhöhung der Gewebe- bzw. Echodichte führte. Der Unterschied hinsichtlich der objektiven Echogenität (Lmean) zwischen Cauda epididymidis und Nebenhodenkopf bzw. -körper post ejaculationem wahrscheinlich deren mikroskopischer Struktur begründet. lag in Der überdurchschnittliche Gefäßreichtum des Nebenhodenschwanzes gepaart mit einem Residualvolumen an Seminalplasma verwies auf eine starke Ausprägung der

sonographisch erkennbaren anechogenen Areale, die auch nach der Ejakulation zum signifikant geringsten mittleren Grauwert aller Nebenhodensegmente geführt haben.

Nebenhodenkopf und -körper unterschieden sich bezüglich ihres mittleren Grauwerts prä und post ejaculationem signifikant (Tabelle 14 und 15). Beide Organe wiesen eine ähnliche mikroskopische Struktur auf (insbesondere luminaler Durchmesser des Nebenhodenganges; WROBEL und FALLENBACHER, 1974b), wobei das Caputgewebe geringgradig kompakter erschien. Folglich konnte ihre divergente Echogenität nur andeutungsweise anhand der Anatomie erklärt werden. Die Begründung fand sich allerdings in der Methodik der sonographischen Darstellung. Das Corpus epididymidis musste, aufgrund seiner Lokalisation, schallkopffern hinter dem Hoden abgebildet werden. Dabei wurde eine geringere Schallfrequenz (7,5 MHz) gewählt als bei der Darstellung des Nebenhodenkopfes (9,0 MHz) um die erforderliche Eindringtiefe zu erreichen. Alle weiteren Parameter der Bildentstehung blieben gleich. Da sowohl die axiale (GLADISCH, 1992) als auch die laterale Auflösung (WIGGER und KRAMER, 2008) von der Schallfrequenz abhängig ist, führt eine Anderung der Frequenz zwangsläufig zu unterschiedlichen Auflösungsvermögen. Bei der quantitativen Graustufenanalyse kann daraus eine Variation der Analyseergebnisse resultieren (LIEBACK-ZIMMERMANN, 1993). Folglich schien die divergierende Schallfrequenz bei den sonographischen Abbildungen von Nebenhodenkopf und -schwanz maßgeblich für die geringere objektive Echogenität des Corpus epididymidis verantwortlich zu sein.

Letztendlich muss bei der Graustufenanalyse von Nebenhodenkopf und -körper noch auf den zeitlichen Faktor eingegangen werden (prä / post ejaculationem). Wie auch beim Nebenhodenschwanz, wiesen beide epididymalen Abschnitte nach der Ejakulation einen signifikant höheren mittleren Grauwert auf (Tabelle 15 und 16) als davor. Demnach fand im Zuge des Spermienausstoßes eine Gewebeverdichtung dieser Organe statt, die sich in den erhöhten Echogenitäten widerspiegelte. Die Veränderungen der Gewebetextur von Caput und Corpus epididymidis resultieren höchstwahrscheinlich einem verminderten Füllungszustand aus des Nebenhodenganges infolge der Ejakulation. Da der Nebenhodenschwanz als Spermienspeicher entleert wird, und der Epididymis ein geschlossenes Gangsystem aufweist, kann von einer Flüssigkeitsverschiebung von proximal nach distal ausgegangen werden. Somit war es möglich, dass das Fehlen des anechogenen

Seminalplasmas im Nebenhodenkopf und -körper eine objektive Echogenitätserhöhung nach sich gezogen hat.

Neben den mittleren Grauwerten (Lmean; arithmetischer Mittelwert) wiesen die Nmost-Werte (Modalwert der häufigsten Graustufe) hinsichtlich Zeitpunkt (prä / post ejaculationem) und Lokalisation (Caput, Corpus und Cauda epididymidis) ebenfalls signifikante Unterschiede auf. Somit wurden die differenten Echotexturen innerhalb des Nebenhodens durch einen weiteren Parameter der zentralen Tendenz bestätigt. Jedoch liegt ein Modalwert hinter dem arithmetischen Mittelwert bezüglich Zuverlässigkeit der Aussage zurück, obwohl er in der Lage ist, mehrgipflige Verteilungen zu kennzeichnen (SCHELTEN, 1997), die in Histogrammen vorliegender Studie vereinzelt auftraten. Diese eingeschränkte Aussagekraft des Nmost-Wertes ist höchstwahrscheinlich der Grund, dass der Parameter in keiner der aufgeführten veterinärmedizischen Ultraschallstudien im Rahmen der Graustufenanalyse Anwendung fand. Dennoch lieferte er in vorliegender Arbeit als akzessorischer Parameter Hinweise, die die Korrektheit der objektiven Echogenitätsbefunde untermauern können.

5.4.5 Gruppenunterschiede und Korrelationen

Das Eberkollektiv wurde zu Beginn der Studie in zwei Gruppen mit jeweils fünf Tieren eingeteilt. Die Probanden der ersten Gruppe waren intrauterin und postnatal einer Zearalenon-Exposition durch das Muttertier ausgesetzt (Kapitel 3.2.1), während die fünf unbelasteten Eber der zweiten Gruppe als Kontrolltiere dienten. Beide Gruppen wurden auf statistisch signifikante Unterschiede hinsichtlich der quantitativen Parameter aller Untersuchungen, ausgenommen der Histologie, überprüft (Tabellen 24 - 26, Anhang).

Im klinisch-andrologischen Bereich wies der rechte Hoden der Kontrolltiere eine signifikant höhere Länge und festere Konsistenz auf als der rechte Testikel in der Mykotoxin-Gruppe (Tabelle 24, Anhang). Eine ähnlich Beobachtung hinsichtlich der beiden Parameter konnte beim korrespondierenden linken Hoden gemacht werden, wobei die Gruppenunterschiede nur knapp über der Signifikanzgrenze lagen (Hodenlänge: p = 0.07; Konsistenz: p = 0.06). Diese Ergebnisse verleiten zu der Annahme, dass eine perinatale Zearalenon-Exposition von männlichen Feten bzw.

Neonaten zu kürzeren Hoden mit weicherer Konsistenz beim geschlechtsreifen Eber geführt hat. YANG et al. (1995) exponierten Jungsauen zwischen dem 30. Graviditätstag und der Laktationsperiode täglich mit 2 ppm (parts per million) Zearalenon. Die männlichen Ferkel (n = 3) dieser Tiere wiesen im Alter von 21 Tagen ein um 15 % geringeres Hodengewicht auf, als die Ferkel der unbelasteten Sauen. Allerdings konnte dieser Unterschied bei den mit Zearalenon belasteten Jungebern (n = 2) nach dem Erreichen der Geschlechtsreife (160 Tage) nicht mehr beobachtet werden. In der Studie von BERGER et al. (1981) bekamen Eber (n = 8) zwischen der 14. und 18. Lebenswoche täglich 40 ppm Zearalenon oral verabreicht. Diese Tiere zeigten im Alter von 252 Tagen ein geringeres testikuläres Gewicht als die Eber der Kontrollgruppe, wobei keine statistische Signifikanz festgestellt werden konnte. Bei CHRISTENSEN et al. (1972) wurden sechs Wochen alte Jungeber (n = 9) mit kontaminiertem Getreide gefüttert (500 – 600 ppm Zearalenon über 64 Tage). Infolge dieser mykotoxinen Belastung wiesen die Eber im Alter von 166 Tagen ein um 30 % geringeres Hodengewicht auf als die Kontrolltiere. Folglich belegen genannte Studien den negativen Einfluss von intrauteriner und postnataler Zearalenon-Exposition auf die testikuläre Entwicklung männlicher Schweine. Zudem ist eine diaplazentare Ubertragung der Zearalenon-Metaboliten beim Schwein erwiesen (DANICKE et al., 2007). In wie weit die Parameter Hodengewicht, Hodenlänge und Konsistenz abfallen, ist dabei vom Alter der Tiere, der Expositionsdauer, der Expositionsart (diaplazentar bzw. laktogen über das Muttertier oder direkt nutritiv) und der Konzentration des Mykotoxins abhängig. Außerdem scheint der zeitliche Abstand zwischen Ende der Exposition und Erhebung der testikulären Parameter eine Rolle Die Studie von YANG et al. (1995) war hinsichtlich zu spielen. der Expositionsbedingungen (Art und Dauer der Exposition, Alter der Tiere und Zearalenon-Konzentration) mit der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Trotz dieser Analogie wiesen die exponierten geschlechtsreifen Eber im Alter von 160 Lebenstagen keine Defizite in der testikulären Entwicklung auf, wo hingegen die vorliegenden Befunde von Hodenlänge und -konsistenz (Erhebung zwischen dem 215. und 285. Lebenstag) dem Gegenteil entsprachen. Demnach deuten die unterschiedlichen Abstände zeitlichen vom Expositionsende zur Untersuchungsperiode auf ein verzögertes morphologisches Auftreten der nachteiligen mykotoxinen Effekte in vorliegender Studie hin.

Diskussion

spermatologischen Auch innerhalb der Untersuchung konnten deutliche Gruppenunterschiede gefunden werden. Die Spermien der Zearalenon-Gruppe wiesen hinsichtlich einer Reihe von CASA-Parametern (DAP, DCL, DSL, VAP, VCL, signifikant geringere Motilitätswerte auf als die Spermatozoen der VSL) Kontrollgruppe (Tabelle 25, Anhang). YOUNG und KING (1986b) berichteten, dass Zearalenon die Funktion des porzinen Testis und Epididymis beeinflussen kann. In ihrer Studie konnte den Spermien der Eber, die zwischen dem 32. und 312. Lebenstag kontinuierlich mit 9 ppm Zearalenon belastet wurden, eine signifikant geringere Gesamtmotilität zugesprochen werden als den Spermien der Kontrolltiere. In Betracht der Expositionsdauer sind die Motilitätsparameter der vorliegenden Studie nicht mit den Beobachtungen von YOUNG und KING (1986b) vergleichbar, obwohl die Tendenz zur geringeren Motilität bei den exponierten Ebern liegt (Tabelle 25, Anhang). Generell steigt die Motilität der Spermatozoen während ihrer Maturation entlang des Nebenhodens von proximal nach distal an (Gesamtmotilität, VAP, VCL, VSL; YEUNG et al., 1993). Die Spermienmaturation ihrerseits resultiert aus der Interaktion von Spermien mit ihrer epididymalen Mikroumgebung (DACHEUX et al., 2005). Dieses Milieu erfährt durch östrogenvermittelte Resorptions- (HESS et al., 1997) und androgenvermittelte Sekretionsprozesse (ORGEBIN-CHRIST et al., 1976) seine spezifische Zusammensetzung. Obwohl die perinatal mit Zearalenon exponierten Eber in vorliegender Studie keine Veränderungen hinsichtlich ihrer epididymalen Histologie aufwiesen (Kapitel 4.1.4), ist es möglich, dass die östrogene Aktivität des Mykotoxins und seiner Metabolite (a-Zearalenol; DIEKMAN und GREEN, 1992) die funktionelle Entwicklung des Nebenhodens nachhaltig beeinflusst hat. Dies würde die signifikant unterschiedlichen Motilitätsparameter (Tabelle 25, Anhang) der Spermien erklären.

Der Gruppenvergleich innerhalb der Grauwertparameter erbrachte vereinzelt signifikante Unterschiede (Tabelle 26, Anhang). Allerdings konnten diese nur für eine Körperseite beobachtet werden, während die Grauwerte der korrespondierenden Nebenhoden keine signifikanten Divergenzen zwischen Kontroll- und Mykotoxin-Gruppe aufwiesen. Folglich muss eine eindeutig nachweisbare Beeinflussung der sonographischen Echotextur des Epididymis durch die Zearalenon-Exposition verneint werden.

Das Verhältnis der rektalen Körpertemperatur zu den einzelnen spermatologischen Parametern wurde mittels Korrelationsanalysen überprüft. Die Erhöhung der porzinen Körpertemperatur im physiologischen Bereich korrelierte signifikant mit einem Anstieg des pH-Wertes (r = 0,27; p = 0,04), der Spermiengesamtzahl (r = 0,26; p = 0,04) sowie dem Anteil der primär (r = 0,39; p = 0,002) und aller pathomorphologisch veränderten Spermien (r = 0,36; p = 0,01). Aus der Studie von TRUDEAU und SANFORD (1986) ist ersichtlich, dass das porzine Ejakulat bei Erhöhung der rektalen Körpertemperatur innerhalb eines Monats einen zeitgleich geringgradigen Anstieg im pH-Wert aufweisen kann.

Hinsichtlich des Verhältnisses zwischen rektaler Körpertemperatur und Spermiengesamtzahl beim Eber erbrachten CAMERON und BLACKSHAW (1980), sowie WETTEMANN et al. (1976) aufschlussreiche Ergebnisse. In den Arbeiten der genannten Autoren wurden die Auswirkungen einer erhöhten Umgebungstemperatur auf die porzine Spermatogenese geprüft. Mit einer Erhöhung der rektalen auf ca. 39.0 C ein signifikan ter Körpertemperatur war Abfall der Spermiengesamtzahl verbunden (n = 3 Eber; CAMERON und BLACKSHAW, 1980). Bei WETTEMANN et al. (1986) zeigten die unter Hitzestress gesetzten Eber (n = 6) eine um 0,4 bis 0,6 °C höhere rektale Körpertempera tur (Maximum 39,2 °C) als die Kontrolltiere. Diese Erhöhung ging mit einem signifikanten Abfall der Spermiengesamtzahl einher. Allerdings die Verminderungen konnten der Spermiengesamtzahl in genannten Studien erst nach einer mehrwöchigen Hitzeexposition festgestellt werden. Im vorhergehenden Zeitraum blieb die Zahl der Spermien pro Ejakulat auf dem annähernd gleichem Niveau der Kontrolltiere (CAMERON und BLACKSHAW, 1980; WETTEMANN et al., 1986) und stieg mitunter geringgradig an (WETTEMANN et al., 1986). Die Beobachtungen verleiten zu der Annahme, dass eine temporäre Erhöhung der rektalen Körpertemperatur je nach Dauer zur Veränderung der Spermiengesamtzahl führt. Da die Erhöhung der rektalen Körpertemperatur bei den Ebern der vorliegenden Studie nicht aus permanentem Hitzestress resultierte und individuell nur kurzfristig andauerte, ist es möglich, dass sich ein vorübergehend geringgradiger Temperaturanstieg positiv auf die porzine Spermatogenese ausgewirkt hat. Dies würde die positiv signifikante Korrelation (r = 0,26; p = 0,04) zur Spermiengesamtzahl erklären.

Über das Verhältnis zwischen porziner Körpertemperatur und dem Anteil an pathomorphologischen Spermien im Ejakulat sind sich die Autoren einig. Bei CAMERON und BLACKSHAW (1980) korrelierte der Prozentsatz an Spermatozoen mit abnormalem Kopf signifikant mit der Erhöhung der rektalen Körpertemperatur. Sowohl McNITT und FIRST (1970) als auch WETTEMANN et al. (1976) zeigten, dass Eber mit höherer Körpertemperatur signifikant mehr abnorme Spermien mit gealtertem Akrosom im Ejakulat aufwiesen. Diese Studienergebnisse bestätigen die vorliegende Korrelation zwischen dem Anstieg der rektalen Körpertemperatur und dem höheren Anteil an pathomorphologischen Spermien (r = 0,36; p = 0,01), insbesondere hinsichtlich der primären Veränderungen (r = 0,39; p = 0,002).

Des Weiteren wurde geprüft, ob signifikante Beziehungen zwischen den Graustufenparametern (Lmean, Nmost) und den Konsistenzen von Caput bzw. Cauda epididymidis vorlagen. GRAUE (2002) stellte fest, dass die Konsistenz des bovinen Hoden linear mit seinen Grauwerten korreliert (r = -0.52; p < 0.05). Ein nachlassender Hodenturgor beim adulten Bullen war mit höheren testikulären Grauwerten verbunden. Im Gegensatz dazu standen die Ergebnisse des korrespondierenden Vergleichs beim porzinen Nebenhoden in vorliegender Arbeit. Insgesamt konnte keine signifikante Korrelation zwischen den Konsistenzen (Nebenhodenkopf bzw. -schwanz) und den Graustufenbefunden der drei epididymalen Anteile nachgewiesen werden (Tabelle 19). Demnach war es nicht möglich, von der Festigkeit des Epididymis auf die quantitative Echotextur seiner Anteile zu schließen.

Letztendlich wurden im Rahmen weiterer Korrelationsanalysen ausgewählte spermatologische Befunde (Ejakulatvolumen und Spermiengesamtzahl) den Ergebnissen der Graustufenanalyse (pro Lokalisation und Zeitpunkt) gegenübergestellt. Es zeigte sich, dass ausschließlich der mittlere Grauwert (Lmean) des Caput epididymidis statistisch signifikante Beziehungen zu genannten spermatologischen Parametern in Abhängigkeit vom Zeitpunkt (prä / post ejaculationem) aufwies (Tabelle 28). Vor der Ejakulation korrelierte er positiv signifikant mit der Spermiengesamtzahl (Abbildung 27). Demnach konnte von einer höheren objektiven Echogenität des Nebenhodenkopfes prä ejaculationem auf eine Zunahme der Spermienzahl im Ejakulat geschlossen werden. In der Studie von GRAUE (2002) wurden die Grauwerte boviner Hoden mit der Spermiengesamtzahl in

Beziehung gesetzt, und eine signifikante Korrelation der beiden Parameter (r = 0,46; p < 0,05) nachgewiesen. Mit Zunahme der helleren Grauwerte erhöhte sich die Spermiengesamtzahl im Ejakulat. Die Echogenitätserhöhung des testikulären Gewebes wurde dabei mit der Steigerung der germinativen Zelldichte in Bezug gebracht, die ihrerseits zu einer höheren Spermienproduktion führte. Ob der Nebenhodenkopf einen strukturellen Umbau infolge einer höheren Spermienproduktion erfährt, ist fraglich. Wahrscheinlicher ist, dass eine höhere Anzahl produzierter Spermatozoen kanalikulär in die Ductuli efferentes gelangen, und dadurch die Echogenität des Caput epididymidis steigern.

Nach der Ejakulation war eine positiv signifikante Korrelation zwischen dem mittleren Grauwert des Nebenhodenkopfes und dem Ejakulatvolumen nachweisbar (Abbildung 28). Ein höherer Samenausstoß führte scheinbar zu einer Gewebeverdichtung des Caput epididymidis und damit zum Anstieg seiner objektiven Echogenität post ejaculationem. Diese Beobachtung spricht für die These, welche eine Verschiebung von Seminalplasma bzw. Spermatozoen innerhalb des Epididymis infolge der Ejakulation postuliert. Insgesamt liegen Indizien vor, welche die Vermutung zulassen, dass von der objektiven Echogenität des Nebenhodenkopfes prä und post ejaculationem auf Volumen und Spermiengesamtzahl des porzinen Ejakulates geschlossen werden kann.

5.5 Offene Fragestellungen

Im Rahmen dieses Forschungsprojektes wurde gezeigt, dass alle drei Anteile des porzinen Nebenhodens sonographisch darstellbar sind. Ferner wiesen Caput, Corpus und Cauda epididymidis signifikante Unterschiede hinsichtlich ihrer eindimensionalen Graustufenparameter bzw. objektiven Echogenitäten auf, die sowohl vor als auch nach der Ejakulation auftraten. Zudem machten die signifikant höheren Grauwerte aller Organabschnitte post ejaculationem deutlich, dass sich das porzine Nebenhodengewebe durch die Ejakulation sonographisch verdichtet.

Inwieweit sich die objektive Echotextur des porzinen Epididymis während der geschlechtlichen Entwicklung verändert, konnte in vorliegender Arbeit, aufgrund einer relativ kurzen Untersuchungsperiode an maturen Ebern, nicht erörtert werden.

Dabei lassen die Ergebnisse von GRAUE (2002) vermuten, dass ein höheres Lebensalter bzw. Entwicklungsstadium mit einem Anstieg der epididymalen Echogenität im Sonogramm einhergeht.

Des Weiteren ist fraglich, wie die Ergebnisse einer sonographischen Graustufenanalyse des Epididymis bei weiteren Spezies ausfallen. Die regionalen Unterschiede innerhalb des Nebenhodens sowie die epididymalen Echogenitätserhöhungen post ejakulationem, welche in vorliegender Studie auftraten, können keineswegs vereinheitlicht werden, da tierartliche Divergenzen hinsichtlich mikroskopischer Struktur (Durchmesser des Ductus epidiymidis, etc.) des Nebenhodens und im Ejakulatvolumen bestehen.

Durch die eindimensionale Graustufenanalyse wurde die sonographische Darstellung der Nebenhodenabschnitte beim geschlechtsgesunden Eber objektiviert. Die dabei erarbeiteten Grauwerte können zur Interpretation von Sonogrammen des porzinen Epididymis verwendet werden. Allerdings bleibt die Frage offen, inwieweit es möglich ist, mittels Graustufenanalyse pathologische Veränderungen des Epididymis zu detektieren. Eindimensionale Analyseverfahren berücksichtigen einzig die Häufigkeitsverteilung bestimmter Graustufen, geben dabei aber keine Auskunft über die räumliche Anordnung der Grauwerte zueinander (PINAMONTI et al., 1989; LIEBACK et al., 1991). Da sich bei pathologischen Prozessen die Echotextur des Nebenhodengewebes räumlich ändern kann. scheinen mehrdimensionale Graustufenanalysen besser geeignet um epididymale Erkrankungen sonographisch zu erkennen.

Ziel weiterer Forschungsprojekte könnte es sein, die präpuberale Entwicklung des porzinen Nebenhodens mittels sonographischer Graustufenanalyse darzustellen. Ferner sollte geklärt werden, ob ein- bzw. mehrdimensionale Graustufenanalysen geeignet sind, um pathologische Veränderungen des Epididymis zu erfassen und zu quantifizieren.
6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die drei Anteile des porzinen Epididymis sonographisch darzustellen sowie Unterschiede in der Echogenität hinsichtlich Lokalisation und zeitlichem Abstand zur Ejakulation mittels sonographischer Graustufenanalyse zu quantifizieren. Ferner sollte überprüft werden, ob Beziehungen zwischen den Ergebnissen der sonographischen Gewebecharakterisierung und ausgewählten Befunden der andrologischen / spermatologischen Untersuchung vorliegen.

Insgesamt standen 10 Eber (Dreirassenkreuzung) der gleichen Altersstufe (7 - 9 Monate) zur Verfügung, wobei die Hälfte der Probanden perinatal mit dem Mykotoxin Zearalenon belastet war. Die Tiere wurden einer klinisch-andrologischen, spermatologischen und histologischen Untersuchung unterzogen und neben der konventionellen B-Bild Sonographie wurde zusätzlich eine quantitative Graustufenanalyse durchgeführt. Dabei kamen sowohl eine Linear- als auch eine Mikrokonvex-Sonde in Kombination mit dem Ultraschallgerät Honda HS-1500V zur Anwendung. Die Geräteeinstellungen waren für jede Lokalisation konstant. Im Einzelnen erfolgte die sonographische Abbildung von Caput und Cauda epididymidis im Längsschnitt, während das Corpus epididymidis im Querschnitt dargestellt wurde. Zum Nachweis einer reproduzierbaren sonographischen Darstellung erfolgte bei allen Ebern eine zeitliche Wiederholungsuntersuchung sowie bei 5 Tieren eine individuelle Wiederholung der Aufnahmen. Zur eindimensionalen Graustufenanalyse wurde der porzine Nebenhoden pro Lokalisation und Untersuchung 20 mal in einer definierten Zone sonographisch abgebildet, eine doppelte Graustufenmessung erhoben und der mittlere Grauwert (Echogenität) sowie der Nmost-Wert (Modalwert der häufigsten Graustufe) ausgewiesen.

Folgende relevanten Ergebnisse konnten erzielt werden:

Klinisch-andrologische, spermatologische und histologische Untersuchung

 Sämtliche Eber wiesen anhand der klinisch-andrologischen, spermatologischen und histologischen Befunde keine Einschränkung in ihrer Geschlechtsgesundheit auf.

- Die Spermatozoen von Ebern, die intrauterin und postnatal mit dem Mykotoxin Zearalenon belastet wurden, zeigten signifikant niedrigere Motilitätsparameter (Computer - Aided Sperm Analysis) als Spermien unbelasteter Tiere.
- Es bestanden signifikant positive Korrelationen zwischen rektaler Körpertemperatur und pH-Wert des Ejakulats (r = 0,27; p = 0,04), Spermiengesamtzahl (r = 0,26; p = 0,04), Anteil an primär pathomorphologischen Spermien (r = 0,39; p = 0,002) sowie Anteil pathomorphologisch veränderter Spermien (r = 0,36; p = 0,01). Mit dem Anstieg der Körpertemperatur im physiologischen Bereich gingen lineare Erhöhungen der zuvor genannten Parameter einher.

Sonographische Untersuchung inklusive quantitativer Graustufenanalyse

- Alle drei Anteile des porzinen Epididymis (Caput, Corpus und Cauda) waren bei der zeitlichen und der individuellen Wiederholungsuntersuchung immer darstellbar.
- Nebenhodenkopf, –körper und –schwanz wiesen signifikant unterschiedliche mittlere Grauwerte (objektive Echogenität) und Nmost-Werte auf.
- An allen drei Lokalisationen des Epididymis waren post ejaculationem signifikant höhere Grauwerte (mittlerer Grauwert und Nmost) zu verzeichnen als vor dem Spermienausstoß.
- Der Nebenhodenkopf wies als einziger epididymaler Anteil signifikante Beziehungen zwischen dem mittleren Grauwert und der Spermiengesamtzahl sowie zwischen dem mittleren Grauwert und dem Ejakulatvolumen auf. Eine Erhöhung der objektiven Echogenität war hier mit einem Anstieg von Ejakulatvolumen (r = 0,64; p = 0,045) und Spermiengesamtzahl (r = 0,73; p = 0,02) positiv linear korreliert.
- Zwischen den Konsistenzen von Caput bzw. Cauda epididymidis und den Ergebnissen der eindimensionalen Graustufenanalyse bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchung ist zu schlussfolgern, dass die B-Bild Sonographie als Methode zur Darstellung aller Anteile des porzinen Epididymis im Rahmen der andrologischen Untersuchung geeignet ist. Ferner stellt die eindimensionale Graustufenanalyse eine sinnvolle Ergänzung zum konventionellen Ultraschall dar. Sie ermöglicht die Quantifizierung der subjektiven Echogenität und damit eine Objektivierung der sonographischen Befunde. Die in der vorliegenden Studie erarbeiteten, signifikant unterschiedlichen Grauwerte für die Abschnitte des gesunden Epididymis prä und post ejaculationem eignen sich als Diskussionsgrundlage für die Befundinterpretation in der andrologischen Diagnostik. Inwieweit die quantitative Graustufenanalyse eine Aussagekraft bei der Diagnose von pathologisch veränderten Nebenhoden besitzt, müsste in einer weiteren Studie geprüft werden.

Abschließend wurde mittels computergestützter Spermienanalyse gezeigt, dass durch eine Exposition von männlichen porzinen Feten bzw. Neonaten mit Zearalenon bestimmte Spermienparameter beim geschlechtsreifen Eber signifikant beeinflusst werden.

7 SUMMARY

Michael Robert Heinrich Kessler

Sonographic Examination of the Boar Epididymis

The objective of this study was to sonographically map the three parts of the porcine epididymis and to quantify the echogenicity differences with respect to site and ejaculation time lag by way of sonographic grey scale analysis. The study was also to investigate whether there was a correlation between the results from the sonographic tissue characterization and the findings selected from the andrological / spermatological analysis.

Altogether ten boars (three races crossbred) of the same age group (7 to 9 months) were available with half of them having been perinatally exposed to mycotoxin zearalenone. The animals were subjected to an andrological, spermatological and histological examination and a quantitive grey scale analysis was carried out in addition to the conventional B-mode ultrasonography. A linear as well as a microconvex scanner (both of them multi-frequency scanners) were used in combination with an ultrasonic Honda HS-1500V device. The instrument settings were the same for each site. Detailed sonographies of the longitudinal section of the caput and cauda epididymidis as well as of the transverse section of the corpus epididymidis were carried out. In order to give evidence of a reproducible sonographic scan, all boars were subjected to timed repeat tests and five of them to individual repetitions of the scans. For the one-dimensional grey scale analysis, one specific area of the porcine epididymis was sonographically mapped 20 times per site and examination, and subjected to a double grey scale measurement ; furthermore, the average grey level (echogenicity) as well as the Nmost value (mode of the most frequent grey scale) were identified.

The following relevant results could be achieved:

Andrological, spermatological and histological examination

- According to the andrological, spermatological and histological findings, none of the boars showed any restrictions of their reproductive health.

- The spermatozoa of those boars exposed to mycotoxin zearalenone in intrauterine and postnatal conditions showed significantly lower motility parameters (computer-aided sperm analysis) than the semen of non-exposed animals.
- Significant positive correlations were identified between rectal body temperature and pH value of the ejaculate (r = 0.26; p = 0.04), total sperm number (r = 0.26, p = 0.04), share of sperm cells with primary morphologic defects (r = 0.39; p = 0.002) and share of sperm cells with abnormal morphology (r = 0.36; p = 0.01). The increase in body temperature on the physiological level was accompanied by a linear elevation of the above mentioned parameters.

Sonographic examinations including quantitive grey scale analysis

- The three parts of the porcine epididymis (caput, corpus and cauda) could be scanned at all times during the timed and individual repeat examinations.
- Caput, corpus and cauda epididymidis showed significantly different average grey levels (objective echogenicity) and Nmost values.
- After ejaculation, the three sites of the epididymis manifested significantly higher grey levels (average grey level and Nmost) than before ejaculation.
- The caput epididymidis was the only epididymal section to demonstrate significant correlations between the average grey level and the total sperm number as well as between the average grey level and the ejaculate quantity. Here an increase of the objective echogenicity was correlated in a positive linear manner with the rise in ejaculate volume (r = 0.64; p = 0.045) and total sperm number (r = 0.73; p = 0.02).
- No statistically significant relation was identified between the consistencies of caput and cauda epididymidis and the results of the one-dimensional grey scale analysis.

The results from this study allow the conclusion that the B-mode ultrasonography is an appropriate technique for the examination of all parts of the porcine epididymis in the framework of andrological analyses. Furthermore, the one-dimensional grey scale analysis presents a worthwhile complement to the conventional ultrasound. It allows quantification of the subjective echogenicity and thus an objectification of sonographic findings. The significantly varying grey levels of the sections of the healthy epididymis before and after ejaculation elaborated in this study qualify as a basis for discussion regarding the interpretation of findings in andrological diagnosis. The actual informative value of the quantitative grey scale analysis for the diagnosis of pathological epididymidis mutations would have to be verified in a further study.

FiN-ally, a computer-aided sperm analysis showed that the exposure of male porcine foetuses and/or neonates to zearalenone has a significant impact on specific sperm parameters of the sexually mature boar.

8 LITERATURVERZEICHNIS

AHMAD, N.; NOAKES, D.E.; SUBANDRIO, A.L. (1991)

B-mode real time ultrasonographic imaging of the testis and epididymis of sheep and goats The Veterinary Record 128, 491-496

AKSOY, M.; ERDEM, H.; HATIPOGLU, F.; LEHIMCIOGLU, N.; AKMAN, O.;

ÖZKAN, K. (2008)

Ultrasonographic examination of the scrotal content in the rabbit Reproduction in Domestic Animals 44, 156-160

ALLRICH, R.D.; CHRISTENSON, R.K.; FORD, J.J.; ZIMMERMAN, D.R. (1983)

Pubertal development of the boar: Age-related changes in testicular
 morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17β
 Biology of Reproduction 28, 902-909

AMANN, R.P. (1981)

A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics

Journal of Andrology 2, 37-58

BABA, T.; KASHIWABARA, S.; WATANABE, K.; ITOH, H.; MICHIKAWA, Y.;

KIMURA, K.; TAKADA, M.; FUKAMIZU, A.; ARAI, Y. (1989) Activation and maturation mechanisms of boar proacrosin zymogen based on the deduced primary structure

Journal of Biological Chemistry 264, 11920-11927

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.; BÖHMER, 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

BAMBERG, E. (1975)

Untersuchungen über die Spermienreifung im Nebenhoden Wien, Tierärztliche Hochschule, Habil.

BECK, G. (1990)

Sonographische Untersuchungen an Skrotum und akzessorischen Geschlechtsdrüsen von Wiederkäuern, Ebern, Hengsten und Rüden München, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztliche Fakultät, Diss.

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

BERGER, T.; ESBENSHADE, K.L.; DIEKMAN, M.A.; HOAGLAND, T.; TUITE, J. (1981)

Influence of prepubertal consumption of zearalenone on sexual development of boars

Journal of Animal Science 53, 1559-1564

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, Tierärztliche Fakultät, Diss.

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, 228

BLECK, J.S.; GEBEL, M.; MANNS, M.P. (2000) Quantitative Sonographie Der Internist 41, 10-16

BOYER, S.P.; DAVIS, R.O.; KATZ, D.F. (1989)

Automated semen analysis Current Problems in Obstetrics, Gynecology, and Fertility 12, 167-200

BOZZOLA, J.J.; POLAKOSKI, K.; HAAS, N.; RUSSELL, L.D.; CAMPBELL, P.; PETERSON, R.N. (1991)

Localization of boar sperm proacrosin during spermatogenesis and during sperm maturation in the epididymis American Journal of Anatomy 192, 129-141

BRASS, K.E. (1987)

Die Sonographie in der andrologischen Untersuchung bei verschiedenen Haussäugetierarten

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

BUSCH, W. (1963)

Veränderungen am Hoden von 2 Ebern infolge Samenstauung (Bildbericht) Mh. Vet. Med. 18, 155

BUSCH, W. (2001)

Andrologie beim Bullen; Pathologie der Hoden, Nebenhoden und des Skrotums

In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.)

Veterinärmedizinische Andrologie

Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, 199-212

CAMERON, R.D.A.; BLACKSHAW, A.W. (1980)

The effect of elevated ambient temperature on spermatogenesis in the boar Journal of Reproduction and Fertility 59, 173-179

CARTEE, R.E.; POWE, T.A.; GRAY, B.W.; HUDSON, R.S.; KUHLERS, D.L. (1986) Ultrasonographic evaluation of normal boar testicles American Journal of Veterinary Research 47, 2543-2548

 CARTEE, R.E.; GRAY, B.W.; POWE, T.A.; HUDSON, R.S.; WHITESIDES, J. (1989)
 Preliminary implications of B-mode ultrasonography of the testicles of beef bulls with normal breeding soundness examinations
 Theriogenology 31, 1149-1157

CARTEE, R.E.; RUMPH, P.F.; ABUZAID, F.; CARSON, R. (1990) Ultrasonographic examination and measurement of ram testicles Theriogenology 33, 867-875

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 CHANG, K.; KURTZ, H.J.; MIROCHA, C.J. (1979)

Effects of the mycotoxin zearalenone on swine reproduction American Journal of Veterinary Research 40, 1260-1267

CHRISTENSEN, C.M.; MIROCHA, C.J.; NELSON, G.H.; QUAST, J.F. (1972)

Effect on young swine of consumption of rations containing corn invaded by *Fusarium roseum* Applied Microbiology 23, 202

CLARK, S.G.; SCHAEFFER, D.J.; ALTHOUSE, G.C. (2003)

B-mode ultrasonographic evaluation of paired testicular diameter of mature boars in relation to average total sperm numbers Theriogenology 60, 1011-1023

CLULOW, J.; JONES, R.C.; HANSEN, L.A.; MAN, S.Y. (1998)

Fluid and electrolyte reabsorption in the ductuli efferentes testis Journal of Reproduction and Fertility, Supplement 53, 1-14

COOPER, T.G.; YEUNG, C.-H. (2003)

Acquisition of volume regulatory response of sperm upon maturation in the epididymis and the role of the cytoplasmic droplet Microscopy Research and Technique 61, 28-38

COOPER, T.G. (2007)

Sperm maturation in the epididymis: a new look at an old problem (review) Asian Journal of Andrology 9, 533-539

CRABO, B.G. (1997)

Reproductive examination and evaluation of the boar In: YOUNGQUIST, R.S. (Hrsg.) Current Therapy in Large Animal Theriogenology W.B. Saunders & Co., Philadelphia, PA, 664-670 DACHEUX, F.; OBLE, S.; VENIEN, A.; DACHEUX, J.-L. (1992)

Purification and localization of a 27 kDa epididymal glycoprotein of the boar sperm surface

In: BACETTI, B. (Hrsg.)

Comparative spermatology 20 years after

Raven Press, New York, 465-469

DACHEUX, J.-L.; DACHEUX, F. (2002)

Protein secretion in the epididymis In: ROBAIRE, B.; HINTON, B.T. (Hrsg.) The epididymis: from molecules to clinical practice: A comprehensive survey of the efferent ducts, epididymis and the vas deferens Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 151-168

DACHEUX, J.-L.; GATTI, J.L.; DACHEUX, F. (2003)

Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation Microscopy Research and Technique 61, 7-17

DACHEUX, J.-L.; CASTELLA, S.; GATTI, J.L.; DACHEUX, F. (2005)

Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation

Theriogenology 63, 319-341

DÄNICKE, S.; BRÜSSOW, K.-P.; GOYARTS, T.; VALENTA, H.; UEBERSCHÄR, K.-H.; TIEMANN, U. (2007)

On the transfer of the *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) from the sow to the full-term piglet during the last third of gestation

Food and Chemical Toxicology 45, 1565-1574

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

Quantitative Auswerteverfahren in der B-Bild- und Farbdopplersonographie Ultraschall in Klinik und Praxis 10, 50-61

DIDION, B.A.

Computer-assisted semen analysis and its utility for profiling boar semen samples

Theriogenology 70, 1374-1376

DIEKMAN, M.A.; GREEN, M.L. (1992)

Mycotoxins and reproduction in domestic livestock Journal of Animal Science 70, 1615-1627

DIXON, W.J. (1993)

BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2 University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London

DOBRINSKY, W.; KREMER, H. (1982)

- Physikalische und technische Grundlagen des Impuls-Echo-Verfahrens
- Verschiedene Arten von B-Bild-Geräten und einige ihrer technischen Eigenschaften
 In: KREMER, H. (Hrsg.)
 Sonographische Diagnostik innerer Erkrankungen
 Verlag Urban & Schwarzenberg, 1-26

DRUART, X.; GATTI, J.-L.; HUET, S.; DACHEUX, J.-L.; HUMBLOT, P. (2009)

Hypotonic resistance of boar spermatozoa: sperm subpopulations and relationship with epididymal maturation and fertility Reproduction 137, 205-213

EBERSPÄCHER, J. (1991)

Ultraschall in der bildgebenden Diagnostik Der Praktische Tierarzt 9, 739-744

EIDNER, M. (1971)

Ergebnisse des Besamungsebergesundheitsdienstes im Bezirk Gera Mh. Vet. Med. 26, 415-424

EILTS, B.E.; PECHMANN, R.D. (1988)

B-mode ultrasound observations of bull testes during breeding soundness examinations

Theriogenology 30, 1169-1175

EILTS, B.E.; PECHMANN, R.D.; TAYLOR, H.W.; USENIK, E.A. (1989)

Ultrasonographic evaluation of induced testicular lesions in male goats American Journal of Veterinary Research 50, 1361-1364

ESBENSHADE, K.L.; SINGLETON, W.L.; CLEGG, E.D.; JONES, H.W. (1979)

Effect of housing management on reproductive development and performance of young boars Journal of Animal Science 48, 246-250

ETIENNE, M.; JEMMALI, M. (1982)

Effects of zearalenone (F2) on estrous activity and reproduction in gilts Journal of Animal Science 55, 1-10

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

FEIBER, H.; NAUTH, P.; GACA, A.; LOCH, E.G.; WENDEROTH, U.K. (1984) Prostatasonographie: Computergestützte Bildanalyse Ultraschalldiagnostik 84, 146-147

FENT, R.W.; WETTEMANN, R.P.; JOHNSON, R.K. (1983)
 Breed and heterosis effect on testicular development and endocrine function of puberal boars
 Journal of Animal Science 57, 425-432

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

FLOWERS, W.L. (1997)

Management of boars for efficient semen production Journal of Reproduction and Fertility Supplement 52, 67-78

FOXCROFT, G.R.; DYCK, M.K.; RUIZ-SANCHEZ, A.; NOVAK, S.; DIXON, W.T. (2008)

Identifying useable semen Theriogenology 70, 1324-1336

GADEA, J.; MATÁS, C.; LUCAS, X. (1998)

Prediction of porcine semen fertility by homologous in vitro penetration (hIVP) assay

Animal Reproduction Science 56, 95-108

GADEA, J.; MATÁS, C. (2000)

Sperm factors related to the in vitro penetration of porcine oocytes Theriogenology 54, 1343-1357

GADEA, J. (2005)

Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility Theriogenology 63, 431-444 GÄRTNER, T.; ZACHARIAS, M.; JENDERKA, K.V.; HEYNEMANN, H.; COBET, U.

(1998)

Geräteunabhängige Ultraschall-Gewebecharakterisierung von Hoden und Prostata

Der Radiologe 38, 424-433

GARRA, B.S.; KRASNER, B.H.; HORII, S.C.; ASCHER, S.; MUN, S.K.; ZEMAN, R.K. (1993)

Improving the distinction between benign and malignant breast lesions: the value of sonographic texture analysis Ultrasonic Imaging 15, 267-285

GASSE, H. (1999)

Männliche Geschlechtsorgane In: NICKEL, SCHUMMER, SEIFERLE (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere, Band III, Eingeweide Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 8. Auflage, 341-373

GAUS, J.; WEITZE, K.-F. (1984)

Vergleich verschiedener am lebenden Eber und nach Kastration erhobener Hodenmaße Zuchthygiene 19, 164-168

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 GEBEL, M.J. (2000)

Neue Modifikationen und Verfahren der Sonographie und ihre praktische Bedeutung

Der Internist 41, 3-9

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

GERTSCH, U. (1997)

Bildanalytische Untersuchungen zur Bestimmung der Ödematisierung des Uterus bei der Stute

Universität Bern, Veterinärmedizinische Fakultät; Diss.

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

GHETIE, V. (1939)

Präparation und Länge des Ductus epididymidis beim Pferd und Schwein Anatomischer Anzeiger 87, 369-374

GINTHER, O.J. (1986)

Principles (Part one) In: GINTHER O.J. (Hrsg.) Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare Verlag Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin, USA, 1-65

GINTHER, O.J. (1995)

Ultrasonic imaging and animal reproduction: Fundamentals, Book 1 Verlag Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin, USA GLADISCH, R. (1992)

Einführung in die sonographische Diagnostik In: GLADISCH, R. (Hrsg.) Praxis der abdominellen Ultraschalldiagnostik Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, Aufl. 2, 2-21

GLADISCH, R. (1993)

Einführung in die sonographische Diagnostik

Tierärztliche Praxis, Sonderheft, 3-19

GOLDBERG, V.; MANDUCA, A.; EWERT, D.L.; GISVOLD, J.J.; GREENLEAF, J.F. (1992)

Improvement in specificity of ultrasonography for diagnosis of breast tumors by means of artificial intelligence Medical Physics 19, 1475-1481

GOULETSOU, P.G.; AMIRIDIS, G.S.; CRIPPS, P.J.; LAINAS, T.; DELIGIANNIS, K.; SARATSIS, P.; FTHENAKIS, G.C. (2003)

Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams

Theriogenology 59, 1959-1972

GRAUE, I. (2002)

Computergestützte Graustufenanalyse sonographischer Befunde des Hodengewebes beim Bullen Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

HAHN, J.; FOOTE, R.H.; CRANCH, E.T. (1969)

Tonometer for measuring testicular consistency of bulls to predict semen quality

Journal of Animal Science 29, 483-489

HAMM, B.; FOBBE, F. (1995)

Maturation of the testis: Ultrasound evaluation Ultrasound in Medicine and Biology 21, 143-147 HANSEN, C.; VERMEIDEN, T.; VERMEIDEN, J.P.W.; SIMMET, C.; DAY, B.C.; FEITSMA, H. (2006)

Comparison of FACSCount AF System, Improved Neubauer hemocytometer, Corning 254 photometer, SpermVision, UltiMate and NucleoCounter SP-100 for determination of sperm concentration of boar semen

Theriogenology 66, 2188-2194

HARDOUIN, I.; LIEBACK, E.; HETZER, R. (1994)

Klassifikationsverfahren zur Abstoßungsdiagnostik in echokardiographischen Bildern

Biomedizinische Technik 39, 32-35

HEIDRICH, H.J.; ROHLOFF, D.; JAKUBOWSKI, H. (1968)

Orientierende histometrische Untersuchungen an Hoden von Ebern verschiedenen Alters und Gewichts Zuchthygiene 3, 79-83

HERMES, R. (1998)

Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (Capreolus capreolus) und Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause mittels computergestützter Graustufenanalyse Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

HERMO, L.; KRZECZUNOWICZ, D.; RUZ, R. (2004)

Cell specifity of aquaporins 0, 3 and 10 expressed in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats Journal of Andrology 25, 494-505

HERRING, D.S.; BJORNTON, G. (1985)

Physics, facts and artifacts of diagnostic ultrasound
In: HERRING, D.S. (Hrsg.)
Symposium on diagnostic ultrasound
Veterinary Clinics of North America; Small Animal Practice 15, 1107-1122

HESS, R.A.; BUNICK, D.; LEE, K.H.; BAHR, J.; TAYLOR, J.A., KORACH, K.S.; LUBAHN, D.B. (1997)

A role for oestrogens in the male reproductive system Nature 390, 509-512

HIRAI, M.; BOERSMA, A.; HOEFLICH, A.; WOLF, E.; FÖLL, J.; AUMÜLLER, T.J.; BRAUN, J. (2001)

Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (Sus scrofa): Relation to fertility and seminal plasma growth factors Journal of Andrology 22, 104-110

HIRNING, T.; ZUNA, I.; SCHLAPS, D.; LORENZ, D.; MEYBIER, H.; TSCHAHARGANE, C.; VAN KAICK, G. (1989)

Quantification and classification of echographic findings in the thyroid gland by computerized B-mode texture analysis European Journal of Radiology 9, 244-247

HÖHNE, K. (2002)

Ultrasonographische Untersuchung von Hoden und Prostata des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Graustufenanalyse Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

HOFFMANN, B. (1993)

Samenbeurteilung In: HOFFMANN, B. (Hrsg.) Andrologie Lehmanns Media Verlag, S. 19-28

HOFFMANN, H. (1980)

Gewährschaftsuntersuchung auf Zuchttauglichkeit bei Jungebern in Bayern von 1974 – 1979 Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 87, 466-468 HOLT, C.; HOLT, W.V.; MOORE, H.D.; REED, H.C.B.; CURNOCK, R.M. (1997)
 Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on farm inseminations: results of two fertility trials
 Journal of Andrology 18, 312-323

HÜHN, U. (1970)

Hoden- und Samencharakteristika männlicher Schweine in Abhängigkeit von Jugendentwicklung und Vererbung Fortpflanzung der Haustiere 6, 350-364

HUNTER, R.H.F.; HOLTZ, W.; HENFREY, P.J. (1976)

Epididymal function in the boar in relation to the fertilizing ability of spermatozoa Journal of Reproduction and Fertility 46, 463-466

HURTGEN, J.P. (1984)

Reproductive examination of the boar Manual for the society for theriogenology 1-48

ILIO, K.Y.; HESS, R.A. (1992)

Localization and activity of the Na+ - K+ -ATPase in the ductuli efferentes of the rat

The Anatomical Record 234, 190-200

ILIO, K.Y.; HESS, R.A. (1994)

Structure and function of the ductuli efferentes Microscopy Research and Technique 29, 432-467

JAMES, L.J.; SMITH, T.K. (1982)

Effect of dietary alfalfa on zearalenone toxicity and metabolism in rats and swine

Journal of Animal Science 55, 110

JANTOSOVICOVÁ, J.; JANTOSOVIC, J. (1980)

Topographic-anatomical data on the arteria testicularis, arteria ductus deferentis and arteria cremasterica in the boar

Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch 126, 756-65

JEYENDRAN, R.S.; VAN DER VEN, H.H.; PEREZ-PELAEZ, M.; CRABO, B.; ZANEVELD, L.J. (1984)

Development of an assay to assess the functional integrity of human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics Journal of Reproduction and Fertility 70, 219-228

JOSEPH, P.G.; MAHENDRANATHAN, T.; ANWAR, M. (1976) Pseudomonas pseudomallei orchitis in a boar

Zentralblatt der Veterinärmedizin B 21, 152-158

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

KAUFFOLD, J.; ALTHOUSE, G.C. (2007)

An update on the use of B-mode ultrasonography in female pig reproduction Theriogenology 67, 901-911

KAWANA, T.; SAKAKIBARA, T. (1997)

Relationship of male genital organ measurements to body size, meat performance and heredity at 90 kg live weight in swine Japanese Journal of Swine Science 34, 93-98

KIEFER, J.; KIEFER, I. (2003)

Allgemeine Radiologie Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin und Wien, 11-13 KO, J.C.H.; EVANS, L.E.; ALTHOUSE, G.C. (1989) Toxicity effects of latex gloves on boar spermatozoa Theriogenology 31, 1159-1164

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.; WEBER, W.; KUPFERSCHMIED, H. (1972)

Zur Nebenhodenaplasie beim Stier und Eber; b) Auftreten der Anomalie bei einem Eber und seinen drei Söhnen Schweizer Archiv für Tierheilkunde 114, 73-82

KORDIC, B.; PRIBICEVIC, S.; MUNTANOLA-CVETKOVIC, M.; NICOLIC, P.; NICOLIC, B. (1992)

Experimental studies of the effects of known quantities of zearalenone on swine reproduction

Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology 11, 53-55

KRAMER, M. (2004)

Ultraschall In: KRAMER, M. (Hrsg.) Kompendium der Allgemeinen Veterinärchirurgie Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG, Hannover, 100-109

KRAUSE, D.; RATH, D. (1987)

Untersuchungen zur Anwendbarkeit der Sonographie in der veterinärandrologischen Diagnostik Andrologia 19, 247-255

KRETZSCHMAR, J. (2004)

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

München, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztliche Fakultät, Diss.

KRÖLLING, O. (1960)

Die ableitenden Samenwege (Männlicher Samenweg) In: KRÖLLING, O.; GRAU, H. (Hrsg.) Lehrbuch der Histologie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere, 10. Auflage Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 326-344

KUCHLING, H. (1972)

Wellenoptik In: KUCHLING, H. (Hrsg.) Physik VEB Buchverlag Leipzig, Aufl. 9, 231-238

KURTZ, H.J.; NAIRN, M.E.; NELSON, G.H.; CHRISTENSEN, C.M.; MIROCHA, C.J. (1969)

Histological changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin American Journal of Veterinary Research 30, 551

LEFEBVRE, F.; MEUNIER, M.; THIBAULT, F.; LAUGIER, P.; BERGER, G. (2000) Computerized ultrasound B-scan characterization of breast nodules Ultrasound in Medicine and Biology 26, 1421-1428

LELLMANN, C.; LEIDING, C.; RATH, D.; STAEHR, B. (2008)

Effects of automated collection methods on semen quality and economic efficiency of boar semen production Theriogenology 70, 1389

LEUNG, M.L.; GOODING, G.A.W.; WILLIAMS, R.D. (1984)

High resolution sonography of scrotal contents in asymptomatic subjects American Journal of Reproduction 143, 161-164

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

Ultrasonographische Diagnostik der Myokarditis mittels quantitativer Texturanalyse von zweidimensionalen Echokardiographiebildern Zeitschrift der gesamten Inneren Medizin 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-, Gefäß- und Thoraxchirurgie 5, 207-214

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. (1998)

Männliche Geschlechtsorgane In: LIEBICH, H.-G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, Aufl. 3, 262-283 LONG, G.G.; DIEKMAN, M.A. (1984)

Effect of purified zearalenone on early gestation in gilts Journal of Animal Science 59, 1662-1670

```
LONG, G.G.; DIEKMAN, M.A.; TUITE, J.F.; SHANNON, C.M.; VESONDER, R.F. (1982)
```

Effect of *Fusarium roseum* corn culture containing zearalenone on early pregnancy in swine American Journal of Veterinary Research 43, 1599

LORBER, K. (1999)

Ultrasonographische Gewebetexturanalyse des equinen Endometriums mit Hilfe einer computergestützten Graustufenanalyse Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

LORENZ, A. (1997)

Physikalische Grundlagen, technische Grundlagen und Artefakte In: MERZ, E. (Hrsg.) Sonographische Diagnostik in Gynäkologie und Geburtshilfe Thieme Verlag, New York und Stuttgart, 3-24

LORENZ, A.; DELORME, S. (2001)

B-Bild-Sonographie Der Urologe B 41, 168-181

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

LOVE, C.C. (1992)

Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and spermatic cord of the stallion

The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 8, 167-182

```
MAHONE, J.P.; BERGER, T.; CLEGG, E.D.; SINGLETON, W.L. (1979)
```

Photoinduction of puberty in boars during naturally occurring short day lengths

Journal of Animal Science 48, 1159-1164

McNITT, J.I.; FIRST, N.L. (1970)

Effects of 72-hour heat stress on semen quality in boars International Journal of Biometeorology 14, 373-380

McNUTT, S.H.; PURWIN, P.; MURRAY, C. (1928)

Vulvovaginitis in swine Journal of the American Veterinary Medical Association 73, 484

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 Ultrasound Imaging 8, 227-240

MIEUSSET, R.; BUJAN, L.; MASSAT, G.; MANSAT, A.; PONTONNIER, F. (1995) Clinical and biological characteristics of infertile men with a history of cryptorchidism Human Reproduction 10, 613-619

MIKAMI, H.; FREDEEN, H.T. (1979)

A genetic study of cryptorchidism and scrotal hernia in pigs Canadian Journal of Genetics and Cytology 21, 9-19

MILLER, J.K.; HACKING, A.; GROSS, V.J. (1973)

Stillbirths, neonatal mortality and small litters in pigs associated with the ingestion of *Fusarium* toxin by pregnant sows The Veterinary Record 93, 555

MORRIS, D.T. (1988)

An evaluation of the use of texture measurements for the tissue characterization of ultrasonic images of in vivo human placentae Ultrasound in Medicine and Biology 14, 387-395

MUDRA, K. (1991)

Künstliche Besamung beim Schwein In: BUSCH, W.; LÖHLE, K.; PETER, W. (Hrsg.) Künstliche Besamung bei Nutztieren Gustav Fischer Verlag, Jena, 2. Auflage, 491-519

MÜLLER, E.; BRANDL, G. (1978)

Untersuchungen über Beurteilung der kolorimetrisch und mit der Zählkammer ermittelten Werte für die Samendichte bei verschiedenen Stieren

Wiener Tierärztliche Monatsschrift 65, 211

MÜLLER, M.J.; LORENZ, D.; ZUNA, I.; LORENZ, W.-J.; VAN KAICK, G. (1989)

Die Wertigkeit der computergestützten sonographischen Gewebscharakterisierung bei fokalen Läsionen der Schilddrüse Der Radiologe 29, 132-136

MÜLLER-GÄRTNER, H.-W. (1986)

Grauwerthistogrammanalyse in der Schilddrüsensonographie: Kritik an der visuellen Beurteilung der Echogenität

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

MUNDEN, M.M.; TRAUTWEIN, L.M. (2000)

Scrotal pathology in pediatrics with sonographic imaging Current Problems in Diagnostic Radiology 29, 181-205

NELSON, G.H.; CHRISTENSEN, C.M.; MIROCHA, C.J. (1973) *Fusarium* and estrogenism in swine Journal of the American Veterinary Medical Association 163, 1276

OLIVEIRA, C.A.; CARNES, K.; FRANCA, L.R.; HERMO, L.; HESS, R.A. (2005) Aquaporin-1 and -9 are differentially regulated by oestrogen in the efferent ductule epithelium and initial segment of the epididymis Biology of the Cell 97, 385-395

ORGEBIN-CRIST, M.C.; DANZO, B.J.; DAVIES, J. (1975)

Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis In: HAMILTON, D.W.; GREEP, R.O. (Hrsg.) Handbook of Physiology, Sect. 7, Vol. 5, Male Reproductive System American Physiological Society, Washington D.C., 319-338

ORGEBIN-CRIST, M.C.; JAHAD, N.; HOFFMAN, L.H. (1976)

The effects of testosterone, 5α -dihydrotestosterone, 3α -androstanediol, and 3β -androstanediol on the maturation of rabbit epididymal spermatozoa in organ culture

Cell Tissue Research 167, 515-525

PALYUSIK, M. (1977)

Effect of zearalenone *Fusarium* toxin on the prostate gland of swine Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae 24, 104

PECHMANN, R.D.; EILTS, B.E. (1987)

B-mode ultrasonography of the bull testicle Theriogenology 27, 431-441 PÉREZ-LLANO, B.; LORENZO, J.L.; YENES, P.; TREJO, A.; GARCIA-CASADO, P. (2001)

A short hypoosmotic swelling test for prediction of boar sperm fertility Theriogenology 56, 387-398

PETER, A.T.; JAKOVLJEVIC, S. (1992)

Real-time ultrasonography of the small animal reproductive organs Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 14, 739-746

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

PINART, E.; SANCHO, S.; BRIZ, M.D.; BONET, S.; GARCIA, N.; BADIA, E. (2000) Ultrastructural study of the boar seminiferous epithelium: changes in cryptorchidism Journal of Morphology 244, 190-202

POULSEN NAUTRUP, C. (1996)

Allgemeiner Teil In: POULSEN NAUTRUP, C.; TOBIAS, R. (Hrsg.) Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG, Hannover, S. 273-282

PRUNEDA, A.; YEUNG, C.-H.; BONET, S.; PINART, E.; COOPER, T.G. (2007) Concentrations of carnitine, glutamate and myo-inositol in epididymal fluid and spermatozoa from boars Animal Reproduction Science 97, 344-355 PUGH, C.R.; KONDE, L.J. (1990)

Testicular ultrasound in the normal dog Veterinary Radiology & Ultrasound 31, 195-199

```
QUINTERO-MORENO, A.; RIGAU, T.; RODRÍGUEZ-GIL, J.E. (2004)
```

Regression analyses and motile sperm subpopulation structure study as improving tools in boar semen quality analysis Theriogenology 61, 673-690

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

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

RATH, D.; WEITZE, K.-F.; GAUS, J. (1986 a)

Darstellung der Geschlechtsorgane eines Bullen mittels Sonographie im Rahmen einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 93, 364-366

RATH, D.; WEITZE, K.-F.; MARRÉ, H. (1986 b)

Ultraschalldiagnostik – ein modernes Hilfsmittel zur Objektivierung der andrologischen Untersuchung Rinderproduktion 81, 24-25

RICKER, D.D. (1998)

The autonomic innervation of the epididymis: its effects on epididymal function and fertility Journal of Andrology 19, 1-4

ROBAIRE, B.; HERMO, L. (1988)

Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, function and their regulation In: KNOBIL, E.; NEIL, J. (Hrsg.) The Physiology of Reproduction

Raven Press, New York, 999-1080

ROBAIRE, B.; VIGER, R.S. (1995)

Regulation of epididymal epithelial cell functions Biology of Reproduction 52, 226-236

RÖMER, A. (2006)

Bewertung quantitativer sonografischer Gewebetypisierung und Längenbestimmung der Cervix uteri als neuer Prädiktor für Cervixinsuffizienz und Frühgeburtlichkeit Marburg, Philipps-Universität, Fachbereich Medizin, Diss.

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

RUHR, L.P.; OSWEILER, G.D.; FOLEY, C.W. (1983)

Effect of the estrogenic mycotoxin zearalenone on reproductive potential in the boar

American Journal of Veterinary Research 44, 483-485

SCHELTEN, A. (1997)

Maße der zentralen Tendenz In: SCHELTEN, A. (Hrsg.) Testbeurteilung und Testerstellung Franz Steiner Verlag Stuttgart, 2. Ausgabe, 20-31

SCHILLING, E.; VENGUST, M. (1985)

Bestimmung der osmotischen Resistenz von Eberspermien und deren Beziehungen zur Konservierungsfähigkeit von Samenproben Zuchthygiene 20, 61-78

SCHILLING, E.; VENGUST, M.; BAJT, G.; TOMCIC, M. (1986)

The osmotic resistance test (ORT) of boar spermatozoa and the relation to pregnancy rate and litter size In: Proceedings of the Ninth IPVS Congress Barcelona, S. 77

SCHINCKEL, A.; JOHNSON, R.K.; PUMFREY, R.A.; ZIMMERMAN, D.R. (1983)

Testicular growth in boars of different genetic lines and its relationship to reproductive performance

Journal of Animal Science 56, 1065-1076

SCHMAUDER, S. (2003)

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

München, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztliche Fakultät, Diss.

SCHNURRBUSCH, U. (2001)

Andrologie beim Eber; Pathologie der Hoden und Nebenhoden In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Andrologie Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, S. 320-334

SCHULZE, W.; BICKHARDT, K. (1965)

Zur Erkennung und Behandlung des Kryptorchismus beim Schwein Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 72, 436-442 SETCHELL, B.P.; SANCHEZ-PARTIDA, L.G.; CHAIRUSSYUHUR, A. (1993) Epididymal constituents and related substances in the storage of spermatozoa: a review Reproduction and Fertility 5, 601-612

SHIPLEY, C.F. (1999)

Breeding soundness examination of the boar Journal of Swine Health and Production 7, 117-120

SHORE, M.D.; BRETZLAFF, K.N.; THOMPSON, J.A.; MAGEE, D.D. (1995) Outcome of scrotal hydrocele in 26 bulls Journal of the American Veterinary Medical Association 207, 757-60

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

STEIN, J.; MARTIN, C. (2004)

Physikalisch-technische Grundlagen In: SCHMIDT, G. (Hrsg.) Ultraschall-Kursbuch, 4. Aufl. Thieme Verlag, New York und Stuttgart, 13-19 STEMPFLE, H.U.; KRAML, P.; SCHÜTZ, A.; DREWELL, R.; KEMKES, B.M.;

THEISEN, K.; ANGERMANN, C.E. (1994)

Echokardiographische Texturanalyse zur Erkennung akuter kardialer Abstoßungen Zeitschrift für Kardiologie 83, 562-570

STOB, M.; BALDWIN, R.S.; TUITE, J.; ANDREWS, F.N.; GILLETTE, K.B. (1962) Isolation of an anabolic uterotropic compound from corn infected with *Gibberella zeae* Nature 196, 1318

STOFFEL, M.H.; KOHLER, T.; FRIESS, A.E.; ZIMMERMANN, W. (1990) Microvasculature in the epididymis of the boar Cell Tissue Research 259, 495-501

STOFFEL, M.H.; FRIESS, A.E. (1994)

Morphological characteristics of boar efferent ductules and epididymal duct Microscopy Research and Technique 29, 411-431

STÜTZEL, K. (1994)

Instrument und physikalische Grundlagen In: STÜTZEL, K. (Hrsg.) Abdominelle Sonographie bei Hund und Katze Verlag Medicus-Partner, Budapest, 12-33

SUTKEVICIENE, N.; ANDERSSON, M. A.; ZILINSKAS, H.; ANDERSSON, M. (2005) Assessment of boar semen quality in relation to fertility with special reference to methanol stress Theriogenology 63, 739-747 SYNTIN, P.; DACHEUX, F.; DRUART, X.; GATTI, J.L.; OKAMURA, N.; DACHEUX,

J.L. (1996)

Characterization and identification of proteins secreted in the various regions of the adult boar epididymis Biology of Reproduction 55, 956-974

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

Quantitative sonographische Gewebetypisierung der Zervix uteri – ein neuer Prädiktor der Frühgeburtlichkeit?

Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 206, 88-93

THURSTON, L.M.; WATSON, P.F.; HOLT, W.V. (1999)

Sources of variation in the morphological characteristics of sperm subpopulations assessed objectively by a novel automated sperm morphology analysis system Journal of Reproduction and Fertility 117, 271-280

TIEMANN, U.; DÄNICKE, S. (2007)

In vivo and in vitro effects of the mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol on different non-reproductive and reproductive organs in female pigs: a review

Food Additives and Contaminants 24, 306-314

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
TRUDEAU, V.; SANFORD, L.M. (1986)

Effect of season and social environment on testis size and semen quality of the adult landrace boar

Journal of Animal Science 63, 1211-1219

TURNER, T.T.; GLEAVY, J.L.; HARRIS, J.M. (1990)

Fluid movement in the lumen of the rat epididymis: effect of vasectomy and subsequent vasovasostomy Journal of Andrology 11, 422-428

USSELMAN, M.C.; CONE, R.A. (1983)

Rat sperm are mechanically immobilized in the cauda epididymidis by "immobilin", a high molecular weight glycoprotein Biology of Reproduction 29, 1241-1253

VANYI, A.; SZEKY, A. (1980)

Fusariotoxicoses:

6. The effect of F-2 toxin (zearalenone) on the spermatogenesis of male swine

Magyar Állatorvosok Lapja 35, 242

VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A.; MARTINEZ, P.; GARCIA-ARTIGA, C.; ROCA, J. (1997)

Hypoosmotic swelling of boar spermatozoa compared to other methods for analysing the sperm membrane

Theriogenology 47, 913-922

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. (2002)

Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice

Theriogenology 57, 149-179

VON DEM BUSSCHE-HÜNNEFELD, B. (2007)

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

Leipzig, Universität, Veterinärmedizinische Fakultät, Diss.

WEITZE, K.-F. (2001a)

Prinzipien der andrologischen Untersuchung In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Andrologie Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, 83-86

WEITZE, K.-F. (2001b)

Spermatologische Untersuchung In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Andrologie Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, 87-109

WEITZE, K.-F. (2001c)

Andrologie beim Eber In: BUSCH, W.; HOLZMANN, A. (Hrsg.) Veterinärmedizinische Andrologie Schattauer Verlag, New York und Stuttgart, 267-277

WELCHMAN, D.; GILES, N.; GAVIER-WIDEN, D.; DONE, S.H.; BAIRD, F.;

GLOSSOP, C.E. (1999)

Swollen testicles (orchitis) in boars: an investigation into the presence of fast acid organisms The Pig Journal 44, 144-157

WETTEMANN, R.P.; WELLS, M.E.; OMTVEDT, I.T.; POPE, C.E.; TURMAN, E.J. (1976)

Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars

Journal of Animal Science 42, 664-669

WEVER, N.D.B.; 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

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

WISCHNICK, A.; STÖCKLEIN, R.; WERNER, T. (1999)

Zur Beurteilung der graviden Cervix uteri im Sonogramm mittels computergestützter Texturanalyse Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie 203, 115-119

WROBEL, K.-H.; FALLENBACHER, E. (1974a)

Histologische und histochemische Untersuchungen am Nebenhodenepithel erwachsener Eber Zuchthurgione 0, 20, 21

Zuchthygiene 9, 20-31

WROBEL, K.-H.; FALLENBACHER, E. (1974b)

Histologische und histochemische Untersuchungen zur postnatalen Ontogenese des Nebenhodens beim Schwein Anatomie, Histologie, Embryologie 3, 85-99 WYSTUB, T.; BRANSCHEID, W.; PAUFLER, S. (1988a)

Rasterelektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen des Oberflächenepithels von Rete testis und Nebenhoden beim Eber I. Rete testis und Ductuli efferentes Deutsche tierärztliche Wochenschrift 96, 384-389

WYSTUB, T.; BRANSCHEID, W.; PAUFLER, S. (1988b)

Rasterelektronen- und lichtmikroskopische Untersuchungen des Oberflächenepithels von Rete testis und Nebenhoden beim Eber II. Ductus epididymidis Deutsche tierärztliche Wochenschrift 96, 452-459

YANG, H.-H.; AULERICH, R.J.; HELFERICH, W.; YAMINI, B.; CHOU, K.C.; MILLER, E.R.; BURSIAN, S.J. (1995)

Effects of zearalenone and tamoxifen on swine and mink reproduction Journal of Applied Toxicology 15, 223-232

YEUNG, C.-H.; COOPER, T.G.; OBERPENNING, F.; SCHULZE, H.; NIESCHLAG, E. (1993)

Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis Biology of Reproduction 49, 274-280

YEUNG, C.-H.; SONNENBERG-RIETHMACHER, E.; COOPER, T.G. (1999)

Infertile spermatozoa of c-ros tyrosine kinase knockout mice show flagellar angulation and maturational defects in cell volume regulatory mechanisms Biology of Reproduction 61, 1062-1069

YOSHINAGA, K.; TOSHIMORI, K. (2003)

Organization and modifications of sperm acrosomal molecules during spermatogenesis and epididymal maturation Microscopy Research and Technique 61, 39-45 YOUNG, L.G.; KING, G.J. (1986a)

Low concentrations of zearalenone in diets of mature gilts Journal of Animal Science 63, 1191-1196

YOUNG, L.G.; KING, G.J. (1986b)

Low concentrations of zearalenone in diets of boars for a prolonged period of time

Journal of Animal Science 63, 1197-1200

YOUNG, L.G.; VESONDER, R.F.; FUNNELL, H.S.; SIMMONS, I.; WILCOCK, B. (1981)

Moldy corn in diets of swine Journal of Animal Science 52, 1312

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

ZOU, C.-X.; YANG, Z.-M. (2000)

Evaluation on sperm quality of freshly ejaculated boar semen during in vitro storage under different temperatures Theriogenology 53, 1477-1488

ZUNA, I. (1991)

Aktueller Stand der sonographischen Gewebeklassifizierung Jahrbuch der Radiologie, 135-144

9 TABELLENANHANG

Tabelle 20:	Klinische Parameter nach	Einzeltier und	Untersuchungszeitpunkt
-------------	--------------------------	----------------	------------------------

	Woche	КТ	KGW	SSL
	1	38,9	170	167
	2	38,4	176	167
Eber-Nr 20	3	38,6	183	172
	4	38,3	192	172
	5	38,3	192	173
	6	38,3	202	177
	1	38,7	165	165
	2	38,5	171	166
Eber-Nr 25	3	38,2	174	166
	4	38,6	183	168
	5	38,2	184	168
	6	38,5	191	170
	1	38,6	167	161
	2	38,1	170	164
Fber-Nr 77	3	38,5	179	166
	4	38,6	189	169
	5	38,7	191	172
	6	38,6	196	173
	1	38,6	160	161
	2	38,6	163	165
Fber-Nr 81	3	38,4	170	165
	4	38,5	178	167
	5	38,5	178	168
	6	38,4	188	169

	1	38,9	163	158
Fber-Nr. 97	2	38,5	166	158
	3	38,5	170	158
	4	38,5	181	160
	5	38,7	186	161
	6	38,4	191	165
	1	38,0	151	154
	2	38,3	153	155
Eber-Nr 11	3	38,3	159	157
	4	38,0	168	157
	5	38,6	170	158
	6	38,5	177	163
Ebor Nr. 44	1	39,0	175	167
	2	38,2	179	167
	3	38,5	185	170
	4	38,5	195	170
	5	38,5	197	175
	6	38,4	206	175
	1	38,2	181	173
	2	38,2	187	173
Ebor-Nr 12	3	38,3	194	175
	4	38,3	202	177
	5	38,3	209	177
	6	38,5	214	180
	1	38,5	164	159
	2	38,0	168	165
Fber-Nr 56	3	38,4	178	166
	4	38,7	187	166
	5	38,6	191	171
	6	38,6	196	171

	1	38,8	178	164
	2	38,7	179	171
Eber-Nr 150	3	38,6	183	171
LDer-INT. 150	4	38,5	192	172
	5	38,6	199	175
	6	38,5	203	176

KT: Körpertemperatur in ℃

SSL: Scheitel-Steiß-Länge in cm

KGW: Körpergewicht in kg

Tabelle 21:SpermatologischeParameternachEinzeltierundUntersuchungszeitpunkt(pH-Wert;Ejakulatvolumen;Ejakulatdichte;Spermiengesamtzahl)

	Woche	pH-Wert	Volumen	Dichte	GSZ
	1	7,54	255,00	411,00	104,81
	2	7,40	225,00	435,00	97,88
Ebor-Nr 20	3	7,55	335,00	348,00	116,58
	4	7,49	280,00	381,00	106,68
	5	7,34	170,00	568,00	96,56
	6	7,45	310,00	351,00	108,81
	1	7,53	205,00	360,00	73,80
	2	7,50	215,00	292,00	62,78
Fber-Nr 25	3	7,46	305,00	351,00	107,06
	4	7,23	240,00	317,00	76,08
	5	7,45	128,00	429,00	54,91
	6	7,39	172,00	360,00	61,92
	1	7,46	265,00	331,00	87,72
	2	7,50	140,00	470,00	65,80
Fber-Nr 77	3	7,50	280,00	322,00	90,16
	4	7,41	305,00	332,00	101,26
	5	7,36	350,00	575,00	201,25
	6	7,44	360,00	346,00	124,56
	1	7,54	150,00	489,00	73,35
	2	7,50	130,00	498,00	64,74
Eber-Nr. 81	3	7,65	200,00	329,00	65,80
	4	7,50	121,00	389,00	47,07
	5	7,54	225,00	325,00	73,13
	6	7,53	195,00	328,00	64,00

			100.00	100.00	
	1	7,62	166,00	432,00	71,71
	2	7,50	132,00	449,00	59,27
Eber-Nr. 97	3	7,58	210,00	445,00	93,45
	4	7,25	172,00	404,00	69,49
	5	7,97	170,00	417,00	70,89
	6	7,56	200,00	403,00	80,60
	1	7,56	76,00	594,00	45,14
	2	7,50	115,00	537,00	61,76
Ebor-Nr 11	3	7,38	140,00	505,00	70,70
	4	7,28	112,00	534,00	59,81
	5	7,37	110,00	577,00	63,47
	6	7,50	122,00	534,00	65,15
	1	7,43	152,00	513,00	77,98
	2	7,35	172,00	452,00	77,74
Ebor-Nr 11	3	7,44	174,00	549,00	95,53
	4	7,32	210,00	463,00	97,23
	5	7,45	175,00	547,00	95,73
	6	7,36	175,00	465,00	81,38
	1	7,36	194,00	387,00	75,08
	2	7,45	170,00	387,00	65,79
Ebor-Nr 12	3	7,55	222,00	381,00	84,58
	4	7,48	240,00	328,00	78,72
	5	7,30	200,00	392,00	78,40
	6	7,44	250,00	365,00	91,25
	1	7,48	310,00	317,00	98,27
	2	7,50	246,00	363,00	89,30
Fber-Nr 56	3	7,42	350,00	319,00	111,65
	4	7,51	240,00	422,00	101,28
	5	7,53	300,00	358,00	107,40
	6	7,43	300,00	339,00	101,70

Eber-Nr. 150	1	7,64	270,00	381,00	102,87
	2	7,50	110,00	499,00	54,89
	3	7,61	270,00	360,00	97,20
	4	7,37	220,00	409,00	89,98
	5	7,62	270,00	343,00	92,61
	6	7,60	355,00	288,00	102,24

Volumen: Ejakulatvolumen in ml

GSZ: Spermiengesamtzahl in Milliarden

Dichte: Ejakulatdichte in Millionen Spermien / ml

Tabelle 22:SpermatologischeParameternachEinzeltierundUntersuchungszeitpunkt(Gesamtmotilität;Vorwärtsmotilität;Spermienmit aufgerolltemSchwanz = HOS curled;Spermien ohne aufgerolltenSchwanz = HOS not curled)

	Woche	Total Mot	Prog Mot	HOS c	HOS nc
	1	92,40	83,12	64,50	35,50
	2	91,46	74,39	7,00	93,00
Ebor-Nr 20	3	87,86	72,99	62,00	38,00
	4	88,72	74,81	63,00	37,00
	5	74,48	41,14	38,00	62,00
	6	89,94	77,77	34,50	65,50
	1	90,98	75,68	57,00	43,00
	2	91,04	71,35	45,00	55,00
Eber-Nr 25	3	75,52	60,78	65,00	35,00
	4	91,12	78,73	49,50	50,50
	5	73,89	49,46	49,50	50,50
	6	91,26	79,62	57,50	42,50
	1	91,46	77,96	45,50	54,50
	2	90,52	81,59	15,50	84,50
Fber-Nr 77	3	94,40	74,74	33,50	66,50
	4	93,77	82,94	52,00	48,00
	5	92,18	76,33	33,00	67,00
	6	92,40	81,00	43,50	56,50
	1	96,05	89,63	72,50	27,50
	2	92,87	80,30	51,00	49,00
Eber-Nr 81	3	93,33	85,92	79,00	21,00
	4	94,96	91,04	54,00	46,00
	5	92,28	83,61	74,00	26,00
	6	95,06	84,41	70,50	29,50

Ebor Nr. 07	1	93,72	83,51	44,00	56,00
	2	86,12	59,17	19,00	81,00
	3	93,01	82,79	39,00	61,00
	4	92,80	85,79	30,00	70,00
	5	84,23	64,20	35,50	64,50
	6	91,39	78,13	27,00	73,00
	1	97,64	91,75	69,00	31,00
	2	95,51	86,08	58,50	41,50
Eber-Nr 11	3	95,83	89,46	66,00	34,00
	4	98,24	93,82	69,00	31,00
	5	94,49	83,99	37,00	63,00
	6	96,08	89,55	54,50	45,50
	1	96,04	90,57	56,50	43,50
	2	91,12	73,36	49,50	50,50
Fber-Nr 41	3	89,53	73,42	76,00	24,00
	4	93,56	86,90	65,50	34,50
	5	90,84	79,20	52,50	47,50
	6	95,25	87,12	50,00	50,00
	1	94,11	76,71	36,00	64,00
	2	90,88	73,16	51,50	48,50
Fber-Nr 42	3	93,10	76,67	51,50	48,50
	4	95,95	87,65	61,00	39,00
	5	91,37	76,50	29,00	71,00
	6	95,82	86,61	49,00	51,00
	1	93,64	78,90	73,50	26,50
	2	80,22	68,63	46,50	53,50
Eber-Nr. 56	3	71,67	58,12	61,50	38,50
	4	89,56	81,61	73,00	27,00
	5	91,99	79,35	34,50	65,50
	6	91,16	84,10	32,00	68,00

Eber-Nr. 150	1	95,63	84,54	31,00	69,00
	2	94,41	82,63	51,50	48,50
	3	91,24	75,09	72,00	28,00
	4	92,85	82,22	47,50	52,50
	5	87,88	71,49	38,00	62,00
	6	90,06	71,08	47,50	52,50

Total Mot: Gesamtmotilität in %

Prog Mot: Vorwärtsmotilität in %

HOS c: Spermien mit aufgerolltem (= curled) Schwanz in %

HOS nc: Spermien ohne aufgerollten (= not curled) Schwanz in %

Tabelle 23: Spermatologische Einzeltier Parameter nach und Untersuchungszeitpunkt (Primär pathomorphologisch veränderte Spermien; sekundär pathomorphologisch Spermien; veränderte pathomorphologisch Spermien; Gesamtanteil der veränderten Spermatozoen mit persistierendem Plasmatropfen)

	Woche	Prim Path	Sek Path	Path Ges	PlasmaT
	1	2,00	1,50	3,50	12,00
	2	2,50	1,00	3,50	16,50
Eber-Nr 20	3	5,00	0,00	5,00	10,00
	4	1,00	0,50	1,50	3,00
	5	3,00	1,00	4,00	1,00
	6	2,50	0,00	2,50	0,00
	1	2,50	0,50	3,00	18,50
	2	0,50	0,50	1,00	13,00
Eber-Nr. 25	3	1,00	0,00	1,00	9,00
	4	5,00	0,00	5,00	21,00
	5	2,50	0,00	2,50	18,00
	6	1,50	0,50	2,00	15,00
	1	7,50	1,00	8,50	12,00
	2	1,50	1,50	3,00	21,50
Fber-Nr 77	3	2,50	3,00	5,50	18,50
	4	0,00	2,00	2,00	9,00
	5	4,00	0,50	4,50	13,00
	6	0,50	4,00	4,50	7,00
	1	12,50	4,00	16,50	14,00
	2	0,00	0,00	0,00	22,00
Eber-Nr. 81	3	1,50	2,00	3,50	18,00
	4	4,50	5,00	9,50	12,00
	5	0,00	6,00	6,00	15,00
	6	6,50	3,50	10,00	13,00

	1	5,00	2,00	7,00	11,00
	2	6,50	1,00	7,50	4,00
Eber-Nr. 97	3	2,00	1,00	3,00	18,00
	4	7,00	2,00	9,00	9,00
	5	2,00	3,00	5,00	7,00
	6	0,00	7,00	7,00	5,00
	1	4,00	5,00	9,00	17,00
	2	1,00	0,00	1,00	9,00
Eber-Nr 11	3	5,00	0,00	5,00	4,50
	4	0,00	0,00	0,00	4,50
	5	2,00	1,00	3,00	4,00
	6	0,00	7,00	7,00	2,00
	1	12,00	3,50	15,50	28,00
	2	1,00	3,00	4,00	25,00
Ebor-Nr 11	3	0,50	2,00	2,50	20,00
	4	4,50	4,50	9,00	12,00
	5	6,00	0,00	6,00	16,00
	6	1,50	0,00	1,50	13,00
	1	0,50	0,00	0,50	7,50
	2	0,50	0,50	1,00	11,00
Ebor-Nr 42	3	2,00	5,00	7,00	6,00
	4	2,00	4,00	6,00	21,00
	5	1,00	3,00	4,00	12,00
	6	2,50	0,00	2,50	6,00
	1	17,50	6,50	24,00	2,00
	2	0,00	0,00	0,00	14,00
Ebor-Nr 56	3	3,00	4,00	7,00	6,00
	4	2,00	0,50	2,50	14,00
	5	4,50	5,00	9,50	1,00
	6	2,00	0,50	2,50	3,00

Eber-Nr. 150	1	9,00	1,00	10,00	8,00
	2	5,50	0,00	5,50	20,00
	3	7,00	1,00	8,00	12,00
	4	1,00	0,50	1,50	7,00
	5	2,50	7,00	9,50	12,00
	6	0,50	0,50	1,00	7,00

Prim Path: Primär pathomorphologisch veränderte Spermien in %

Sek Path: Sekundär pathomorphologisch veränderte Spermien in %

Path Ges: Gesamtanteil der pathomorphologisch veränderten Spermien in %

PlasmaT: Spermien mit persistierendem Plasmatropfen in %

Tabelle 24: Gruppenvergleich der klinisch-andrologischen Parameter mittels Levene- und t-Test

		0	_	•	Levene-	1 T = = 1
		Gruppe	Х	5	Test	t-lest
		Kontrolle	38,44	0,14	0.02	0.07
	Korpertemperatur (C)	Mykotoxin	38,50	0,05	0,03	0,37
	Kärporgowicht (kg)	Kontrolle	184,00	13,2	0.14	0.45
	Norpergewicht (kg)	Mykotoxin	178,97	5,07	0,14	0,45
	Scheitel-Steiß-Länge (cm)	Kontrolle	168,33	7,01	0.20	0.60
	ochenter-otens-Lange (cm)	Mykotoxin	166,37	4,11	0,29	0,00
	Hodenlänge links (cm)	Kontrolle	18,92	0,96	0.04	0.07
b		Mykotoxin	17,85	0,34	0,04	0,07
hur	Hodonlängo rochts (cm)	Kontrolle	18,82	0,92	0.11	0.02
suc		Mykotoxin	17,65	0,38	0,11	0,03
ter:	Hodenbreite links (cm)	Kontrolle	8,93	0,75	0.01	0.24
ů Un		Mykotoxin	8,46	0,17	0,01	0,24
che	Hodonbroito rochts (cm)	Kontrolle	8,94	0,77	0.002	0,20
ogis		Mykotoxin	8,41	0,15	0,002	
rolo	Konsistenz Hoden links (mm)	Kontrolle	4,80	0,11	0.30	0.06
and	Konsistenz noden inks (min)	Mykotoxin	5,10	0,29	0,00	0,00
ch-	Konsistenz Hoden rechts (mm)	Kontrolle	4,77	0,07	0.28	0.01
inis		Mykotoxin	5,12	0,21	0,20	0,01
К	Konsistenz NHS links (mm)	Kontrolle	6,23	0,11	0.19	0.11
		Mykotoxin	6,47	0,28	0,13	0,11
	Konsistenz NHS rechts (mm)	Kontrolle	6,27	0,11	0.10	0.06
		Mykotoxin	6,60	0,28	0,10	0,00
	Konsistenz NHK links (mm)	Kontrolle	3,47	0,51	0 78	0 10
		Mykotoxin	2,97	0,58	0,70	0,13
	Konsistenz NHK rechts (mm)	Kontrolle	3,50	0,54	0.68	0.17
		Mykotoxin	2,97	0,58	0,00	0,17

- NHK: Nebenhodenkopf
- \overline{x} : arithmetischer Mittelwert
- NHS: Nebenhodenschwanz
- s: Standardabweichung

Tabelle 25:	Gruppenvergleich	der	spermatologischen	Parameter	mittels	Levene-
	und t-Test					

		Gruppe	X	S	Levene-Test	t-Test	
	Fiskulatvolumon (ml)	Kontrolle	208,33	68,43	0.65	0.76	
		Mykotoxin	220,37	51,01	0,05	0,70	
		Kontrolle	7,46	0,06	0.65	0.44	
	pri-went Sperma	Mykotoxin	7,49	0,07	0,00	0,44	
	Spermiengesamtzahl (Mrd.)	Kontrolle	83,83	15,10	0.17	0.97	
		Mykotoxin	85,74	21,23	0,17	0,07	
	Dichte des Eiskulats (Mio /ml)	Kontrolle	430,27	86,51	0.01	0.44	
		Mykotoxin	396,23	28,36	0,01	0,44	
ɓur	Gosomtmotilität (%)	Kontrolle	92,19	3,64	0.91	0.25	
Ichı	Gesammountat (70)	Mykotoxin	89,97	3,47	0,01	0,30	
ersu	Vorwärtsmotilität (%)	Kontrolle	80,68	5,30	0.56	0.27	
Unte		Mykotoxin	76,10	6,70	0,30	0,27	
the l	Primäre Pathomorphologie (%)	Kontrolle	3,35	1,53	0.01	0,67	
ogisc		Mykotoxin	3,02	0,66	0,01		
atol	Sekundäre Pathomorphologie	Kontrolle	2,17	0,39	0.00	0.57	
berm	(%)	Mykotoxin	1,79	1,34	0,02	0,57	
0)	Plasmatronfon (%)	Kontrolle	10,78	4,94	0.04	0.60	
		Mykotoxin	12,34	4,11	0,94	0,00	
	Pathomorphologie gesamt (%)	Kontrolle	5,55	4,10	0.81	0.81	
		Mykotoxin	4,80	3,37	0,01	0,01	
	HOS: curled tails (%)	Kontrolle	53,02	5,81	0.10	0.40	
		Mykotoxin	47,03	13,74	0,10	0,40	
	HOS: not-curled tails (%)	Kontrolle	46,98	5,81	0.10	0.40	
		Mykotoxin	52,97	13,74	0,10	0,40	

		Kontrolle	59,82	4,81	0.01	0.05
		Mykotoxin	52,64	5,26	0,91	0,05
		Kontrolle	32,17	2,11	0.77	0.02
		Mykotoxin	27,89	2,33	0,77	0,02
	DSL (μm)	Kontrolle	21,22	1,71	0.59	0.02
		Mykotoxin	17,23	2,36	0,39	0,02
	VCL (um/s)	Kontrolle	132,13	9,95	0.65	0.04
bui		Mykotoxin	114,47	12,11	0,00	0,04
chu	VAP (um/s)	Kontrolle	71,22	4,54	0.53	0.01
rsu		Mykotoxin	60,77	5,40	0,55	0,01
nte	VSL (um/s)	Kontrolle	47,16	3,71	0.57	0,01
le U		Mykotoxin	37,74	5,25	0,57	
sch	ALH (μm/s)	Kontrolle	3,52	0,23	0.42	0.06
logi		Mykotoxin	3,18	0,26	0,43	0,00
ato		Kontrolle	33,99	0,60	0.01	0.08
ermá		Mykotoxin	32,19	1,76	0,01	0,08
Spe	STD	Kontrolle	0,65	0,03	0.03	0.20
		Mykotoxin	0,60	0,06	0,03	0,20
	WOR	Kontrolle	0,54	0,02	0.84	0.71
	WOB	Mykotoxin	0,53	0,02	0,04	0,71
	LIN	Kontrolle	0,35	0,03	0.06	0.12
		Mykotoxin	0,32	0,03	0,90	0,13
	AOC (3	Kontrolle	20,23	1,09	0.10	0.10
	AOC ()	Mykotoxin	18,96	1,65	0,19	0,19

- HOS: Hypoosmotischer Schwelltest
- $\overline{\mathbf{X}}$: arithmetischer Mittelwert
- s: Standardabweichung

Die Erläuterungen der Motilitätsparameter DCL bis einschließlich AOC sind Tabelle 7, Abschnitt 3.2.5.2.1 zu entnehmen.

		Gruppe	x	S	Levene-Test	t-Test
	I maan NUK li nyö ai	Kontrolle	19,87	0,40	0.64	0.90
Lm	Lmean NHK II pra ej.	Mykotoxin	19,90	0,29	0,64	0,69
	l maan NUK li naat ai	Kontrolle	22,65	0,78	0.20	0.77
	Lmean NHK II post ej.	Mykotoxin	22,78	0,59	0,39	0,77
	Nmost NHK li prä si	Kontrolle	157,38	12,78	0.08	
	Nillost NHK li pra ej.	Mykotoxin	149,30	5,69	0,08	0,23
	Nmost NHK li post oi	Kontrolle	149,18	6,32	0.17	0.51
	ninost nink ii post ej.	Mykotoxin	145,57	9,89	0,17	0,51
	l maan NHK ra prä ai	Kontrolle	19,72	0,25	0.10	0.91
	Linean NHK le pla ej.	Mykotoxin	19,81	0,77	0,19	0,01
	l maan NHK ra nast ai	Kontrolle	22,48	0,38	0.76	0.00
	Linean Mirk le post ej.	Mykotoxin	22,05	0,33	0,70	0,09
	Nmost NHK re prä ej.	Kontrolle	168,37	11,10	0.99	0.02
se		Mykotoxin	150,00	9,49	0,99	0,02
aly	Nmost NHK re post ej.	Kontrolle	140,30	8,07	0.62	0.47
nan		Mykotoxin	144,53	9,39	0,02	0,17
tufe	l mean NHKR li nrä ei	Kontrolle	16,27	0,48	0.94	0.03
ust	Emean Mirkk ii pia ej.	Mykotoxin	15,42	0,52	0,94	0,03
Gra	l mean NHKR li nost ei	Kontrolle	18,16	0,51	0.20	0,09
	Linean Arixix ii post ej.	Mykotoxin	17,40	0,70	0,20	
	Nmost NHKP li prä ei	Kontrolle	78,15	7,92	0.53	0.94
	ninost ninkit ii pia ej.	Mykotoxin	77,80	5,41	0,00	0,34
	Nmost NHKP li post ei	Kontrolle	76,32	4,77	0.35	0.67
	ninost nintti n post ej.	Mykotoxin	78,03	7,11	0,00	0,07
	l mean NHKR re nrä ei	Kontrolle	16,14	0,37	0.67	0.44
	Linean Miritit re pra ej.	Mykotoxin	15,95	0,38	0,07	0,77
	l mean NHKR re nost ei	Kontrolle	18,10	0,25	0.31	0.02
	Linean Arikk re post ej.	Mykotoxin	17,71	0,17	0,01	0,02
	Nmost NHKR re prä ei	Kontrolle	85,25	10,41	0.08	0.30
		Mykotoxin	80,92	2,50	0,00	0,39
	Nmost NHKR re post ei	Kontrolle	77,32	6,44	0.22	0 96
		Mykotoxin	77,47	2,96	0,22	0,90

Tabelle 26: Gruppenvergleich der Grauwertparameter mittels Levene- und t-Test

	I maan NHS li nrö ai	Kontrolle	10,31	0,29	0.14	0.24
	Lineari NHS il pra ej.	Mykotoxin	9,94	0,76	0,14	0,34
	l mean NHS li nost ei	Kontrolle	12,37	0,72	0.08	0.48
		Mykotoxin	12,03	0,75	0,90	0,40
	Nmost NHS li prä ej.	Kontrolle	153,43	8,71	0.83	0.25
se		Mykotoxin	161,30	11,31	0,05	0,25
aly	Nmost NHS li post oi	Kontrolle	131,57	8,26	0.55	0.97
nan	Ninost Nilo ii post ej.	Mykotoxin	132,38	7,34	0,55	0,07
:ufe	I mean NHS re prä ei	Kontrolle	10,25	0,26	0.51	0,04
aust	Lmean NHS re pra ej.	Mykotoxin	9,88	0,21	0,51	
Grä	l mean NHS re nost ei	Kontrolle	12,26	0,71	0.16	
	Linean Milo le post ej.	Mykotoxin	11,61	0,46	0,10	0,12
	Nmost NHS ro prä oj	Kontrolle	151,87	7,82	0.77	0.23
	ninost nino re pra ej.	Mykotoxin	158,20	7,61	0,77	0,20
	Nmost NHS re post ei	Kontrolle	133,78	7,95	0.62	0.60
		Mykotoxin	137,05	10,78	0,02	0,60

- Lmean: mittlerer Grauwert
- Nmost: Modalwert für die häufigste Graustufe
- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKR: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- re: rechts
- li: links
- ej.: ejaculationem
- x: arithmetischer Mittelwert
- s: Standardabweichung

Tabelle 27:	Korrelationsanalyse	rektale	Körpertemperatur	—	spermatologische
	Parameter				

Parameter 1	Parameter 2	r	р
	Volumen	0,22	0,10
	pH-Wert	0,27	0,04
	Spermiengesamtzahl	0,26	0,04
	Dichte	-0,08	0,55
	Gesamtbeweglichkeit	0,21	0,10
	Vorwärtsbeweglichkeit	0,17	0,19
	Primäre Pathomorphologie	0,39	0,002
	Sekundäre Pathomorphologie	0,08	0,57
	Plasmatropfen	0,10	0,47
	Pathomorphologie gesamt	0,36	0,01
	HOS curled	-0,02	0,89
кт	HOS not curled	0,02	0,89
	DCL	0,07	0,61
	DAP	0,07	0,59
	DSL	0,09	0,48
	VCL	0,07	0,60
	VAP	0,07	0,59
	VSL	0,10	0,47
	ALH	0,004	0,97
	BCF	0,15	0,25
	STR	0,09	0,49
	WOB	-0,04	0,75
	LIN	0,09	0,50
	AOC	0,07	0,62

r: Pearsonscher Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient

- p: Überschreitungswahrscheinlichkeit
- KT: Körpertemperatur in ℃
- HOS: Hypoosmotischer S chwelltest

Tabelle 28:	Korrelationsanalyse	Graustufenparameter	—	spermatologische
	Parameter			

Parameter 1	Parameter 2	r	р
Lmean NHK prä ej.	GSZ	0,73	0,02
Lmean NHK prä ej.	Volumen	0,61	0,06
Lmean NHK post ej.	GSZ	0,57	0,09
Lmean NHK post ej.	Volumen	0,64	0,045
Lmean NHKÖ prä ej.	GSZ	0,29	0,43
Lmean NHKÖ prä ej.	Volumen	0,18	0,62
Lmean NHKÖ post ej.	GSZ	0,13	0,72
Lmean NHKÖ post ej.	Volumen	0,09	0,81
Lmean NHS prä ej.	GSZ	-0,07	0,85
Lmean NHS prä ej.	Volumen	-0,04	0,91
Lmean NHS post ej.	GSZ	-0,05	0,88
Lmean NHS post ej.	Volumen	0,15	0,69
Nmost NHK prä ej.	GSZ	-0,07	0,85
Nmost NHK prä ej.	Volumen	-0,16	0,66
Nmost NHK post ej.	GSZ	0,08	0,82
Nmost NHK post ej.	Volumen	0,18	0,63
Nmost NHKÖ prä ej.	GSZ	-0,14	0,71
Nmost NHKÖ prä ej.	Volumen	-0,44	0,20
Nmost NHKÖ post ej.	GSZ	0,02	0,95
Nmost NHKÖ post ej.	Volumen	0,38	0,29
Nmost NHS prä ej.	GSZ	0,38	0,29
Nmost NHS prä ej.	Volumen	0,36	0,31
Nmost NHS post ej.	GSZ	0,23	0,52
Nmost NHS post ej.	Volumen	0,02	0,96

r: Pearsonscher Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient

Lmean: mittlerer Grauwert

p: Überschreitungswahrscheinlichkeit

- Nmost: Modalwert für die häufigste Graustufe
- GSZ: Spermiengesamtzahl in Mrd.
- Volumen: Ejakulatvolumen in ml
- NHK: Nebenhodenkopf
- NHKÖ: Nebenhodenkörper
- NHS: Nebenhodenschwanz
- ej.: ejaculationem

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Grundfläche
APES	3-Aminopropyltriethoxysilan
B-Mode	brightness modulation
bit	binary digit
CASA	Computer - assisted semen analysis
dB	Dezibel
dest.	destillata
EDV	elektronische Datenverarbeitung
ej.	ejakulationem
et al.	et alii
GSA	Sonographische Graustufenanalyse
h²	Heritabilität
HOS-Test	Hypoosmotischer Schwelltest
jpg	joint photographers expert group – File Interchange Format
kDa	Kilo-Dalton
Lmean	mittlerer Grauwert
ME	Umsetzbare Energie
MHz	Megahertz
MJ	Megajoule
M-Mode	time motion
n	Anzahl
Nmost	Modalwert der meist aufgefundenen Grauwertpixel
N-all	Maximalwert von Grauwertpixeln
ORT	Osmotischer Resistenztest
р	Irrtumswahrscheinlichkeit
PGA	Polyglykolsäure
Pixel	picture element
ppm	parts per million
r	Pearsonscher Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient
ROI(s)	region(s) of interest
ТМ	Trockenmasse
ZEA	Zearalenon

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Axel Wehrend, für die Überlassung dieses interessanten Themas sowie für die jederzeit gewährte, unermüdliche Unterstützung bei der Planung, Durchführung, Auswertung und Korrektur dieser Arbeit.

Bei Herrn Priv. Doz. Dr. habil. Johannes Kauffold (Department of Clinical Studies, New Bolton Center, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Kennett Square, PA, USA) möchte ich mich für seine wissenschaftliche Beratung bezüglich sonographischer Technik und für die unter seiner Betreuung durchgeführten Vorstudie, aus der das Tiermaterial dieses Forschungsprojektes hervorging, herzlich bedanken.

Herrn Dr. Failing sowie Frau Sparenberg (AG Biomathematik und Datenverarbeitung der JLU Gießen) danke ich für die Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse.

Zudem möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ralph Brehm und den technischen Angestellten des Instituts für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie für die Anregungen und Anleitungen in punkto Aufbereitung von histologischen Proben bedanken.

Meinen Mit-Doktoranden Frau Julia Böhm und Frau Dina Knauf danke ich für ihr Bestreben mir die Spezies Schwein näher zu bringen, ihre stetige Hilfsbereitschaft bei wissenschaftlichen Fragen und ihre tatkräftige Unterstützung während dem praktischen Teil dieser Dissertation.

Astrid, Michi und Sima, meinen Kolleginnen aus der "Andro", die mir mit viel Zeit und Geduld halfen die Rätsel der Probenaufbereitung, Histologie und Laborkunde zu lösen. Vielen Dank für Eure Freundschaft.

Bei Frau Dr. Sandra Goericke-Pesch möchte ich mich für ihre Unterstützung in Sachen Spermatologie und für die netten Grillabende ganz herzlich bedanken.

194

Herrn Dr. Peter Richterich danke ich für seine wissenschaftlichen Anregungen und die kollegiale Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt auch den technischen Angestellten der KGGA:

Frau Julia Blad-Stahl und Frau Franziska Sechser für die vielfältige Unterstützung bei Arbeiten im Labor; Herrn Willi Damm für die Ethanol-Bestellungen und seine Aufklärungsarbeit bezüglich chemischem Abfall.

Außerdem danke ich allen Tierpflegern der KGGA für ihre tatkräftige Unterstützung im Schweinestall, für die amüsanten Gespräche und für die unentgeltlichen Kaffeepausen.

Ein freundschaftlicher Dank an meinen Kamerad Joe, der mir bei Personalnot assistierte, um die Untersuchungen am Tier durchzuführen.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern, die mir durch ihre großartige Unterstützung das Studium sowie die Anfertigung dieser Arbeit ermöglicht haben. 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 veröffentlichten und nicht Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus 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.



VVB LAUFERSWEILER VERLAG STAUFENBERGRING 15 D-35396 GIESSEN

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

