

Aus dem Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW)
Im Forschungsverbund Berlin e.V.

Eingereicht beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*)
und Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause
mittels computergestützter Graustufenanalyse**

Inaugural – Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Robert Hermes
Tierarzt aus Celle
Berlin 1997

Journal-Nr. 2151

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:

Univ. Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter:

Univ. Prof. Dr. R.R. Hofmann

Zweiter Gutachter:

Univ. Prof. P. Glatzel

Tag der Promotion:

27.11.1998

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Die embryonale Diapause	3
2.1.1. Vorkommen der embryonalen Diapause bei den Säugetieren	4
2.1.2. Unterschiedliche Formen der Diapause bei Säugetieren	9
2.1.3. Die embryonale Diapause des Rehs (<i>Capreolus capreolus</i>)	10
2.2. Ultraschall	14
2.2.1. Prinzip des Ultraschalls	14
2.2.2. Prinzip der Ultraschallerzeugung und Signalverarbeitung im Ultraschallgerät	16
2.2.3. Biologische Sicherheit des Ultraschalls	19
2.2.4. Stand der Ultraschalldiagnostik bei Haustieren auf dem Gebiet der Gynäkologie und Geburtshilfe	19
2.2.5. Ultraschalldiagnostik bei Hirschen (<i>Cervidae</i>)	22
2.2.5.1. Damhirsch (<i>Cervus dama</i>)	23
2.2.5.2. Rothirsch (<i>Cervus elaphus</i>)	23
2.2.5.3. Europäisches Reh (<i>Capreolus capreolus</i>)	24
2.3. Die Graustufenanalyse - Quantitative Analyse sonographischer Bilder	24
2.3.1. Entwicklung und Einsatz der Graustufenanalyse in der Humanmedizin	26
2.3.1.1. Kardiologie	27
2.3.1.2. Innere Medizin	27
2.3.1.3. Frauenheilkunde	28
2.3.2. Einsatz der Graustufenanalyse in der Veterinärmedizin	28
3. Material und Methoden	29
3.1. Postmortale Untersuchungen	29
3.2. Tiermaterial	30

3.3.	Immobilisation	31
3.4.	Sonographie	32
3.4.1.	Vorbereitung der Tiere	32
3.4.2.	Ultraschallsystem	32
3.4.3.	Ultraschalluntersuchung	35
3.4.3.1.	Untersuchungsgang	35
3.4.3.2.	Transrektale Adaptersonographie	35
3.4.3.3.	Transkutaner Ultraschall	35
3.4.4.	Dokumentation	36
3.5.	Erarbeitung der Methodik zur retrospektiven Bildanalyse von Sonogrammen	36
3.5.1.	Prüfung der Kompatibilität verwendeter Bildanalyse - Software mit der Computerhardware	36
3.5.2.	Datenkonvertierung und Speicherung	37
3.5.3.	Struktur und Organvermessungen an digitalisierten Standbildern	38
3.5.4.	Prüfung des Einflusses von Helligkeits- und Kontraständerung in der Konfiguration der Bildanalyse - Software auf die Graustufenanalyse von Sonogrammen	38
3.5.5.	Graustufenanalyse	40
3.5.6.	Statistische Auswertung	41
<hr/>		
4.	Ergebnisse	42
<hr/>		
4.1.	Sonographie des Urogenitaltraktes beim Reh	42
4.2.	Sonomorphologie des Harnapparates	43
4.2.1.	Urethra und Harnblase	43
4.2.2.	Ureter und Niere	43
4.3.	Sonomorphologie der Genitalorgane	45
4.3.1.	Vagina	45
4.3.2.	Cervix uteri	46
4.3.3.	Ovarien	48
4.3.3.1.	Follikelphase	49

4.3.3.1.1.	Sonomorphologie der Follikel	49
4.3.3.1.2.	Sonomorphologische Veränderungen am Ovar während der Brunst	49
4.3.3.2.	Lutealphase	50
4.3.3.2.1.	Sonomorphologie des Corpus luteum	50
4.3.3.2.2.	Ovardynamik nicht gravider und gravider Rehe während der Diapause	52
4.3.3.2.3.	Dynamik des Ovars im Anschluß an die Diapause	58
4.3.4.	Uterus	58
4.3.4.1.	Sonomorphologische Veränderungen am Uterus während der Brunst	59
4.3.4.2.	Der Uterus gravider und nicht gravider Rehe während der embryonalen Diapause	61
4.4.	Computergestützte Graustufenanalyse von Strukturveränderungen des Endometriums während der embryonalen Diapause	64
4.5.	Postimplantative Embryonal- und Foetalentwicklung	66
4.5.1.	Embryonalentwicklung	66
4.5.2.	Foetalentwicklung und Foetometrie	67
4.6.	Vorkommen embryonaler Fruchtresorptionen und des foetalen Aborts beim Reh	72
4.6.1.	Embryonale Fruchtresorption während der embryonalen Diapause	72
4.6.2.	Postimplantative embryonale Resorptionen	74
4.6.3.	Abort	75
<hr/>		
5.	Diskussion	77
<hr/>		
5.1.	Sonographie des weiblichen Urogenitaltraktes beim Europäischen Reh mittels Transrektaler Adaptersonographie	77
5.2.	Sonomorphologische Veränderungen der Genitalorgane während der Brunst	78
5.3.	Sonomorphologische Veränderungen am Genitaltrakt während der embryonalen Diapause	80
5.3.1.	Ovarium	80

5.3.2.	Uterus	82
5.4.	Graustufenanalyse	83
5.5.	Sonographie der postimplantativen Embryonal- und Foetalentwicklung	85
5.6.	Embryonale Fruchtresorption und Abort beim Reh	87
<hr/>		
6.	Zusammenfassung	89
<hr/>		
7.	Summary	92
<hr/>		
8.	Literaturverzeichnis	95
<hr/>		
9.	Verzeichnis der Abbildungen	115
<hr/>		

Abkürzungen

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AIUM	Amerikanische Institut für Ultraschall in der Medizin
BP	Biparietaler Abstand
C.I.	corpus luteum
C.II.	corpora lutea
dB	Dezibel
DEGUM	Deutsche Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin
eD	embryonale Diapause
EFSUMB	Europäische Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin und Biologie
fD	fakultative Diapause
GSA	Graustufenanalyse
i.m.	intra muskulär
i.v.	intra venös
IZW	Institut für Zoo- und Wildtierforschung
kM	keine Messung
Lnn.	Lymphknoten
MedGV	Medizinischen Gerätevorschrift
MHz	Megahertz
Nr.	Nummer
oD	obligate Diapause
persönl. Mittlg.	persönliche Mitteilung
p.o.	post ovulationem
RF-Signal	Radio-Frequenz-Signal
RGB-Signal	Rot-Gelb-Blau Signal
SSL	Scheitelsteißlänge
Tab.	Tabelle
TAS	Transrektale Adaptersonographie
V.	Vena

1. Einleitung

Die embryonale Diapause (eD) ist ein in sieben Säugetierordnungen vorkommendes reproduktionsbiologisches Phänomen (MEAD, 1993), dessen wesentliches Merkmal in einer starken Retardierung des embryonalen Wachstums besteht. Die Funktion der eD besteht in einer Verlängerung der Trächtigkeit zur Gewährleistung bestmöglicher Aufzuchtbedingungen für die Jungtiere. Das europäische Reh (*Capreolus capreolus*, Linne', 1758) ist im Gegensatz zum zahlreichen Auftreten der eD in anderen Ordnungen der einzige bekannte Paarhufer (*Artiodactyla*), der das Phänomen einer eD aufweist (BISCHOFF, 1854; SHORT und HAY, 1966). Ursachen für die Entwicklung der eD beim Reh sind vorrangig in seinem Ernährungstyp zu suchen (Konzentratselktierer, HOFMANN and STEWART, 1972; HOFMANN, 1976), der das Reh, als besonders kleine Art, erheblich vom saisonalen Wechsel der Futterqualität abhängig macht. Als weit verbreitete und häufigste Wildwiederkäuerart Europas bietet das Europäische Reh bei der Erforschung der eD bei den Säugetieren als Studienobjekt viele Vorteile. Im Gegensatz zu den meisten anderen Tierarten mit eD gilt das Reh nicht als bedrohte Tierart. Die intensive Bejagung des Rehwildes in Deutschland und anderen europäischen Ländern bietet im Gegenteil vielfältige Möglichkeiten der Probenbeschaffung für postmortale und *in vitro* Studien des Genitaltraktes (ZIEGLER, 1843; BISCHOFF, 1854; SHORT und HAY, 1966; BORG, 1970; HORAK, 1989; LENGWINAT und MEYER, 1996). Die Erstbeschreibung der eD eines Säugetiers beim Europäischen Reh vor 143 Jahren, war der Beginn der Erforschung der eD bei allen anderen Säugetierarten (BISCHOFF, 1854). Die Frage, wie es das Reh bewerkstelligt, eine Fruchtanlage über einen längeren Zeitraum bei normaler Körpertemperatur gewissermaßen zu konservieren, konnte trotz Anwendung moderner Untersuchungsmethoden bisher nicht beantwortet werden (HOFFMANN, 1978; SEMPERE et al., 1989; FLINT et al., 1994). Die Aufklärung der Funktionsmechanismen der eD könnten grundlegend neue Wege in der Embryonenkonservierung aufzeigen. In diesem Zusammenhang konzentriert sich die Erarbeitung von Grundlagenwissen auf dem Gebiet der eD mit Hilfe moderner Untersuchungstechniken am IZW auf das Modelltier Reh (HOFMANN, 1995).

In der vorliegenden Arbeit werden zunächst die verschiedenen Formen der eD und der in einer Literaturrecherche ermittelte Umfang ihres Auftretens bei den Säugetieren beschrieben. Da morphologische Studien zur eD beim Reh sich bisher auf postmortale Untersuchungen einzelner Tiere zu einem bestimmten Zeitpunkt der Trächtigkeit stützten, wurde in Verlaufsuntersuchungen die Sonographie eingesetzt, um erstmals ovarielle und uterine Umbauprozesse während der eD sowie in der postimplantativen Phase der Trächtigkeit bei einzelnen Individuen *in vivo* darzustellen. Postmortale Studien im Vorfeld dienten der optimalen Anpassung eines kommerziellen Ultraschallsystems an die anatomischen Verhältnisse des Rehs sowie der Erarbeitung sonomorphologischer

Grundlagen.

Die vierjährigen sonographischen Verlaufsuntersuchungen wurden ergänzt durch eine in der Humanmedizin und bisher nur vereinzelt in der Veterinärmedizin eingesetzte computergestützte Graustufenanalyse (GSA) von Sonogrammen. Dieses Analyseverfahren, das der Quantifizierung von geringen Echotexturveränderungen innerhalb eines Sonogramms dient, ermöglichte die objektive Beurteilung sonomorphologischer Veränderungen des Endometriums während der eD.

2. Literaturübersicht

2.1. Die embryonale Diapause

Der Begriff der embryonalen Diapause (eD) beschreibt den temporären Stillstand oder die verzögerte Entwicklung der Embryogenese. Die Diapause wurde in der Tierwelt bei Fischen, Amphibien, Vögeln und Säugetieren beschrieben. Diese ontogenetische Besonderheit in der frühen Embryonalentwicklung hat sich im Laufe der Evolution unabhängig voneinander in vielen Taxa herausgebildet und dient nach bisherigen Erkenntnissen der Wissenschaft der Gewährleistung bestmöglicher Aufzuchtbedingungen für die Nachkommen (MEAD, 1989). Durch die zeitliche Verlängerung der Gesamträchtigkeitsdauer können für die Aufzucht widrige Umstände wie z. B. ungünstige Klima- und Vegetationsperioden, energetisch aufwendige Phasen wie die Laktation oder auch kurzzeitige Streßsituationen überbrückt werden.

Das Europäische Reh (*Capreolus capreolus*) ist die erste Säugetierart, bei der das Phänomen der Diapause Mitte des 19. Jahrhunderts beschrieben wurde (ZIEGLER, 1843; BISCHOFF, 1854). Dies war der Beginn für die Entdeckung und Untersuchung dieser reproduktionsbiologischen Besonderheit bei verschiedenen Säugetierarten unterschiedlicher Ordnungen (SADLEIR, 1969). Begründet ist die Erforschung der Diapause in der faszinierenden Fragestellung, wie ein Organismus es bewerkstelligt, eine normalerweise sehr schnell proliferierende Keimanlage bis zu 10 Monate (Europäischer Dachs, *Meles meles*) in seinem Wachstum zu hemmen (CANIVENC und BONIN-LAFFARGUE, 1963). Trotz der langen Forschungsgeschichte sind die Steuermechanismen der Diapause und der physiologische Auslöser, der die Blastozyste aus der Diapause entläßt und ihr weiteres Wachstum mit dem Uterus synchronisiert, weitgehend ungeklärt. In diesem Zusammenhang ergeben sich folgende Fragen:

- Welcher hormonellen Steuerung unterliegt die embryonale Diapause?
- Gibt es unbekannte intrauterine Botenstoffe, die die Geschwindigkeit des embryonalen Wachstums beeinflussen können?
- Welche intrazellulären Faktoren haben Einfluß auf die Einstellung bzw. Verringerung der Teilungsaktivität von Embryonalzellen?
- Ist die Signalgebung für die Wiederaufnahme des normalen embryonalen Wachstums und für die Implantation embryonalen oder maternalen Ursprungs?

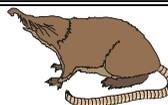
Die Grundlagenforschung zur Aufklärung dieser Mechanismen verspricht Erkenntnisse, die auch in anderen Forschungsgebieten wie der Embryokonservierung oder Tumorforschung von Interesse sein können.

2.1.1. Vorkommen der embryonalen Diapause bei den Säugetieren

Die eD wurde bei den Säugetieren erstmals beim Europäischen Reh aus der Ordnung der Paarhufer (*Artiodactyla*) beschrieben (ZIEGLER, 1843; BISCHOFF, 1854). Seitdem erfolgte der Nachweis einer Diapause in sechs weiteren Säugetierordnungen: Beuteltiere (*Marsupialia*), Insektenfresser (*Insectivora*), Fledertiere (*Chiroptera*), Zahnlose (*Edentata*), Raubtiere (*Carnivora*) und Nagetiere (*Rodentia*) (MEAD; 1993). Trotz der weiten Verbreitung korreliert das Auftreten dieses Reproduktionsphänomens aber nicht mit der taxonomischen Nähe einzelner Spezies. Beispielsweise hat der amerikanische Otter (*Lutra canadensis*) phylogenetisch eine Diapause entwickelt. Im Gegensatz zu seinem engen Verwandten verfügt der Europäische Otter (*Lutra lutra*) über keine eD, obwohl beide Arten unter ähnlichen klimatischer Bedingungen leben (GOULD, 1965). Ähnliches läßt sich bei östlichen und westlichen Fleckenskunks (*Spilogale*) aus der Familie der Marder (*Mustelidae*) beobachten (MEAD, 1968). Das Reh, einziger Vertreter einer ganzen Ordnung mit obligater Keimruhe, verdeutlicht die Diversität des Auftretens der eD bei den Säugetieren.

In einer Literaturstudie in zoo- und wildtierorientierten Journalen und Monographien wurden für 119 Säugetierarten Literaturnachweise über das Vorhandensein einer eD gefunden. Die Dauer der Diapause ist bei einigen Tierarten bisher nicht näher bekannt. Bei einer Vielzahl von Bären (*Ursidae*) (DITTRICH, 1961; DATHE, 1963/67; McCUSKER, 1970; ROBERTS and GITTLEMAN, 1984; HODGES et al., 1984) sowie Wasserraubtieren (*Pinnepedia*) (MEAD, 1989) wird das Vorkommen einer eD vermutet, ist aber noch nicht bewiesen. Damit dürfte die recherchierte Zahl von 119 Tierarten durch weiterführende Untersuchungen sicher noch korrigiert werden. Das Ergebnis der Recherche ist in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Ordnung /Familie/Art	deutscher Name	Tragzeit	Diapause	Autoren
Ordn.: Marsupialia (25)	Beuteltiere			
Fam.: Phalangeridae	Kletterbeutler			
Tarsipes spenserae	Honigbeutler	60 d		Renfree (1980b)
Fam.: Macropodidae	Känguruhs			
Potorous tridactylus	Langschnauzen-Kaninchenkänguruh	67 d	29 d	Shaw (1979)
Bettongia gaimardii	Festland-Bürstenkänguruh	39 d	18 d	Rose (1978)
Bettongia lesueur	Lesueur-Bürstenkänguruh	39 d	18 d	Tyndale-Biscoe (1968)
Bettongia penicillata	Bürstenschwanz-Rattenkänguruh	43-44 d	21 d	Parker (1977)
Aepyrymnus rufescens	Rotes Rattenkänguruh	39,7-44,7 d	18,7 d	Johnson (1978)
Lagorchestes hirsutus	Zottel-Hasenkänguruh			Ride (1962)
Lagostrophus fasciatus	Bänderkänguruh			Nowak (1991)
Petrogale penicillata	Bürstenfels-Känguruh	59-61 d	29 d	Johnson (1979)
Petrogale xanthopus	Ringschwanz-Felskänguruh			Nowak (1991)
Thylogale billardieri	Rotbauchfilander	58,1 d	29,6 d	Nowak (1991)
Thylogale thetis	Rothalsfilander			Nowak (1991)
Setonix brachyurus	Quokka	52-55 d	25-28 d	Shield (1968)
Wallabia eugenii	Tammar	56 d	26,2 d	Merchant (1979)
Wallabia parma	Parmakänguruh	65,7 d	31,2 d	Maynes (1973a)
Wallabia agilis	Flinkes Känguruh	53-60 d	24-27 d	Merchant (1976)
Wallabia rufogriseus	Bennetkänguruh	57,2 d	27,8 d	Merchant (1981)
Wallabia dorsalis				Nowak (1991)
Wallabia parryi				Nowak (1991)
Wallabia irma	Irmawallaby			Nowak (1991)
Wallabia canguru	Hübschgesichtkänguruh			Nowak (1991)
Wallabia bicolor	Sumpfwallaby	65,5 d	30 d	Calaby (1971)
Macropus giganteus	Graues Risenkänguruh	62-70 d	28-32 d	Poole (1974)
Macropus robustus	Bergkänguruh			Nowak (1991)
Macropus rufus	Westl. Rotes Riesenkänguruh	64,5 d	31,3 d	Sharman (1973)
Ordn.: Insectivora (4)	Insektenfresser			
Fam.: Soricidae	Spitzmäuse			
Sorex araneus	Waldspitzmaus			Vogel (1972)
Sorex minutus	Zwergspitzmaus			Vogel (1972)



Ordnung /Familie/Art	deutscher Name	Tragzeit	Diapause	Autoren	
Neomys fodiens Fam.: Talpidae Talpa altaica	Wasserspitzmaus Maulwürfe Sibir. Maulwurf			Vogel (1972) Borodulina (1951)	
Ordn.: Chiroptera (4)	Fledertiere				
Fam.: Pteropidae Eidolon helvum	Flughunde Palmenflughund		9 Mo 5 Mo	Mutere (1968)	
Fam.: Rhinolophidae Rhinolophus rouxi	Hufeisennasen Roux-Hufeisennase			Ramakrishna (1977)	
Fam.: Vespertilionidae Miniopterus schreibersii Miniopterus australis	Glattnasenfledermäuse Langflügel-Fledermaus		5,5 Mo 7,5 Mo	Richardson (1977) Medway (1971)	
Ordn.: Edentata (1)	Zahnlose				
Fam.: Dasypodidae Dasypus novemcinctus	Gürteltiere Neunbinden-Gürteltier		7 Mo 4 Mo	Enders (1963)	
Ordn.: Carnivora (54)	Raubtiere				
Fam.: Mustelidae Mustela erminea Mustela frenata Mustela lutreola Mustela vison Vormela peregusna Martes martes Martes foina Martes zibellina Martes americana Martes pennanti Martes flavigula Gulo gulo Mellivora capensis Meles meles Taxidea taxus Arctonyx collaris Mephitis mephitis Spilogale putorius latifrons Lutra canadensis	Marder Hermelin Langschwanzwiesel Europ. Nerz Amerik. Nerz Tigeriltis Baummarder Steinmarder Zobel Fichtenmarder Fischermarder Buntmarder Vielfraß Honigdachs Europ.Dachs Silberdachs Schweinsdachs Streifenskunk Westl. Fleckenskunk Nordamerik.Fischotter		10 - 11 Mo 205-337 d 35-72 d 40 -65 d 8-11 Mo 230 - 270 d 230-275 d 253 276 d 220-275 d 11 Mo 5-6 Mo 218-280 d 6 Mo 345 - 365 d 7-8,5 Mo 5 - 9.5 Mo 59 - 77 d 210 - 260 d 245-365 d	9 - 10 Mo 178-310 d 15-25 d 195 - 235 d 200-245 d 215 - 260 d 193-247 d 10 Mo > 3,5 Mo 6-8 Mo 300 - 320 d 5.5 Mo 0-14 d 180 - 280 d	Wright (1963) Wright (1963) Nowak (1991) Enders (1952) Mendelssohn (1988) Canivec (1970) Madsen (1985) Bernatskii (1976) Wright (1963) Wright (1967) Roberts (1977) Rausch (1972) Rosevear (1974) Canivenc (1981) Wright (1966) Parker (1979) Wade-Smith (1980) Mead (1981) DuplaisxHall (1975)

Ordnung /Familie/Art	deutscher Name		Tragzeit	Diapause	Autoren
Enhydra lutris	Seeotter		6-7 Mo		Brosseau (1975)
Fam.: Ailuridae	Katzenbären				
Ailuropoda melanoleuca	Großer Panda/Bambusbär		97-163 d	45-125 d	Hodges (1984)
Ailurus fulgens	Kleiner Panda/Katzenbär		114-145		Roberts (1984)
Fam.: Ursidae	Großbären				
Ursus arctos	Braunbär		7-8 Mo	5 Mo	Craighead (1969)
Ursus americanus	Schwarzbär		7-8 Mo	5 Mo	Daniel (1974)
Ursus thibetanus	Kragenbär		7-8 Mo		Dittrich (1963)
Ursus maritimus	Eisbär		228-303 d		Volf (1963)
Melursus ursinus	Lippenbär		6-7 Mo		Puschman (1977)
Helarctos malayanus	Malaienbär		95-106 d		Dathe (1970)
			174- 230 d		McCusker (1974)
Tremarctos ornatus	Brillenbär		5,5-8,5 Mo		Bloxam (1977)
Fam.: Otariidae	Ohrenrobben				
Callorhinus ursinus	Nördl. Seebär		12 Mo	4 Mo	Daniel (1981)
Arctocephalus australis	Südamerik. Seebär		12 Mo	4 Mo	Rand (1955)
Arctocephalus galapagoensis	Galapagos-Seebär		11,75 Mo	4 Mo	Nowak (1991)
Arctocephalus forsteri	Austrl. Seebär		11,75 Mo	4 Mo	King (1983)
Arctocephalus gazella	Kerguelen-Seebär		11,75 Mo	.. Mo	Nowak (1991)
Arctocephalus pussillus	Südafrik.-Seebär		12 Mo	3-4 Mo	Harrison (1969)
Phocartos hookeri	Aukland-Seelöwe		11,75 Mo		Nowak (1991)
Eumetopias jubatus	Stellers Seelöwe		11-11,5 Mo	3,5 Mo	Schusterman (1981)
Otaria flavescens	Südl.-Seelöwe		12 Mo	3-4 Mo	Daniel (1981)
Zalophus californianus	Kalif. Seelöwe		11-11.5 Mo	3-3,5 Mo	Odell (1981)
Fam.: Odobenidae	Walrosse				
Odobenus rosmarus	Walross		15 Mo	4-5 Mo	Fay (1982)
Fam.: Phocidae	Hundsrobben und Seehunde				
Monachus monachus	Mönchsrobbe		11 Mo	3 Mo	Nowak (1991)
Monachos tropicalis	Karibische Mönchsrobbe		11,5-12 Mo	3-4 Mo	Kenyon (1981)
Leptonychotes weddelli	Weddell-Robbe		10 Mo	2 Mo	Kooyman (1981)
Lobodon carcinophagus	Krabbenesser		9-10 Mo	2 Mo	Ortisland (1970)
Ommatophoca rossi	Ross-Robbe		11 Mo	2-3 Mo	Nowak (1991)
Mirounga leonina	Südl. See-Elephant		11-11,5 Mo	3-4 Mo	Ling (1981)
Mirounga angustirostris	Nördl. See-Elephant		11 Mo	4 Mo	Nowak (1991)
Cystophora cristata	Klappenmütze		11.5-12 Mo	3-5 Mo	Harrison (1969)

Ordnung /Familie/Art	deutscher Name	Tragzeit	Diapause	Autoren
Erignathus barbatus	Bartrobbe	11.5-12 Mo	2-3 Mo	Harrison (1969)
Halichoerus grypus	Kegelrobbe	11.5-12 Mo	3,5 Mo	Bonner (1972)
Phoca vitulina	Seehund	10 -11 Mo	2 - 3 Mo	Bigg (1981)
Phoca groenlandicus	Grönlandrobbe	11.5-12 Mo	3 Mo	Ronald (1981)
Phoca hispida	Ringelrobbe	12 Mo	3-4 Mo	Frost (1981)
Phoca sibirica	Baikalrobbe	9 Mo		Nowak (1991)
Ordn.: Rodentia (20)	Nagetiere			
Fam.: Cricetidae	Wühler			
Peromyscus polionotus		21-27 d	13-19 d	Layne (1968)
Peromyscus maniculatus	Hirschmaus	23,5-33,5 d		Sadleir (1973)
Peromyscus leucopus	Weißfußmaus	23-37 d		Rowlands (1984)
Peromyscus gossypinus	Baumwollmaus	23-30 d		Rowlands (1984)
Peromyscus truei	Pinjonmaus	21-27 d	13-19 d	Layne (1968)
Onychomys leucogaster	Nördl. Grashüpfermaus	32-47 d	8-10 d	Pinter (1970)
Clethrionomys glareolus	Rötelmaus	20-30 d	2-12 d	Rowlands (1984)
Gerbillus simoni		20 d		Rowlands (1984)
Tatera indica	Indische Nacktsohlen-Rennmaus	22-40 d		Bland (1969)
Tatera brantsi		22 d		Rowlands (1984)
Meriones unguiculatus	Mongolische Rennmaus			Norris (1971)
Fam.: Muridae	Mäuse			
Rattus norvegicus	Wanderratte	22 d	2 d	Asdell (1964)
Mus musculus	Hausmaus	20 d	21 h/Junges	Whitten (1955-56)
Thallomys assimilis		23 d		Rowlands (1984)
Zapus hudsonius	Wiesenhüpfmaus	17,5 d		Asdell (1964)
Pseudomys novaehollandiae	Neuhollandmaus			Kemper (1976)
Dicrostonyx groenlandicus	Grönlandischer-Halsbandlemming	20 d		Rowlands (1984)
Sigmodon hispidus		37 d	10 d	Asdell (1964)
Notomys cervinus	Hüpfmaus			Crichton (1974)
Fam.: Chinchillidae	Chinchillas			
Lagostomus maximus	Viscacha			Roberts (1973)
Ordn.: Artiodactyla	Paarhufer			
Fam.: Cervidae (1)	Hirsche			
Capreolus capreolus	Europäisches Reh	10 Mo	5 Mo	Hoffmann (1978)



2.1.2. Unterschiedliche Formen der Diapause bei Säugetieren

Zwei Formen der eD werden bei den Säugetieren unterschieden:

- die verzögerte Embryonalentwicklung nach der Implantation und
- die verzögerte Embryonalentwicklung vor der Implantation.

Die Verzögerung des embryonalen Wachstums nach der Implantation konnte bisher nur bei Fledermäusen nachgewiesen werden (BURNS, 1981).

Bei den meisten Tierarten erfolgt eine präimplantative Verzögerung der Embryonalentwicklung. Die befruchtete Eizelle entwickelt sich dabei mit normaler Wachstumsgeschwindigkeit bis zum frühen Embryonalstadium der Blastozyste. Anders als bei Säugetieren ohne Diapause wird dann die weitere mitotische Aktivität der Embryonalzellen vorübergehend gehemmt. Die Zellen verharren in einer Phase des Zellzyklus, der G1 Phase, in der die für eine Zellteilung nötige DNA-Synthese ruht. Die Teilungsaktivität der Embryonalzellen ist somit in der eD stark reduziert (SHERMAN and BARLOW, 1972).

Zu unterscheiden sind weiterhin die *fakultative* Diapause oder Laktations-Diapause (fD) und die *obligate* Diapause oder saisonale Diapause (oD). Das Vorkommen der fD beschränkt sich auf Tierarten aus der Ordnung *Marsupialia*, *Insectivora*, *Rodentia*, die unmittelbar im Anschluß an die Geburt durch einen postpartalen Östrus wieder konzeptionsfähig sind. Bestimmendes Moment für die verzögerte Implantation der Blastozysten ist bei diesen Tierarten die Laktationszeit der vorher geborenen Jungtiere. Daher leitet sich der Begriff Laktations-Diapause für die *fakultative* Verzögerung der Implantation ab. Dieses Phänomen wurde erstmals bei der Ratte (*Rattus norvegicus*) beschrieben (LATASTE, 1891). Die Steuermechanismen für die variable Länge der Laktations-Diapause sind bei den einzelnen Tierarten unterschiedlich. Diese Reproduktionsstrategie ermöglicht es Muttertieren, während der Zuchtsaison permanent tragend zu sein, ohne daß sich die energetisch aufwendigen Säugezeiten unterschiedlicher Würfe überschneiden (VOGEL, 1981). Bei Beuteltieren induziert die mechanische Stimulierung des Gesäuges durch den Saugreflex der Jungtiere bis zu mehreren Monaten die Verzögerung der Implantation der intrauterinen Embryonen. Wird eine Laktation frühzeitig beendet, kommt es ohne weitere Verzögerung zur Implantation der in ihrer Entwicklung ruhenden Blastozyste (SHARMAN, 1963; RENFREE, 1979; WALKER und HUGHES, 1981). Bei Nagetieren korreliert die Länge der fD mit der Anzahl saugender Jungen (WEICHERT, 1942).

Die oD oder saisonale Diapause der *Insectivora*, *Chiroptera*, *Edentata*, *Carnivora*, *Artiodactyla* ist im Gegensatz zur fD von der Laktation unabhängig. Bei der oD wird das Ende der Phase der verzögerten Implantation durch eine bestimmte Jahreszeit vorgegeben. Sie umfaßt bei den meisten Tierarten eine definierte Zeitspanne, beim Europäischen Dachs (*Meles meles*) sogar 10 Monate (CANIVENC und BONIN-LAFFARGUE, 1963). Eine

Sonderstellung nimmt der Nerz (*Mustela vison*) ein, bei dem die Länge der Diapause durch den variablen Paarungszeitpunkt während der zweimonatigen Decksaison bestimmt wird (ENDERS und ENDERS, 1963).

Obwohl die oD durch ein blastozystäres Embryonalstadium generell charakterisiert ist, unterscheiden sich innerhalb der Ordnungen die Morphologie sowie die Teilungsaktivität der Blastomeren deutlich. Die trächtigkeitsassoziierten Hormonprofile der oD sind tierartlich sehr unterschiedlich. Dabei unterscheiden sich nicht nur Arten verschiedener Ordnungen, sondern auch Tierarten derselben Familie haben voneinander stark differierende Hormonprofile für die verzögerte Implantation entwickelt. Dies führte MEAD (1993) zu der Hypothese, daß sich die Diapause in den einzelnen taxonomischen Gruppen phylogenetisch unabhängig voneinander entwickelt haben muß.

2.1.3. Die embryonale Diapause des Rehs (*Capreolus capreolus*)

Das Europäische Reh ist der einzig bekannte Vertreter der Ordnung *Artiodactyla* mit einer obligaten eD (SHORT und HAY, 1966). Das monöstrische Reh ist in der von Mitte Juli bis Anfang August stattfindenden Brunst nur 2 - 3 Tage paarungsbereit und wird in dieser Zeit 5 - 6 mal vom Bock begattet (SHORT und HAY, 1966; HORAK, 1989). Einer erfolgreichen Befruchtung schließt sich eine 5 monatige oD an (ZIEGLER, 1843; BISCHOFF, 1854). Die Trächtigkeit des Rehs wird dadurch auf eine Dauer von 10 Monaten gegenüber der errechneten Gravidität von 5 Monaten ausgedehnt. Während der eD unterliegt die aus der Zona pellucida geschlüpfte Blastozyste einem stark retardierten Wachstum. Zum Ende der Diapause kommt es zu einer schnellen Vergrößerung des Trophoblasten, und die Geschwindigkeit der Embryonalentwicklung ist wieder vergleichbar mit der anderer Wiederkäuer gleicher Körpergröße. Ende Dezember / Anfang Januar kommt es zur Implantation des Trophoblasten in das Endometrium (KEIBEL, 1902) unter Ausbildung einer *Placenta cotylica* (HAMILTON et al., 1960). Begleitet ist die Implantation mit einem meßbaren Anstieg der Östrogen- und Progesteronwerte im Blutplasma (AITKEN, 1973; HOFFMANN et al., 1978; SEMPERE et al., 1989). Transkutan eingesetzter Ultraschall erlaubte ab Ende Januar die Darstellung embryonaler bzw. fetaler Strukturen (SEMPERE et al., 1989). Die postimplantative Entwicklung der Frucht verläuft, basierend auf den Untersuchungen von SEMPERE et al. (1989), ohne weitere Verzögerung und endet mit der Geburt von 1 - 3 Jungtieren im Mai / Juni. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Reproduktionsbiologie des Rehs und die bisherigen Möglichkeiten der Trächtigkeitsdiagnostik.

Bei Säugetieren verschiedener Ordnungen kann anhand des maternalen Körpergewichts, unter Berücksichtigung 1. der Wurfgröße, 2. des Geburtsgewichts der Jungtiere und 3. ihres Entwicklungsstatus bei der Geburt die Gestationszeit berechnet werden (MARTIN und

MacLARNON, 1988). Die Berechnungen der Gestationslänge bei Cerviden verdeutlicht, daß das Europäische Reh im Vergleich mit dem Davidshirsch (*Elaphurus davidianus*) mit seiner 10-monatigen Trächtigkeitsdauer eine für sein Körpergewicht viel zu lange Gestationszeit aufweist (BRINKLOW und LOUDON, 1993). Eine bei dem geringen Körpergewicht des Rehs von 18 - 25 kg kalkulierte Trächtigkeitsdauer von ungefähr 5 - 6 Monaten würde zu einem Geburtstermin in einer Jahreszeit führen, in dem das Nahrungsangebot den erhöhten Nährstoffbedarf des laktierenden Muttertieres nicht decken könnte und darüber hinaus widrige klimatische Verhältnisse die erfolgreiche Aufzucht der Jungtiere erschweren würde. Zur Umgehung dieser ungünstigen Verhältnisse hat das Reh als evolutionäre Anpassung, so die Hypothese, eine eD entwickelt.

Die Ursachen für die Herausbildung dieses besonderen embryonalen Entwicklungsabschnittes sind sowohl im saisonalen Wechsel der Futterqualität als auch im Ernährungstyp des Rehs zu suchen. Ernährungsphysiologisch der Gruppe der Konzentratselktierer zugehörig, nimmt das Reh vorrangig stärke- und eiweißreiches, energiereiches Pflanzenmaterial auf (HOFMANN and STEWART, 1972; HOFMANN, 1976; HOFMANN, 1985). Das Verdauungssystem ist spezialisiert auf die Verwertung von Pflanzenzellinhalten, deren Gehalt im Laufe wechselnder Vegetationsperioden stark differiert. Die eD des Rehs dient der Überbrückung des jahreszeitlich schwankenden, im Winter stark verringerten Nahrungsangebots und erfüllt somit mehrere wichtige Funktionen. Sie ermöglicht dem weiblichen Tier eine längere Regeneration im Anschluß an die Laktation ab September bevor die energiezehrende Hochträchtigkeit im März beginnt. Ausdruck findet die erfolgreiche Regeneration in der Tatsache, daß weibliche Rehe im Dezember, zum Ende der Diapause, die beste Körperkondition des gesamten Jahres aufweisen, trotz jahreszeitlich bedingt schlechterer Ernährungsbedingungen (DEIPENBROCK, 1985). Ein weiteres Kriterium für die Entstehung der Diapause ist die Geburt der Jungtiere im Mai / Juni. Die zu dieser Jahreszeit optimalen Ernährungsbedingungen gewährleisten die Deckung des erhöhten Nährstoffbedarfs des Muttertieres zu Beginn der Laktation. Auch die Jungtiere, die in den ersten Lebensmonaten noch keine volle Immunkompetenz besitzen, profitieren von wärmeren klimatischen Verhältnissen, der optimalen Vegetationsperiode sowie einer langen Vorbereitungszeit auf die kommende Winterperiode.

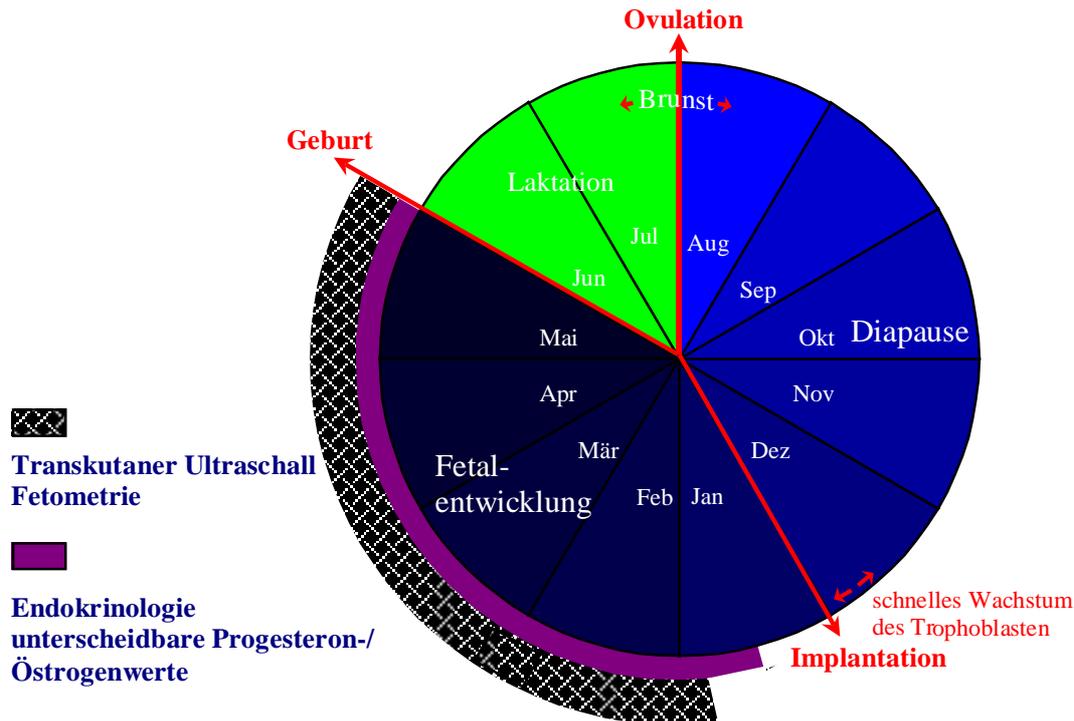


Abb. 1: Schematische Darstellung der Reproduktionsbiologie des Rehs und angewandte Methoden der Trächtigkeitsdiagnostik.

Im Zeitraum vor der Implantation sind tragende und nicht tragende Tiere bisher endokrinologisch nicht unterscheidbar, da sich nicht tragende Tiere aufgrund der Monöstrie durch die Bildung einer Pseudogravidität mit aktiven Gelbkörpern auszeichnen (HOFFMANN et al., 1978). Umfangreiche makroskopische und histomorphologische Studien am Genitaltrakt von Einzeltieren gaben bisher nur einen Einblick in die individuelle Ovar- und Uterusdynamik während der Zeit der eD (HORAK, 1989). *In vivo* Langzeituntersuchungen der morphologischen Veränderungen am Genitaltrakt während der reproduktionsbiologisch interessanten Phase der eD waren mit den bisher angewandten morphologischen Untersuchungsmethoden nicht möglich. Erste Untersuchungen mittels Transrektaler Adaptersonographie zur sonographischen Darstellung genitaler Strukturen beim Reh erbrachten Ergebnisse, die eine Langzeitstudie als vielversprechend erscheinen ließen (HILDEBRANDT et al., 1995 b). Diese Untersuchungen bildeten die Grundlage für die vorliegende Arbeit.

Im Gegensatz zu anderen Tierarten ist die Zellteilung der Blastozyste und damit das embryonale Wachstum beim Reh während der Diapause nicht vollständig gehemmt, sondern nur stark verlangsamt. Die in ihrem Wachstum retardierte Blastozyste schwimmt ohne die umgebende sekundäre Eizellhülle, der Zona pellucida, frei im Uterus (KEIBEL, 1902). Die Implantation des Konzeptus erfolgt am Ende der eD in einem der beiden Uterushörner unabhängig davon, an welchem Ovar ursprünglich die Ovulation

stattgefunden hat (STRANDGAARD, 1972; HORAK, 1989). Während der eD ist die Sekretion der Embryotrophe aus den endometrialen Drüsen stark reduziert. Anders als bei anderen Paarhufern akkumulieren die Drüsenepithelzellen des Rehs die Embryotrophe in intrazellulären Vesikeln. Aus der Sekretakkumulation resultiert eine eingeschränkte Versorgung der Blastozyste mit der sie ernährenden Embryotrophe während der Diapause, die nach AITKEN (1973) die Ursache für das retardierte embryonale Wachstum darstellt. Im Zuge der raschen Vergrößerung des Trophoblasten am Ende der Diapause geben die uterinen Drüsenzellen das akkumulierte Sekret ab (AITKEN, 1973). Die verstärkte Sekretion des Endometriums ist mit einem Anstieg uterus-spezifischer Proteine sowie Serumproteine im Uteruslumen verbunden (AITKEN et al., 1974b, 1981).

Die Corpora lutea (C.l.) sowohl gravider als auch nicht gravider Tiere unterscheiden sich im Zeitraum der eD sowohl makroskopisch als auch histologisch nicht voneinander (AITKEN et al., 1974b; HORAK, 1989). Die Progesteron produzierenden Granulosa-Lutein Zellen der C.l. erscheinen im histologischen Bild sowohl bei tragenden als auch bei nicht tragenden Tieren aufgrund des Plasmareichtums der Zellen aktiv (HORAK, 1989). Das Auftreten aktiver C.l. und zahlreicher antraler Follikel während des Zeitraums der eD bei Tieren mit unterschiedlichem Reproduktionsstatus ist die Ursache für nicht unterscheidbare Plasmaprogesteron- und Östrogenwerte trächtiger bzw. pseudoträchtiger Tiere (AITKEN, 1974 a, SEMPERE, 1977; HOFFMANN et al., 1978, SCHAMS et al., 1980). Die Anzahl ausgebildeter, aktiver C.l. korreliert nicht mit der Anzahl von Embryonalanlagen (BORG, 1970; HORAK, 1989). Eine Regression von C.l. wurde bei nicht tragenden Tieren erst im Anschluß an die Diapause beschrieben (HORAK, 1989). Da der Progesteronanstieg nach der Implantation keine morphologischen Veränderungen der C.l. zur Grundlage hat, wird vermutet, daß die Plazenta ähnlich wie bei Rind und Schaf (REINBOTH, 1980) ein Ort zusätzlicher Progesteronsynthese ist (HOFFMANN et al., 1978).

Dem Trophoblasten des Rehs wird ähnlich dem Interferon τ beim Rind und kleinen Wiederkäuern, dem sogenannten Conceptus specific protein (CSP) beim Schwein oder den drei Hauptproteinen beim Pferd sowie dem Chorio-Gonadotropin (CG) bei Primaten (FLINT et al., 1995; SPENCER et al., 1996) die Synthese eines oder mehrerer embryonaler Signalgeber für die Implantation zugeschrieben. Ein Nachweis von Interferon τ als Signalgeber für die Implantation ist aber beim Europäischen Reh bisher nicht gelungen (FLINT et al., 1994). Luteales Oxytocin vermittelt bei polyöstrischen Vertretern der Familie der *Cervidae* und *Bovidae* eine endometriale Prostaglandin $F_{2\alpha}$ - Synthese (PG $F_{2\alpha}$). Beim nicht tragenden Hirsch oder Rind kommt es infolge der PG $F_{2\alpha}$ - Synthese zur Luteolyse. Im tragenden Tier verhindert das Signalprotein Interferon τ durch eine Hemmung der Genexpression die PG $F_{2\alpha}$ - Synthese in der Uterusschleimhaut (ASHER et al., 1988; FLINT et al., 1990/91; SILVIA et al., 1991). Neuere endokrinologische Untersuchungen zur Monöstrie des Rehs zeigen, daß die Gelbkörperphase pseudogravider

Tiere durch die Gabe von Prostaglandin PG F_{2α} beendet werden kann (SEMPERE et al., 1992). Eine Luteolyse bei tragenden Tieren ist durch die Gabe von PG F_{2α} während der Diapause nicht induzierbar (GÖRITZ, persönl. Mitteilg., 1997). Auch durch die Gabe von Oxytocin kann trotz vorhandener Rezeptoren keine PG F_{2α} - Synthese provoziert werden (FLINT et al., 1994).

2.2. Ultraschall

2.2.1. Prinzip des Ultraschalls

Für das Verständnis der Entstehung sonographischer Bilder und der computergestützten Analyse von Sonogrammen ist die kurze Darstellung der physikalischen und technischen Grundlagen des Ultraschalls unerlässlich. Im folgenden wird das Prinzip der Ultraschallwellenerzeugung, -ausbreitung und deren Eigenschaften beim Auftreffen auf Grenzflächen kurz dargestellt.

Diagnostischer Ultraschall ist ein bildgebendes Verfahren. Für die Bildgebung werden hochfrequente Schallwellen (2 - 20 MHz) oberhalb akustisch wahrnehmbarer Frequenzen in das Untersuchungsobjekt ausgesendet und die modifizierten Echos wieder empfangen. Grundlage der Sonographie ist der systematische Zusammenhang zwischen histologischem Aufbau beschallten Gewebes und dessen Widerspiegelung in seinen physikalisch-akustischen Eigenschaften. Eines der in der Ultraschalldiagnostik verwendeten Prinzipien ist das Echo-Impuls-Verfahren. Dieses Verfahren beruht auf der Aussendung einer kurzen Serie von Ultraschallwellen und der Auswertung von Laufzeit und Änderung der Intensität der zurückkehrenden Echos. Im Schallkopf befindliche piezoelektrische Kristalle dienen dabei sowohl als Schallerzeuger sowie auch als Empfänger der Schallwellen. Die piezoelektrischen Elemente verformen sich mechanisch beim Anlegen einer elektrischen Spannung und erzeugen so bei Anlegen einer Wechselspannung Schallwellen einer bestimmten Frequenz. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Schallwellen ist jeweils von dem Medium abhängig, dessen Molekularstruktur in Schwingung versetzt wird. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit für Knochen beträgt 3500 m/s, für Luft dagegen nur 331 m/s. Geeicht sind die Ultraschallgeräte auf den Mittelwert der Ausbreitungsgeschwindigkeit im Weichteil- und Flüssigkeitsgewebe von 1540 m/s. Die ausgesendeten Ultraschallwellen werden an Grenzflächen unterschiedlicher Medien (Gewebe) gemäß der physikalischen Gesetze der Optik

- gedämpft,
- gestreut,
- gebrochen,
- reflektiert oder
- absorbiert.

Für die Erzeugung der Primärdaten für ein Ultraschallbild werden die Kristalle des Schallkopfes abwechselnd in einem Verhältnis von 1:100 auf Sende- und Empfangsbetrieb geschaltet. Beim Auftreffen der zum Schallkopf rückläufigen Echosignale werden die Kristalle durch die reflektierten Schallwellen mechanisch verformt und wandeln diese in elektrische Signale um. Die direkte Umformung des Ultraschallechos in eine elektrische Wellenform enthält den primären Informationsgehalt über ein beschalltes Gewebe und wird Radiofrequenzsignal (RF-Signal) genannt.

Die erzeugten RF-Signale werden im Ultraschallgerät weiterverarbeitet und abhängig von ihrer Intensität und Laufzeit unterschiedlichen Grauwerten zugeordnet, die in ihrer Gesamtheit ein Ultraschallschnittbild ergeben (Abb.2). Dieses Bildwiedergabeverfahren wird, da es sich an verschiedenen Helligkeitswerten (englisch: **Brightness**) orientiert, B-Bild-Verfahren genannt. Aufgrund ihrer vielfältigen, molekularen bzw. zellulären Struktur haben verschiedene Gewebe und damit verschiedene Organe unterscheidbare akustische Eigenschaften, was sich in Form unterschiedlicher Grauwertverteilungen im Ultraschallbild widerspiegelt. Die Qualität eines Ultraschallbildes ist von zwei gegensätzlichen Schallwelleneigenschaften abhängig. So ist das Auflösungsvermögen im Sonogramm umso höher, je kurzwelliger der ausgesandte Ultraschall ist. Gleichzeitig nimmt bei kürzeren Wellenlängen, d.h. höherer Frequenz die Eindringtiefe des Ultraschalls in das Gewebe ab. So muß, bezogen auf die jeweilige Ultraschallanwendung, der beste Kompromiß zwischen hohem Auflösungsvermögen und notwendiger Eindringtiefe der Schallwellen gefunden werden (Tab. 2).

Frequenz in MHz	Auflösung in mm		Eindringtiefe in mm
	axial	lateral	
3,5	1	2	160
5	0,6	1,2	100
7,5	0,4	0,8	50
10	0,3	0,6	40

Tab.2: Geräteunabhängige, physikalisch errechnete Auflösung und Eindringtiefe in Abhängigkeit zur Frequenz (SCHMIDT, 1994).

Andere Formen der Bildwiedergabe sind das A-Bild, verwendet in der Echoenzephalographie und Augenheilkunde, sowie das M-Bild in der Kardiologie zur

Darstellung von Bewegungsabläufen. Für die genaue Erklärung dieser beiden Wiedergabeverfahren wird auf einschlägige Ultraschallliteratur verwiesen (FRITSCH und GERWING, 1993; SCHMIDT, 1994; NYLAND und MATOON, 1995). Auch auf die Erklärung verschiedener Schallsonden sowie die Entstehung von Schallartefakten wird im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

2.2.2. Prinzip der Ultraschallerzeugung und Signalverarbeitung im Ultraschallgerät

Sowohl die Struktur eines beschallten Gewebes als auch die Signalverarbeitung im Ultraschallgerät haben neben der Schallfrequenz entscheidenden Einfluß auf die Graustufenverteilung im Ultraschallbild. Im Hinblick auf eine computergestützte Analyse von Ultraschallbildern sind die Gesetzmäßigkeiten bei der Ausbreitung von Ultraschallwellen im Gewebe, das Verständnis der Signalverarbeitung im Ultraschallgerät und die Möglichkeiten der Einflußnahme auf die Signalverarbeitung durch den Untersucher von besonderer Bedeutung.

Wie im Abschnitt 2.2.1. beschrieben, erfolgt die Erzeugung von Ultraschallwellen durch die im Schallkopf befindlichen piezoelektrischen Kristalle. Die sonographische Darstellung anatomischer Strukturen beruht auf der unterschiedlichen Transmission und Reflexion von Ultraschallwellen im Gewebe. Dabei wird ein Teil der das Gewebe durchdringenden Ultraschallenergie aufgrund von "Reibung" in Wärme umgesetzt. Dieser Energieverlust der Ultraschallwellen wird als Dämpfung bezeichnet und nimmt exponentiell zur Eindringtiefe zu. Die vom Gewebe reflektierten, abgeschwächten oder sich gegenseitig verstärkenden Ultraschallechos werden von den piezoelektrischen Elementen des Schallkopfes wieder empfangen und in elektrische Energie umgewandelt. Das dabei entstehende elektrische RF-Signal stellt sich nach seiner Verstärkung im Ultraschallgerät als eine Hochfrequenzkurve dar, deren Amplituden die Echointensitäten der einzelnen Gewebearten und Gewebegrenzen repräsentieren.

Für die spätere Digitalisierung und Zuordnung Grauwerten im Bildspeicher muß das RF-Signal aufgrund seines großen Dynamikumfangs von bis zu 100 dB logarithmisch komprimiert werden. Ausgedrückt wird die logarithmische Kompression des verstärkten RF-Signals am Ultraschallgerät durch den Dynamikbereich (angegeben in dB). Die Einstellung des Dynamikbereiches gibt das kleinste und größte Signal an, das registriert werden kann und in welchem logarithmischem Verhältnis diese zueinander stehen. Dabei werden bei der späteren Zuordnung stärkere Echos in weniger Grauwerte komprimiert als schwächere.

Strukturen mit gleichen akustischen Eigenschaften erzeugen, aufgrund der Dämpfung der Schallwellen auf ihrem Weg durch den Körper, schallkopffern eine schwächere Echoamplitude als schallkopfnah. Zum Ausgleich dieses Dämpfungsverlustes müssen im

Ultraschallgerät die Echoamplituden in Abhängigkeit zur Eindringtiefe verstärkt werden. Ziel der Signalverstärkung ist es, das Gewebe im gesamten Schallbereich ohne Dämpfungsverlust als gleichmäßiges Bild von hoher Qualität darzustellen. Der Umfang der Verstärkung, die sogenannte Tiefenausgleichsverstärkung (Time-Gain-Compensation, TGC), wird am Gerät vom Untersucher eingestellt (bis zu 100 dB). Der Tiefenausgleichsverstärkung folgt die Gleichrichtung (Demodulation) der Hochfrequenzkurve und Darstellung des Ultraschallechos in Gestalt einer Hüllkurve.

Für die Darstellung des verstärkten, gleichgerichteten RF-Signals im Bild wird das Signal digitalisiert und zwischengespeichert. Abhängig von der Größe des Speichers im verwendeten Gerät wird dabei die Vielzahl analoger Echoamplituden in einem Analog-Digital-Wandler 64 – 256 diskreten Werten zugeordnet. Die zugeordneten diskreten Werte 0 – 255 werden durch einen Digital-Analog-Wandler umgeformt in ein Videosignal und in Form von Grauwerten auf einer Fläche von z.B. 512 x 512 Bildpunkten auf dem Bildschirm dargestellt.

An verschiedenen Stellen der beschriebenen Signalverarbeitung kann der Untersucher über die Benutzerkonsole des Ultraschallgerätes das Signal modifizieren (Processing). Zu den drei Möglichkeiten der Signalvorverarbeitung (Pre-Processing) vor Digitalisierung und Speicherung des Echosignals gehören:

- die Dynamikbereicheinstellung,
- die Tiefenausgleichsverstärkungseinstellung und
- die Enhancementeinstellung.

Die Enhancement-Einstellung innerhalb des Bildspeichers ermöglicht dem Untersucher eine Kantenanhebung im Ultraschallbild, bei der es zu einer Kontrastverstärkung und größeren Inhomogenität der Ultraschallbildtextur kommt. Die Enhancement-Einstellung hilft so Bilddetails hervorzuheben.

Über die Benutzerkonsole kann auch eine Signalnachverarbeitung (Post-Processing) erfolgen in Form:

- der Rejekt-Einstellung und
- der Gammakorrektur,

die Charakteristika bei der Wiedergabe des Videobildes verändern.

Die Rejekt-Einstellung erlaubt die Unterdrückung kleinster Echosignale. Die sonographische Signalwiedergabe wird durch ein ständig vorhandenes Hintergrundrauschen beeinträchtigt, das durch die Rejekt-Einstellung bei der Wiedergabe des Videosignals unterdrückt werden kann. Mit der Rejekt-Einstellung werden allerdings auch schwache Signale des ursprünglichen Schallechos herausgefiltert und nicht mehr wiedergegeben, was einen geringen Informationsverlust zur Folge hat.

Mit Hilfe der Gamma-Korrektur kann der nichtlineare Zusammenhang des Monitors zwischen Eingangsspannung und Helligkeitswiedergabe auf dem Bildschirm ausgeglichen werden.

In der in Abbildung 2 dargestellten Signalverarbeitung im Ultraschallgerät werden die verschiedenen Möglichkeiten der Signalvor- und nachverarbeitung (Processing) in roter Farbe hervorgehoben. Es wird deutlich, wie die Ultraschallbildtextur beeinflusst werden kann, ohne daß sich die Struktur eines beschallten Gewebes verändert. Verschiedene Autoren beschreiben, unter Verwendung von Computersimulationen (FLAX et al., 1982; KIMME-SMITH et al., 1984) und Gewebephantomen (JAFFE et al., 1979; NASSIRI et al., 1982; MADRAZO et al., 1982), inwieweit die Ultraschallbildtextur sowohl von der Struktur des Gewebes als auch von fixen und veränderbaren Parametern des signalverarbeitenden Systems abhängt. So nehmen, mit Ausnahme des Rejekts, die übrigen, veränderbaren Ultraschallgeräteeinstellungen Einfluß auf die Bildwiedergabe. Bei einer computergestützten Analyse von Ultraschallbildern, sogenannten Sonogrammen, und dem quantitativen Vergleich sonographischer Untersuchungen, muß deshalb auf die Verwendung standardisierter Geräteeinstellungen geachtet werden (LIEBACK, 1993).

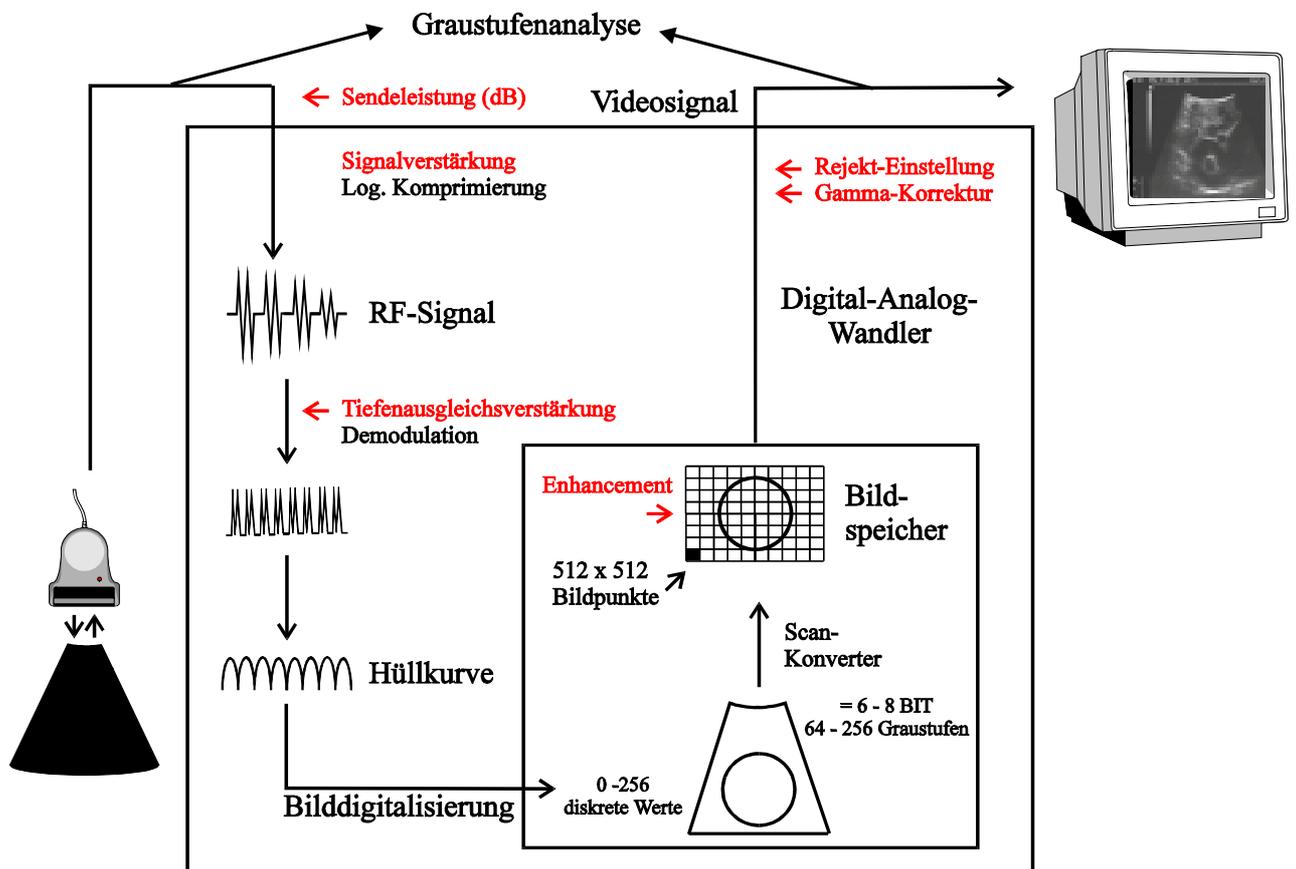


Abb.2: Verarbeitung des Ultraschallsignals im Ultraschallgerät und Möglichkeiten der Signalbeeinflussung durch den Untersucher.

Zusätzlich zu den Geräteeinstellungen kommt es in Abhängigkeit des Abstandes eines darzustellenden Gewebes vom Schallkopf und der lateralen Abweichung von der

Mittellinie ebenfalls zu Veränderungen der Gewebeschotextur, was sich in der Graustufenanalyse niederschlägt (LIEBACK, 1993; SKORTON et al., 1983). Begründet sind diese Veränderungen in einer Vielzahl physikalischer Faktoren des Systems (FLAX et al., 1981, 1982; AYLWARD et al., 1985). Einer quantitativen Analyse liegt daher eine immer gleiche Positionierung der zu analysierenden Struktur im Ultraschallbild sowohl axial als auch lateral zugrunde.

2.2.3. Biologische Sicherheit des Ultraschalls

Seit der Anwendung des diagnostischen Ultraschalls, definiert nach der Medizinischen Gerätevorschrift (MedGV), konnte bisher keine schädigende Wirkung auf lebendes Gewebe nachgewiesen werden. Kontrolluntersuchungen zu einer möglichen mechanischen, thermischen oder chemischen Schädigung von Gewebe durch diagnostischen Ultraschall lieferten keine Anhaltspunkte für Nebeneffekte bildgebender Ultrasonographen. Die geringe Schallintensität der in der Humanmedizin zugelassenen Ultraschallgeräte von 10 - 100 mW/cm führte zu keiner nachweislich biologisch schädigenden Wirkung (FISCHER et al., 1967; HELLMANN et al., 1970; KORANYI, 1972; ROTT, 1989). Trotz dieser Unschädlichkeit wird in der Humanmedizin die Anwendung des Ultraschalls in der Schwangerschaftsdiagnostik auf eine geringstmögliche Expositionszeit begrenzt, Farbdoppleruntersuchungen am Foetus beispielsweise maximal auf 15 Minuten pro Untersuchung. Dieser Vorgabe folgend sind auch die vorliegenden Untersuchungen am Rehwild auf ein Minimum an Untersuchungszeit begrenzt worden. Zentrale Einrichtungen wie die Europäische Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin und Biologie (EFSUMB) oder das Amerikanische Institut für Ultraschall in der Medizin (AIUM) haben die Aufgabe, neueste Erkenntnisse auf diesem Gebiet zu sammeln und in Empfehlungen zur Anwendung des Ultraschalls umzusetzen.

2.2.4. Stand der Ultraschalldiagnostik bei Haustieren auf dem Gebiet der Gynäkologie und Geburtshilfe

Einleitend zu den nachfolgenden Ausführungen über den Einsatz der Sonographie bei den Hirschen soll ein kurzer Abriß über die Entwicklung des Ultraschalls in Human-, Veterinär- sowie Zoo- und Wildtiermedizin gegeben werden.

Seit den Anfängen des medizinischen Ultraschalls in den 40er und 50er Jahren (HOWRY et al., 1952) als Weiterentwicklung militärischer, nicht-bildgebender Ultraschalltechniken (Sonar: **S**ound **N**avigation and **R**anging) hat sich die medizinische Sonographie als eine eigenständige Wissenschaft in Human- und Veterinärmedizin entwickelt. Gemessen am

diagnostischen Einsatz dieses kostengünstigen, bildgebenden Verfahrens, hat der Ultraschall seit 1992 in der Humanmedizin größere Bedeutung als das Röntgen erlangt (DEGUM 1996).

Auch in der Veterinärmedizin hat der Stellenwert des Ultraschalls in der bildgebenden Diagnostik seit seiner ersten Anwendung in den 60er Jahren stetig zugenommen. Die sonographische Trächtigkeitsdiagnostik beim Schaf (LINDAHL et al., 1966) war der Beginn der Anwendung des Ultraschalls in der veterinärmedizinischen Gynäkologie bzw. in der Veterinärmedizin überhaupt. Zum besseren Verständnis physiologischer und pathologischer Vorgänge leistete dieses neue bildgebende Verfahren seither einen wesentlichen Beitrag in der Ovar- und Trächtigkeitsdiagnostik, bei der Beobachtung der Embryonal- und Foetalentwicklung, in der geburtshilflichen Diagnostik sowie bei der Erkennung und Beobachtung krankhafter Prozesse an Genitalorganen. Mittlerweile wird der Ultraschall für die sonographische Untersuchung der Genitalorgane bei allen Haustierarten eingesetzt (KÄHN, 1991, FRITSCH und GERWING, 1993; NYLAND und MATTOON, 1995).

Abhängig von der Größe der Tierart erfolgt die gynäkologische, sonographische Untersuchung bei Hund und Katze transkutan (DAVIDSON et al., 1986, INABA et al., 1984) und bei Rind und Pferd transrektal (PALMER und DRIANCOURT 1980, PIERSON und GINTHER 1984a/b). Tierarten mittlerer Größe wie Schwein und kleine Wiederkäuer nehmen bei der Wahl des sonographischen Untersuchungsverfahrens eine Mittelstellung ein. Der transkutane Ultraschall, geeignet für die reine Trächtigkeitsdiagnostik, erlaubt nur eine eingeschränkte Feindiagnostik am Ovar und dem nicht-graviden Uterus bei Schwein und kleinen Wiederkäuern (KÄHN, 1991; WEITZE et al., 1989). Bei der transrektalen Applikation verhindern die geringen Größenverhältnisse eine direkte manuelle Führung der Ultraschallsonde im Enddarm, was zu einer ungünstigen Positionierung sowie ungenügender akustischer Ankopplung des Schallkopfes führen kann (BUCKRELL, 1988; FRAUENHOLZ, 1988). Zur Lösung dieses Problems wurden beim Schwein Ultraschallkopfadapter (Schallkopfträger) eingesetzt, die eine externe Führung des Ultraschallkopfes ermöglichen (FRAUENHOLZ et al., 1989).

Da die Integrität innerer Körperoberflächen nicht verletzt wird, gehört der transrektale ebenso wie der transvaginale und transoesophageale Ultraschall zu den nicht-invasiven, endosonographischen Untersuchungsverfahren. Ultraschall ermöglicht nicht nur eine Statusbeurteilung von Reproduktionsorganen, sondern auch die fortlaufende Beobachtung dynamischer Prozesse sowohl am Ovar als auch am Uterus. So ist z. B. am Ovar die Entwicklung zu sprungreifen Follikeln (Graaf'sche Follikel) sowie die Bildung von Gelbkörpern im Anschluß an eine Ovulation sonographisch für die Haustierarten Pferd, Rind und Schwein dokumentiert. Qualitative Unterschiede in der Gelbkörperstruktur, die beispielsweise durch Einbluten kurz nach der Ovulation und spätere Ausbildung aktiven, lutealen Gewebes hervorgerufen werden, können sonographisch verfolgt werden

(PALMER und DRIANCOURT, 1980; GINTHER und PIERSON, 1984b; PIERSON und GINTHER, 1984b, PIERSON und GINTHER, 1985a). Dynamische Prozesse während des Zyklus an Ovar und Uterus sowie während der Trächtigkeit wurden erst mit Einsatz der Sonographie für eine Beobachtung zugänglich. So ergaben erst sonographische Untersuchungen des Ovarialzyklus des Rindes, daß die Bildung eines sprungreifen Follikels keiner kontinuierlichen, sondern einer mehrwelligen Entwicklung unterliegt, bei der sich ein dominierender Follikel gegenläufig zu kleineren Follikeln entwickelt (SIROIS und FORTUNE, 1988; KÄHN, 1989c).

Vor der Implantation in die Uterusschleimhaut kann der Embryo aufgrund seiner geringen Größe sonographisch nicht dargestellt werden. Das ödematisierte, sekretorisch aktive Endometrium sowie die flüssigkeitsgefüllte Fruchtblase sind die ersten sonographisch detektierbaren Anzeichen, die als Kriterien für eine Trächtigkeitsdiagnose genutzt werden (GINTHER, 1986; KÄHN, 1985). Beim Pferd ergaben sonographische Verlaufsuntersuchungen während der Frühträchtigkeit, daß die Größenzunahme der Fruchtblase nicht, wie angenommen, linear erfolgt, sondern durch einen zeitweiligen Stillstand gekennzeichnet ist (GINTHER, 1986). Zusätzlich zeichnet sich die Fruchtblase vor ihrer Implantation im Endometrium durch ausgeprägte Wanderungsbewegungen aus. Die Steuerung dieser hohen Mobilität, ausgelöst durch Kontraktionen der Gebärmutterwand, scheint dabei vom Konzeptus auszugehen (LEITH und GINTHER, 1985). Die sonographische Darstellung des weiteren Trächtigkeitsverlaufes gibt sowohl Aufschluß über die physiologische Embryo- und Foetogenese (WHITE, 1985; KÄHN, 1989 b; KÄHN und LEIDL, 1987) als auch über eventuell auftretende pathologische Veränderungen der Fruchtanlagen (SQUIRES et al., 1988; GINTHER et al., 1985; STAUDACH, 1986). Letztlich ist die sonographische Bestimmung des Reproduktionsstatus sowie des Trächtigkeitsstadiums von Muttertieren für das generelle Zuchtmanagement und speziell für die an den erhöhten Nährstoffbedarf angepasste Fütterung von Muttertieren von großer Bedeutung (MEYER et al., 1993).

Der Entwicklung der klassischen Veterinärmedizin folgend, nahm der Einsatz der Sonographie bei Zoo- und Wildtieren seinen Anfang erst in den späten 70er Jahren mit sonographischen Untersuchungen bei Rhesusaffen (JAMES, 1976) und Flachlandgorillas (O'GRADY, 1978a). Ausgehend von diesen beiden Arbeiten beschrieben seither mehrere Autoren in generellen Übersichtsarbeiten die praktischen Einsatzmöglichkeiten, Besonderheiten und Probleme der Anwendung des Ultraschalls in der Zoo- und Wildtiermedizin (O'GRADY et al., 1978b; RANTANEN und EWING, 1981; RANTANEN, 1982; KARESH und FOWLER, 1983; Du BOULAY und WILSON, 1988) und bildeten so die Basis für die gerade in den letzten Jahren zunehmende Zahl von Publikationen auf diesem Gebiet (GÖRITZ, 1996 a).

2.2.5. Ultraschalldiagnostik bei Hirschen (*Cervidae*)

Die Familie der Hirsche umfaßt Spezies unterschiedlicher Körpermasse, von hasen- (*Pudu pudu*) bis pferdegroß (Rothirsch, *Cervus elaphus*) und größer (Elch, *Alces alces*). Die Sonographie wurde bei Hirschspezies mittlerer bzw. großer Körpermasse bisher nur für die Trächtigkeitsdiagnostik und Foetometrie eingesetzt. Als praktisch anwendbares Trächtigkeitsdiagnoseverfahren wurde Ultraschall erstmals beim Damwild (*Cervus dama*) eingesetzt (MULLEY et al., 1987). Tab. 3 gibt eine Übersicht sonographischer Publikationen zu Vertretern der Familie der Hirsche.

Tab. 3: Einsatz der Sonographie bei den Cerviden

Spezies	Autor	Ultraschall-einsatz	Gravidität (Tag)	Schallkopf (MHz)	Applikation	Adapter
Damhirsch (<i>Cervus dama</i>)	Mulley (1987)	TD*	30-50	3,5	transkutan	
	Asher (1990)	TD nach KB**	45	5	transrektal	—
	Asher (1992)	TD nach KB.	45	5	transrektal	—
	Jabbour (1991/3)	TD nach KB	50	7,5	transrektal	—
	Wilker (1993)	TD	49	5	transrektal	—
	Lenz (1993)	Foetometrie	50 – 100	5	transrektal	—
	Morrow (1995)	TD	45	5	transrektal	—
Mähnenhirsch (<i>Cervus timorensis</i>)	Bianchi (1994)	TD	0 - 252	5	transrektal	—
Sikahirsch (<i>Cervus nippon</i>)	Hama (1990)	TD	50	5	transrektal	—
Rothirsch (<i>Cervus elaphus</i>)	Rhind (1986)	TD	90	3,5	transkutan	
	Bingham (1988/90)	Foetometrie	40 - 132	5	transrektal	+
	White (1989)	Foetometrie	50 - 170	3,5	transkutan	
		Foetometrie	30 - 100	5	transrektal	—
	Wilson (1990)	TD	30 - 110	5	transrektal	+
		Kalbettermin				
	Revol (1991)	TD	6 - 42	5	transrektal	+
Willard (1994)	TD	180	5	transrektal	—	
Reh (<i>Capreolus capreolus</i>)	Asher (1995)					
	Sempere (1989)	TD	~30 p.i.+	5	transkutan	
	Hildebrandt (1995)	TD	während eD	7,5	transrektal	+
OvD++						
Hermes (1996)	TD	während eD	7,5	transrektal	+	
	OvD					

* TD: Trächtigkeitsdiagnostik

** KB: Künstliche Besamung

+ p.i.: post implantationem

++ OvD: Ovardiagnostik

Die sonographische Ovardiagnostik bei Hirschen mit Hilfe von Schallkopfadaptoren ist bisher nur in zwei Arbeiten beschrieben, die in Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit stehen (HILDEBRANDT et al., 1995b; HERMES et al., 1996). Oben erwähnte Schwierigkeiten bei der Führung, exakten Positionierung und akustischen Ankopplung des Schallkopfes bei Tierarten mittlerer Körpermasse (BUCKRELL, 1988) sind Ursache für die geringe Nutzung dieses bildgebenden Verfahrens in der Ovardiagnostik bei Hirschen.

2.2.5.1. Damhirsch (*Cervus dama*)

Erstmals bei Hirschen eingesetzt, gelang bei auf Farmen gehaltenen Damhirschen in Neuseeland mittels einer nur einminütigen, transkutanen Ultraschalluntersuchung in einem Zwangsstand (restraint shute) die sonographische Trächtigkeitsdiagnose ab dem zweiten Trächtigkeitsdrittel (MULLEY et al., 1987). Dieses einfache und schnelle Trächtigkeitsdiagnoseverfahren nutzten verschiedene Autoren bei Versuchen zur Künstlichen Besamung beim Damhirsch als Referenzmethode für den Nachweis vorhandener Trächtigkeiten (ASHER et al., 1990/92; JABBOUR, 1991/93; MORROW, 1995). In Anlehnung an Arbeiten beim Rotwild veröffentlichte LENZ et al. (1993) eine Wachstumskurve zur fetalen Altersbestimmung für das Damwild. Schallkopfadaptoren kamen beim Damhirsch aufgrund der geringen Körpergröße bisher nicht zum Einsatz.

2.2.5.2. Rothirsch (*Cervus elaphus*)

Die erste sonographische Beschreibung der Trächtigkeit beim Rothirsch gelang BINGHAM et al. (1988). Die Erstellung foetaler Wachstumskurven vom 30. bis 170. Tag der 233 Tage dauernden Trächtigkeit bei der Rothirschkuh ermöglicht, neben dem Nachweis der hohen Zuverlässigkeit der sonographischen Trächtigkeitsdiagnose ab dem 30. Tag, eine präzise Vorhersage des Kalbetermins mit einem Fehler von ± 1 Tag (WHITE et al., 1989; WILSON und BINGHAM, 1990; BINGHAM et al., 1990). REVOL und WILSON (1991) konnten bei einer Hirschkuh bereits am 7. Tag nach der Konzeption eine Frühträchtigkeitsdiagnose stellen. Als Parameter für eine so frühzeitige Diagnosestellung diente das ödematisierte Endometrium in Verbindung mit einem nur wenige Millimeter großen Trophoblasten.

2.2.5.3. Europäisches Reh (*Capreolus capreolus*)

Die Anwendung der Sonographie beim Europäischen Reh wurde bisher nur einmal beschrieben (SEMPERE et al., 1989). Die französischen Autoren konnten im Anschluß an die fünfmonatige eD, von August bis Dezember, Anfang Januar Anzeichen einer Trächtigkeit bei 29%, ab Mitte Januar bei allen trächtigen Tieren sonographisch beobachten. Embryonale Strukturen wurden erst Ende Januar sichtbar. Die ab Januar sonographisch dargestellte Embryonalentwicklung verlief synchron zum Anstieg des Plasmalogesteronspiegels. Aufgrund der kleineren anatomischen Dimensionen im Vergleich zu den oben genannten Hirscharten wurde die Trächtigkeitsuntersuchung beim Reh transkutan durchgeführt, da die Größe üblicher rektaler Ultraschallsonden aus dem Bereich der Veterinärmedizin eine transrektale Ultraschallapplikation bisher ausschloß. Detaillierte transrektale sonographische Untersuchungen von HILDEBRANDT et al. (1995 b) und HERMES et al. (1996) zu den dynamischen Veränderungen des Uterus und der Ovarien während der eD beinhalten erste Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und werden im Ergebnisteil ausführlich vorgestellt.

2.3. Die Graustufenanalyse - Quantitative Analyse sonographischer Bilder

In der Ultraschalldiagnostik gibt es physikalische, technische und physiologische Faktoren, die der Bildbeurteilung Grenzen setzen. Grundlegend ist die Frage der sonographischen Darstellbarkeit eines Organs. Damit verbunden sind Schwierigkeiten bei der akustischen Ankopplung, der Dämpfung von Ultraschallwellen beim Durchdringen des Gewebes. Auftretende Bildartefakte, die mit der tatsächlichen Gewebestruktur nicht korrelieren, stellen zusätzliche Störfaktoren dar. Weiter ist die physikalisch begründete Divergenz zwischen maximaler Eindringtiefe von Ultraschallwellen in ein Gewebe und dem dabei abnehmenden Auflösungsvermögen im Ultraschallbild, nach dem Prinzip je größer die Eindringtiefe desto geringer die Auflösung, ein limitierender Faktor bei der Beurteilung von Ultraschallbildern (Abschnitt 2.2.1.). Die Weiterentwicklung moderner Ultraschalltechnik ist verbunden mit neuen, höher auflösenden Geräten mit einer größer werdenden Zahl von Informationen pro Bild und Zeiteinheit. Diese Entwicklung zeigt allerdings zugleich eine weitere wesentliche Grenze bei der Bildbeurteilung auf: das menschliche Auge. Die Physiologie des menschlichen Auges erlaubt im allgemeinen lediglich die Unterscheidung ca. 25 verschiedener Grautöne. Ein Untersucher ist daher nur begrenzt in der Lage, den gesamten Informationsgehalt eines Ultraschallbildes mit bis zu 256 verschiedenen Grautönen im Detail zu erfassen. Auch die gleichzeitige Wahrnehmung einer Vielzahl von Bildelementen pro Zeiteinheit durch das menschliche Auge ist begrenzt. Bei geringfügigen Gewebetexturveränderungen im Ultraschallbild stößt der Betrachter bei

der qualitativen Beurteilung von Veränderungen auf subjektive Grenzen, die ihm durch seine visuellen Voraussetzungen vorgegeben sind. Die objektive Aufbereitung sonographischer Daten und damit die Zugänglichkeit von Detailinformationen des Ultraschallbildes erscheint daher als eine attraktive Erweiterung der diagnostischen Einsatzmöglichkeiten der Sonographie. Die quantitative Auswertung sonographischer Daten, die hohe biologische Sicherheit der Sonographie im Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren sowie seine Nichtinvasivität im Vergleich zu invasiven Untersuchungsmethoden, wie z. B. der Endoskopie oder Biopsie, ist Ursache für den zunehmenden Einsatz des Ultraschalls in der klinischen Diagnostik.

Die computergestützte Graustufenanalyse (GSA) ist in der Lage, alle Bildelemente eines Ultraschallbildes zu erfassen und ermöglicht so eine quantitative Charakterisierung einer Gewebetextur. Dabei wird die räumliche Verteilung verschiedener Graustufen im sonographischen Bild als Textur eines Gewebes bezeichnet. Geringste Veränderungen der histologischen Struktur eines Gewebes können so, basierend auf dem systematischen Zusammenhang zwischen histologischer Struktur und sonographischer Textur eines Gewebes, objektiv analysiert und beurteilt werden. Die Analyse einer sonographischen Gewebetextur kann eindimensional oder mehrdimensional erfolgen (SKORTON et al., 1983; PINAMONTI et al., 1988). Bei der eindimensionalen Analyse wird die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Grauwerte gemessen, ohne deren räumliche Anordnung mit einzubeziehen (Abb.3). Analysen höherer Dimensionen berücksichtigen zusätzlich die räumliche Beziehung der verschiedenen Grauwerte zueinander.

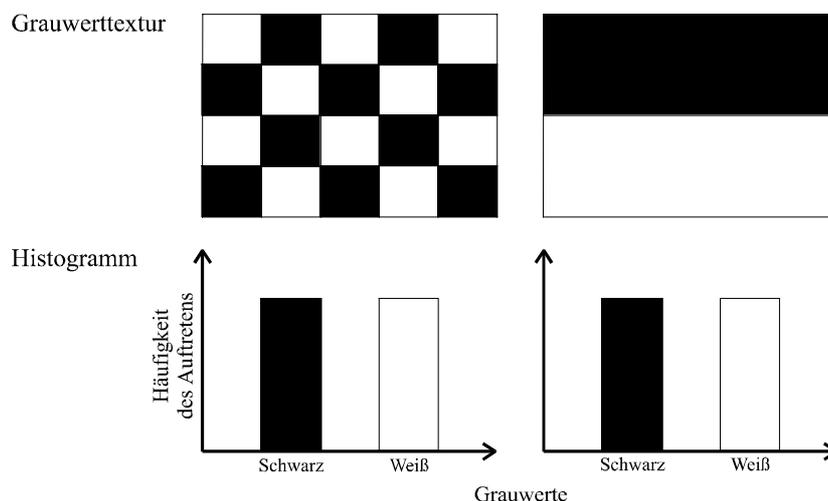


Abb.3: Zwei eindimensionale Histogramme zweier unterschiedlicher Schwarzweiß-Bilder

In der Humanmedizin wird die GSA in der Ultraschalldiagnostik in einem breiten Spektrum zur Beantwortung unterschiedlicher Fragestellungen eingesetzt. Das Ergebnis einer umfassenden On-line Literaturrecherche in den Datenbanken MEDLINE, BIOSIS und CABA (insgesamt 20.900 Journale, Kongreßberichte, Monographien) zeigte allerdings

einen bisher nur vereinzelt Einsatz einer computergestützten GSA auch in der Veterinärmedizin.

2.3.1. Entwicklung und Einsatz der Graustufenanalyse in der Humanmedizin

Es gibt verschiedene Primärquellen für die Durchführung der computergestützten Analyse des Ultraschallsignals.

Radiofrequenz Signal (RF-Signal)

Das RF-Signal enthält, da es sich um die direkte Umformung des empfangenen Ultraschallechos in eine elektrische Wellenform handelt, den größten Informationsgehalt über ein beschalltes Gewebe. Die weitere Verarbeitung dieses Signals im Ultraschallgerät bedeutet einen Informationsverlust. Verschiedene Arbeitsgruppen haben gezeigt, daß in der Analyse des RF-Signals eine Möglichkeit besteht, Gewebe sonographisch zu charakterisieren (DINES et al.1979; JOYNT et al., 1982; LATTANZI et al., 1987). Grundlegende Schwierigkeiten bei der Verarbeitung des RF-Signals, die andere Arbeitsgruppen dazu veranlaßte, auf andere Primärdaten für die Analyse zurückzugreifen, sind 1. die hohe Frequenz (20 MHz) mit der die Daten übernommen werden müssen, 2. die große Datenmenge, die gespeichert und verarbeitet werden muß, 3. aber auch der Umstand, daß handelsübliche Ultraschallgeräte zumeist keinen direkten Zugang zum RF-Signal ermöglichen.

In neuesten High-End-Ultraschallgeräten wird unter Einsatz hochleistungsfähiger Chiptechnologie die bisherige Signalverarbeitung (Abschnitt 2.2.2.) durch die direkte Digitalisierung und Verarbeitung des HF-Signals zum Videosignal ersetzt und somit der entstehende Informationsverlust minimiert (ATL, MSM™ Technologie, 1997). Diese neue Form der Signalverarbeitung erlaubt den einfachen Zugriff auf das digitalisierte RF-Signal und bietet so zukünftig einen neuen Ansatz für die computergestützte Analyse von Sonogrammen.

Videosignal

Der praktikabelste Zugriff auf Daten des Ultraschallechos ist das Videosignal. Durch die geräteinterne Signalverarbeitung und logarithmische Komprimierung des Ursprungssignals kommt es zu einem geringgradigem Informationsverlust, der bei der computergestützten Analyse des Videosignals nicht berücksichtigt wird. Bei der Analyse des Videosignals wird ein Videostandbild digitalisiert und in einer definierten Region jedem Bildpunkt (Pixel) ein bestimmter Grauwert zugeordnet. So kann die Häufigkeit von bis zu 256 verschiedenen, im Sonogramm vorkommenden Graustufen und deren räumliche Verteilung ausgewertet werden. Nachfolgend werden beispielhaft verschiedene Anwendungsbereiche der Humanmedizin dargelegt, bei denen diese Form der Ultraschallbildanalyse erfolgreich eingesetzt wurde.

2.3.1.1. Kardiologie

In der Echokardiographie wurde zunächst die GSA in experimentellen Studien bei Hunden zur Beschreibung frischgeschädigter Herzmuskelareale nach einem induzierten Herzinfarkt eingesetzt (SKORTON et al., 1983, FRAKER et al., 1988, TAK et al., 1988). Da sich herausstellte, daß bei vielen Fragestellungen die eindimensionale Analyse der Graustufenverteilung für die Beschreibung von Gewebetexturunterschieden nicht ausreichte, wurde in der weiteren Entwicklung der GSA versucht, die räumliche Verteilung der Grauwerte zu berücksichtigen. Die Einbeziehung der räumlichen Verteilung der Grauwerte ermöglichte die quantitative echokardiographische Diagnose bindegewebiger Umbauprozesse bzw. perivaskulärer Proteinablagerungen im Herzen (myokardiale Amyloidose) (PINAMONTI et al., 1988) sowie die Diagnose von Myokardfibrose und akuter Myokarditis (FERDEGHINI et al., 1991, LIEBACK et al., 1996). In der Herzchirurgie ist eine Herzmuskelbiopsie die Methode der Wahl zur Erkennung kardialer Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantation. Mit dem Bestreben, diese invasive Methode durch ein nichtinvasives Verfahren zu ergänzen, wurde die GSA erfolgreich zur Diagnose akuter Myokarditis infolge einer postoperativen Abstoßungsreaktion eingesetzt (LIEBACK et al. 1989, HARDOUIN et al., 1994, STEMPFLE et al., 1994, LIEBACK et al., 1994).

2.3.1.2. Innere Medizin

Bei der Diagnose diffuser Lebergewebsveränderungen erwies sich die quantitative Gewebecharakterisierung als eine wertvolle Ergänzung der subjektiven Bildbeurteilung (RÄTH et al., 1984). Eine differenziertere sonographische Diagnose chronischer Leberparenchymschäden wie z. B. der Leberverfettung (Steatosis hepatis), der Leberzirrhose oder Kombinationen aus beiden ist allerdings bisher mit Hilfe der GSA noch nicht möglich (OOSTERVELD et al., 1993; LAYER et al., 1990/91; RÄTH et al., 1985; SCHUSTER et al., 1988). Bei der sonographischen Beurteilung tumoröser Entartungen im Hinblick auf ihre Dignität fand die Texturanalyse Anwendung in der Schilddrüsendiagnostik (HIRNING et al., 1989).

In der Milzdiagnostik gelang mit Hilfe der ein- und mehrdimensionalen GSA eine differenzierte Unterscheidung von gesundem Milzgewebe und durch Megalie unterschiedlicher Ursache verändertem Milzgewebe. Da die Milzbiopsie generell und insbesondere bei einer haematologisch veränderten Milz mit einem hohen Gesundheitsrisiko verbunden ist, leistet die GSA einen wesentlichen Beitrag zu der Beurteilung von Veränderungen (BLECK et al., 1997).

2.3.1.3. Frauenheilkunde

In der Frauenheilkunde wird die GSA in der Diagnostik von Brusttumoren verwendet. Die Ultraschallbildanalyse zeigte deutliche Unterschiede zwischen Karzinomen und Fibromen sowie zwischen proliferativen Brustkrankungen und Fettgewebsnekrosen (GARRA et al., 1993; BADER et al., 1994). Die hohe Sensitivität der quantitativen Gewebedifferenzierung ermöglichte die sonographische Unterscheidung gutartiger von bösartigen Tumoren, wodurch die Zahl bisher erforderlicher Gewebebiopsien in der Brustkrebsdiagnostik reduziert werden konnte (GARRA et al., 1993). In der Schwangerschaftsdiagnostik erlaubte der Einsatz der GSA, neben der Charakterisierung altersbedingter bzw. durch Tabakkonsum verursachter Veränderungen der Plazenta, die Vorhersage eines schwangerschaftsassozierten Bluthochdrucks. Das frühzeitige Wissen über eine solche Bluthochdruckgefahr hat Auswirkung auf die vorgeburtliche medizinische Versorgung der Patientin, um foetalen Schädigungen vorzubeugen (MORRIS, 1988). Eine zentrale Rolle in der Foetaldiagnostik nimmt die Beurteilung der foetalen Lungenreife ein. Durch den quantitativen Vergleich von foetalem Lebergewebe, dessen Echotextur sich im Laufe der Foetalentwicklung nur gering verändert, und sich in seiner Echotextur veränderndem, foetalem Lungengewebe, konnte in Abhängigkeit zur Schwangerschaftsdauer die Reife der foetalen Lunge beurteilt werden. Diese neue Methode der Lungenreifediagnostik trägt somit dazu bei, Geburtsrisiken frühzeitig erkennen zu können (SOHN et al., 1992).

2.3.2. Einsatz der Graustufenanalyse in der Veterinärmedizin

Im Vergleich zur Humanmedizin kam die quantitative Gewebedifferenzierung in der Veterinärmedizin zur Beschreibung geringster Gewebetexturveränderungen bisher nur vereinzelt zum Einsatz. Zum besseren Verständnis struktureller und funktioneller Veränderungen während des Follikelwachstums und der Regressionsphase wurde bei Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) die Wandstruktur sprungreifer Follikel sonographisch quantifiziert (ADAMS et al., 1992).

Zur Erhebung von Beurteilungskriterien *in vivo* zur anatomischen Struktur der Milchdrüse wurden die Euter laktierender Schafe sonographisch untersucht. Die nachfolgende GSA erlaubte eine objektive Beurteilung von Milchdrüsenstrukturen und stellte eine nützliche Grundlage für *in vivo*-Studien der Milchdrüsenmorphologie, Milchproduktion sowie zur Pathogenese von Eutererkrankungen beim Schaf dar (RUPERTE et al., 1994).

3. Material und Methoden

3.1. Postmortale Untersuchungen

In Hinblick auf die reproduktionsbiologischen Besonderheiten des Rehs während der eD bildeten die sonomorphologischen Kenntnisse aus dem Haus- und Nutztierbereich keine ausreichende Basis für eine eindeutige Interpretation genitaler Strukturen bei dieser Wildtierart. Daher wurden in Vorstudien postmortale Ultraschalluntersuchungen *in situ* und *ex situ* durchgeführt: 1. zur Erarbeitung einer standardisierten, transrektalen Untersuchungstechnik und 2. zur Erhebung sonographischer Basisdaten für die spätere Bewertung von *in - vivo* - Befunden. Das Untersuchungsmaterial bestand zum einen aus isolierten Urogenitalorganen (Vulva, Vagina, Uterus, Ovarien, Urethra, Blase) zum anderen aus Tierkörpern, die dem IZW in gekühltem Zustand zur Sektion zugegangen waren.

Neben der Organ - Sonomorphologie stand *in situ* das Studium der Topographie des Verdauungs- und Urogenitaltraktes im Vordergrund. Sowohl die Lagebeziehungen der Organe zueinander, als auch die Lage und Auslenkungswinkel des rektal eingeführten Schallkopfes wurden bei den Untersuchungen festgehalten und bei der anschließenden Sektion photographisch dokumentiert. Die Untersuchung isolierter Urogenitalorgane im Wasserbad (NaCl, 0,9 %) ermöglichte eine schallkopfnaher Darstellung der Organe, wobei Wasser als echoleere Vorlaufstrecke diente. Anders als *in situ* werden dabei Brechung, Reflektion oder Absorption von Schallwellen durch benachbarte Gewebe und Organe stark reduziert. Den sonographischen Untersuchungen an isolierten Organen und *in situ* - Untersuchungen schloß sich die Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse auf *in vivo* Verhältnisse an.

Tab. 4: Anzahl *in situ* und *ex situ* sonographisch untersuchter Urogenitaltrakte.

	Genitaltrakt	Ovar	Corpus luteum	Follikel >1 mm	Embryo/ Foetus
<i>in situ</i> / <i>ex situ</i>	17	30	37	24	14

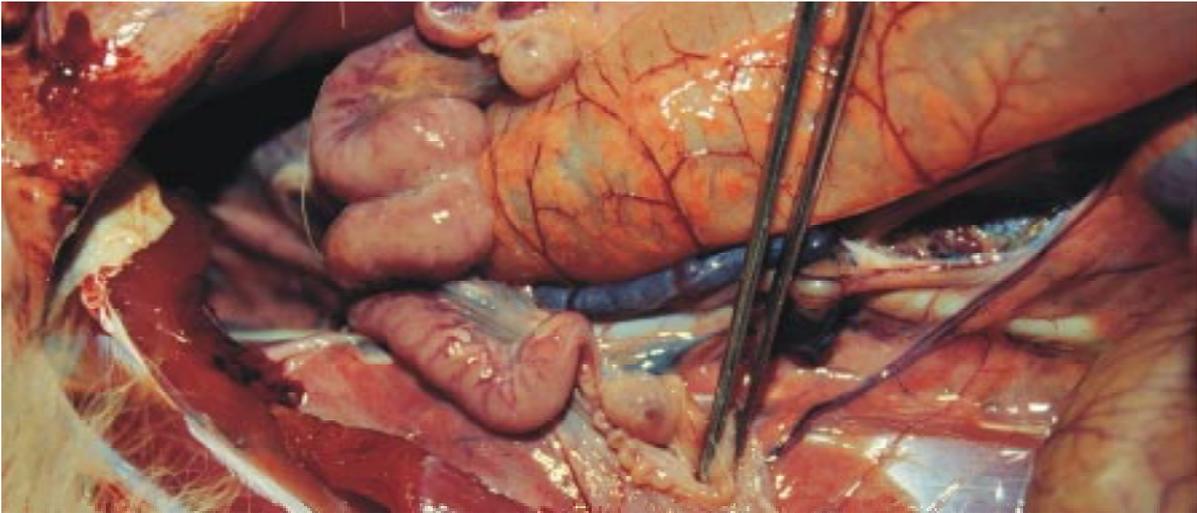


Abb.: 4: Postmortales Präparat des weiblichen Genitaltraktes eines Europäischen Rehs. Unter dem Rektum der widderhornartig aufgerollte Uterus. Man beachte die kleinen Größenverhältnisse der Ovarien und der Follikel. Unterhalb des linken Ovars ist der stark geschlängelte Eileiter sichtbar (←).

3.2. Tiermaterial

Es wurden adulte, weibliche Rehe mit einem Mindestalter von 2 Jahren an drei geographisch unterschiedlichen Orten in Europa untersucht.

- I. Niederfinow, Deutschland (52°44' Nord / 13°50' Ost)
- II. Czempin, Polen (52°8' Nord / 16°52' Ost)
- III. CNRS-CEBC, Chize', Frankreich (46°10' Nord / 0°30' Ost)

Tab 5.: Untersuchungszeitraum und Anzahl sonographisch untersuchter Tiere.

Ort (Jahr)	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Feb.	März	April
I. (1994/96)	4	6	4	3	9	7	6	9	-	2
II. (1994)	-	2	-	2	2	2	2	-	-	3
III. (1995/97)	-	-	-	-	-	-	44	-	-	-

Bei den Individuen des Ortes I. und II. handelte es sich um Tiere aus Gehegehaltung, an denen Verlaufsuntersuchungen in monatlichen Abständen, beginnend in der Brunstzeit, über den Zeitraum der eD bis in die Hochträchtigkeit durchgeführt wurden. In einer zusätzlichen Untersuchungsreihe wurden vier Tiere im Zeitraum der Brunst jeweils in einem Abstand von neun Tagen untersucht.

Tab. 6: Untersuchungsprofil während der Brunstperiode

Datum (1997)	14. Juli	23. Juli	1. August
Anzahl untersuchter Tiere	9	7	7

Die untersuchten Tiere wurden in einem Geschlechterverhältnis von 1.3 – 1.5 (männlich, weiblich) im Gatter gehalten. Am Ort III erfolgten 1995 und 1997 im Rahmen einer Umsetzaktion einmalige sonographische Trächtigkeitsuntersuchungen an Rehen einer wildlebenden Population. Die Tiere wurden zwischen dem 21.-25. Januar mit Netzen gefangen und zu einem Untersuchungsort transportiert.

3.3. Immobilisation

Rehe sind streßempfindliche Tiere, welche auch handaufgezogen die Prozedur einer transrektalen sonographischen Untersuchung ohne Immobilisation nicht dulden. Zur Vermeidung von Verletzungen durch eine rein mechanische Ruhigstellung und zur Streßminderung wurden je nach Untersuchungsanlaß die Tiere sediert oder narkotisiert. Um die sichere und kontrollierte Applikation eines Sedativums bzw. Narkotikums zu gewährleisten, wurden die Tiere zunächst gefangen. Tiere aus Gehegehaltung wurden dazu in einer Fangvorrichtung festgesetzt, die als Bestandteil des Geheges sonst frei passierbar ist. Wildlebende Tiere, zuvor in Fangnetze getrieben, wurden einzeln in Tiertransportkisten zum Ort der Untersuchung gebracht. Für eine einmalige transrektale Trächtigkeitsuntersuchung wurden die Tiere von den französischen Tierärzten durch die intramuskuläre Gabe 0,75mg/kg KM Tiletamin in Kombination mit 0,75 mg/kg KM Zolazepam (Tilest®, Parke & Davis) nur sediert. Die Sedation erwies sich als ausreichend für eine kurzzeitige Ruhigstellung und Akzeptanz der rektalen Manipulation. Zur Vorbereitung für eine eingehende transrektale Ultraschalluntersuchung wurden die Tiere unter Verwendung von 1,5mg/kg KM Xylazin (Rompun®, Bayer) in Kombination mit 5mg/kg KM Ketaminhydrochlorid (Ketamin, Albrecht) narkotisiert. Um die Verteilung und Resorption der Injektionsnarkotika zu beschleunigen, erfolgte die Zugabe von 150 I.E. Hyaluronidase (Hylase®, Impfstoffwerk Dessau). Die Applikation erfolgte intramuskulär mittels eines Blasrohrprojektils (Dan-Inject). Die Wirkung des Xylazins wurde im Anschluß an die Untersuchung durch die intravenöse Gabe von 0,125 mg/kg KM des Antidots Yohimbin (Caelo) aufgehoben. Vereinzelt auftretende Abwehrbewegungen sedierter Tiere oder nachlassende Narkosewirkung machten, neben einer medikamentellen Immobilisation, teilweise zusätzliche mechanische Immobilisationsmaßnahmen wie die manuelle Fixierung und Gesichtsfeldverdunkelung notwendig.

3.4. Sonographie

3.4.1. Vorbereitung der Tiere

In der *Ampulla recti* vorhandener Kot ist bei der transrektalen Sonographie Ursache für eine ungünstige Schallkopfkopplung, die Bildung von Schallartefakten oder totale Schallauslöschung. Zur Umgehung dieser für die Bildqualität entscheidenden Störfaktoren wurde nach Entleerung der *Ampulla recti* mit Hilfe eines Klistiers ein Einlauf mit körperwarmen Wasser verabreicht. Für die Einführung der Ultraschallsonde ins Rektum und die endosonographische Untersuchung wurden die Tiere anschließend in Brustbauch- oder Seitenlagelage gebracht. Sämtliche rektalen Manipulationen wurden obligatorisch unter Verwendung von Ultraschallgel durchgeführt (Aquasonic[®], Orange, NJ, USA), um Schleimhautläsionen auszuschließen und eine artefaktfreie Schallkopfkopplung (Luft, Kotpartikel) zu gewährleisten.

Für transkutane Ultraschalluntersuchungen wurde in der *Regio inguinalis* ein kleines Schallfenster rasiert und mit Ultraschallgel eine ausreichende Ankopplungsfläche geschaffen. Transkutane Untersuchungen erfolgten prinzipiell in Seitenlage.

3.4.2. Ultraschallsystem

Eingesetzt wurde ein portables Ultraschallgerät (CS 9100, Physia, Neu-Isenburg). Die technischen Parameter des Gerätes und die während der Untersuchungen verwendeten Einstellungen sind in Tabelle 7 zusammengefaßt. Die genaue Kenntnis und Beibehaltung dieser Geräteeinstellungen während des Versuchsablaufes sind für die computergestützte GSA von großer Bedeutung.

Wie in Abschnitt 2.2.2. beschrieben, gibt es verschiedene Möglichkeiten des Signal-Processings, welche die Wiedergabe im Videobild beeinflussen. Mit dem Ziel, sonographisch dokumentierte Strukturveränderungen zu quantifizieren und diese intraindividuell (ein Reh / unterschiedliche Untersuchungstage) oder interindividuell (mehrere Rehe / gleicher Untersuchungstag oder mehrere Rehe/unterschiedliche Untersuchungstage) vergleichen zu können, wurden die aufgelisteten Geräteeinstellungen standardisiert und während des Versuchablaufes konstant gehalten.

Tab. 7: Technische Parameter des Ultraschallgerätes CS 9100 und verwendete Einstellungen.

Technische Parameter	Modulationmöglichkeiten		Einstellungen
Dynamikbereich	anwählbar in dB	1 - 4	1
Enhancement	Kantenanhebungsstufen	1 - 4	2
Tiefenausgleich	Nahfeld oder Fernfeld	1 - 2	1
	Tiefenkorrektur	Stufenlos	35/43
Fokussierung	Sendefokussierung	1 - 2, 2 - 3, 3 - 4	1 - 2
		Empfangsfokussierung	variabel
	Bildspeicher	512 x 512 x 6 Bit	64 Graustufen
Sichtfeld	Tiefenbereich in mm	40/50/65/85/1 10	40/50
		Breite	weit / eng
	Post-Processing	Gamma-Korrektur	1 - 4

Für die transrektale Ultraschallapplikation wurde ein intraoperativer 7,5 MHz Konvex-Schallkopf (EUP-F334, 40R Fingertip) und für die transkutane Anwendung ein 3,5 MHz Konvex-Schallkopf (EUP-C318[T], 76R) verwendet. Da eine manuelle rektale Schallkopfführung aufgrund der geringen topographisch - anatomischen Dimensionen beim Reh nicht möglich ist, wurde für die intraoperative Ultraschallsonde am IZW (HILDEBRANDT et al., 1996) ein spezieller Schallkopfadapter entwickelt (Chirurgiemechnik, Fa. Schnorrenberg, Berlin) (Abb. 5). Die kantenfreie Verarbeitung des Adapters stellt, unter Verwendung von Ultraschallgel, die atraumatische Einführung und Manipulation des Adapters im Enddarm sicher. Verschiedene Längen des Schallkopfträgers (10/30/50 cm) und Winkelung des Adapters im Schallkopfbereich schaffen die Voraussetzung, bei unterschiedlicher Eindringtiefe den bestmöglichen Druckpunkt auf die Ultraschallfläche der Sonde und somit ideale Ankopplungsverhältnisse zu erzeugen. Die Wahl des Adapters ist abhängig von der Distanz ab Anus der intra-pelvin bzw. intra-abdominal gelegenen Organe, die zur Darstellung kommen sollten:

Adapter I:	kaudale Urogenitalorgane	Vagina, Urethra, Blasenhal	bis 10 cm
Adapter II:	innere Genitalorgane, Harnableitende Organe	Vagina, Cervix, Uterus, Ovarien, Urethra, Blase	bis 30 cm
Adapter III:	abdominale Organe	Niere, Nebenniere, Leber, Lnn.	bis 50 cm

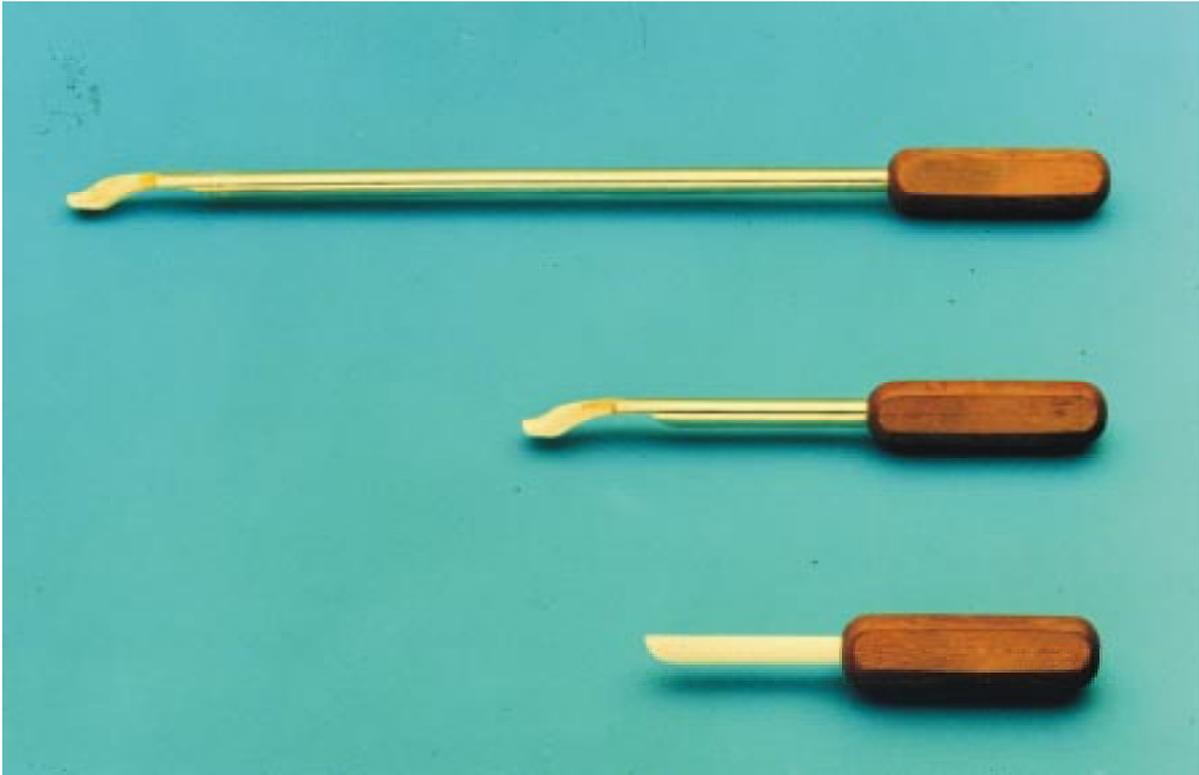


Abb. 5: Ultraschallkopfadapter I – III (von unten nach oben) für die Transrektale Adaptersonographie mit Hilfe einer miniaturisierten 7,5 MHz Konvex – Sonde.



Abb.6: Transrektale Ultraschalluntersuchung beim Reh mit Hilfe eines Schallkopfadapter.

3.4.3. Ultraschalluntersuchung

3.4.3.1. Untersuchungsgang

Alle Untersuchungen orientierten sich an einem schematisierten Untersuchungsgang. Hierbei wurden die inneren Genitalorgane mit Hilfe des Schallkopfadapters II in kaudokranielar Richtung untersucht. Dabei bildeten die Ovarien nach sonographischer Befunderhebung an Vagina, Cervix und Uterus den Abschluß der sonographischen Untersuchung. Parallel dazu wurden die Beckenanteile der harnableitenden Organe beurteilt (Urethra, Blase). Diesem ersten Teil der Untersuchung schloß sich, unter Zuhilfenahme des Schallkopfadapters III, die Darstellung weiterer abdominaler Organe an (Niere, Nebenniere, Leber, abdominale Lymphknoten).

3.4.3.2. Transrektale Adaptersonographie (TAS)

Die in dieser Arbeit dargestellte Transrektale Adaptersonographie (TAS) ist eine von mehreren endosonographischen Untersuchungstechniken, die speziell für die Anwendung der Sonographie in der Zoo- und Wildtiermedizin am IZW entwickelt worden ist (GÖRITZ et al., 1994 a, b; HILDEBRANDT et al. 1995 a, b, c). Der in dieser Arbeit für die TAS verwendete Konvex-Ultraschallkopf (7,5 MHz) gestattet ausschließlich die Erstellung von Ultraschallbildern longitudinaler Schnittebenen. Durch Drehbewegungen des Schallkopfadapters in seiner Längsachse können dabei die Organe in einer Vielzahl von Schnittebenen sonographisch dargestellt werden. Zusätzlich waren manuelle Lageveränderungen der zu untersuchenden Genitalorgane, insbesondere der Ovarien, von außen durch die Bauchwand manchmal eine hilfreiche Ergänzung der Standarduntersuchungstechnik. Eine endosonographischen Untersuchung dauerte 10 - 15 Minuten. Der Untersuchung schloß sich eine Prüfung des Ultraschallkopfes und Schallkopfadapters auf etwaige Anzeichen von Schleimhautblutungen an.

3.4.3.3. Transkutaner Ultraschall

Bei transkutanen Untersuchungen erfolgte im Gegensatz zur TAS die Darstellung der Organe in longitudinaler und transversaler Schnittebene (3,5 MHz Konvex-Schallkopf). Bei den vorliegenden Untersuchungen in der Hochträchtigkeit richtete sich die Wahl der Schnittebene nach der intrauterinen Lage des Fetus.

Längen- und Flächenmessungen sowie schriftliche Charakterisierung markanter Strukturen während der Untersuchung wurden mittels im Ultraschallgerät integrierter Meß- und Schreibfunktionen am Standbild (Freeze – Funktion) vorgenommen.

3.4.4. Dokumentation

Die Aufzeichnung aller Ultraschalluntersuchungen in ihrer Gesamtlänge erfolgte mittels professioneller Super-VHS (S-VHS) Videorecorder (9100 SVO-P, Sony, Köln; AG 7355 Panasonic, Wiesbaden) auf S-VHS Videokassetten (S-VHS Pro SE-240 N, Fuji, Kleve). Diese qualitativ hochwertige Form der Dokumentation ermöglichte die retrospektive Beurteilung der gesamten Untersuchung und gewährleistete gleichzeitig den geringstmöglichen Informationsverlust sonographischer Daten. Ein externer Mikrophoneingang am Videogerät erlaubte zusätzlich die direkte Einspeisung des Originaltons der Untersuchung auf die Audiospur des Magnetbandes. Zusätzlich konnten charakteristische Standbilder während der Untersuchung auf einem Thermoprinter (P 68-E, Mitsubishi, Tokyo) ausgedruckt werden und vervollständigten das schriftliche Protokoll. Bei der Erstellung von Schwarzweiß - Bildern ausgesuchter Sonogramme im Rahmen dieser Arbeit wurde in jedes Sonogramm ein weißer Balken integriert, der immer eine Länge von 10 mm repräsentiert.

3.5. Erarbeitung der Methodik zur retrospektiven Bildanalyse von Sonogrammen

3.5.1. Prüfung der Kompatibilität verwendeter Bildanalyse - Software mit der Computerhardware

Vor der quantitativen Analyse von Sonogrammen wurde die Kompatibilität zweier Bildanalysesoftware - Programme mit der Computerhardware im Hinblick auf ihre Meßgenauigkeit hin überprüft:

- I. Echo 1.1, Deutsches Herzzentrum Berlin
- II. analySIS[©] PRO 2.10.100, Soft-Imaging System GmbH, Münster

Für die experimentelle Computersimulation einer GSA wurden 10 mit unterschiedlichen Grauwerten eingefärbte Quadrate (125 x 125 Pixel) in einem Graphik-Programm (Corel-Draw 5.0, Corel Corp., Rüsselsheim) erstellt. Die RGB - Daten dieser 10 Quadrate wurden in jeweils beide Bildanalyseprogramme importiert und quantitativ analysiert (Tab.: 8).

Tab. 8: Statistische Auswertung der computersimulierten Graustufenanalyse.

Software	Echo 1.1			analySIS		
	Mittelwert	Median	Standard- Abweichung	Mittelwert	Median	Standard- Abweichung
	x_B	\tilde{x}	s	x_B	\tilde{x}	s
10	228	215.39	54,13	230	230	0.00
20	203	191.88	48,22	205	205	0.00
30	177	167.42	42,01	179	179	0.00
40	152	143.91	36,17	154	154	0.00
50	126	119.45	30,02	128	128	0.00
60	101	95.94	24,11	103	103	0.00
70	75	71.48	17,96	77	77	0.00
80	50	47.97	12,06	52	52	0.00
90	24	23.51	5,91	26	26	0.00
100	0	0.00	0.00	1	1	0.00

Zur Erstellung eines Grauerthistogramms wurde ein Analysefenster von 100 x 100 Pixel im zu analysierenden Quadrat plaziert. Die GSA dieser definiert eingefärbten Quadrate läßt im Falle der Kompatibilität zwischen Bildanalyseprogramm und Computerhardware ein auf einen Grauton konzentriertes Grauerthistogramm erwarten. Die statistische Auswertung müßte dann einen numerisch gleichen Mittelwert und einen Median mit einer Standardabweichung von 0 liefern. Die Untersuchung ergab aber eine Inkompatibilität der Software Echo 1.1 mit der zur Verfügung stehenden Computerhardware. Das Softwareprogramm analySIS[©] Pro erwies sich als meßgenau und damit kompatibel. Nachfolgend wurde daher ausschließlich das erfolgreich getestete Bildanalyseprogramm verwendet.

3.5.2. Datenkonvertierung und Speicherung

Für die retrospektive Bildanalyse wurde im Videorecorder ein Videostandbild mit Hilfe eines BNC-Kabels über die Synchronschnittstelle eines RGB-Eingangs in den Computer (Speedstar Plus Vers. 4.23[©] Diamond Computer Systems, Inc., USA) eingespeist. Die Computerhardware bestand aus einem 486 DX Main Prozessor, 32 MB Arbeitsspeicher (RAM), einer 500 MB großen Festplatte sowie einer Graphikkarte (ET 4000) für die

computerinterne Bildverarbeitung. Das Bildanalyseprogramm wurde entsprechend den Anforderungen für die Analyse von Ultraschallbildern konfiguriert (Monochromes Eingangssignal, 0 - 255 Graustufen, 8 bit). Da der Datenumfang digitalisierter Ultraschallbilder die Speicherkapazität der eingebauten Festplatte eines Computers schnell auslastet, wurden die digitalisierten Bilder, um sie für eine erneute Darstellung und Bearbeitung zugänglich zu machen, im TIF-Format mit Hilfe eines computerexternen Festplattenlaufwerkes auf wechselbaren Festplatten (105 MB / 270 MB, SyQuest[®] Technology, Inc., Fremont, USA) abgespeichert.

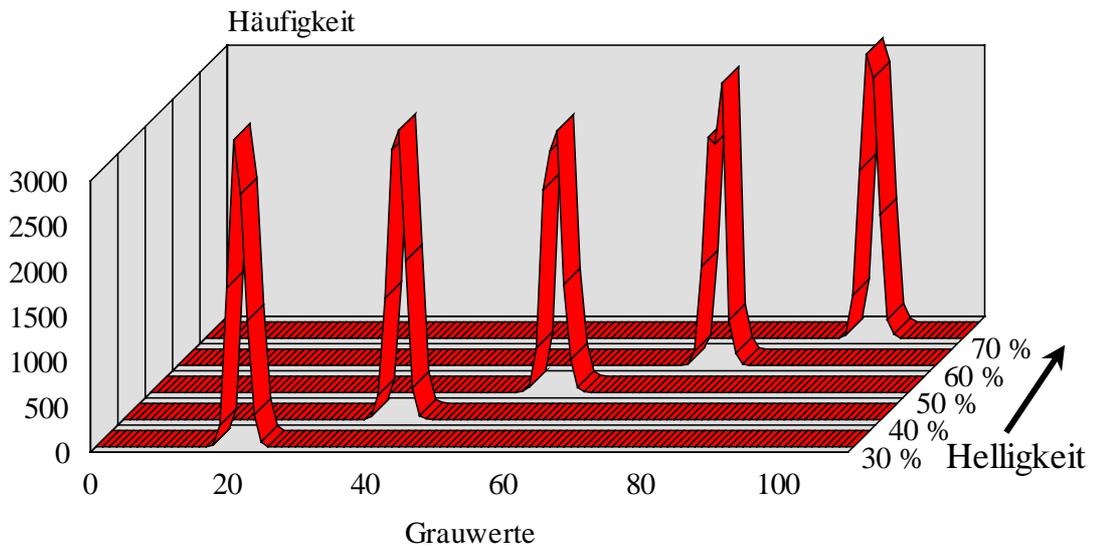
3.5.3. Struktur und Organvermessungen an digitalisierten Standbildern

Die Nutzung verschiedener Eindringtiefen des Ultraschalls oder unterschiedlicher Ultraschallsonden haben Einfluß auf den Vergrößerungsmaßstab des Ultraschallbildes. Voraussetzung für Struktur- und Organvermessungen mit Hilfe eines Bildanalyseprogramms ist die Kalibrierung des X-Y Maßstabes eines importierten Ultraschallbildes anhand der seitlich im Bild eingeblendeten Skalierung. Mit einem durch das Ultraschallgerät vorgegebenen X-Y Achsenverhältnis von 1,5 wurde der maximale Durchmesser folgender Organe und Strukturen bis auf 1/10 Millimeter genau ermittelt und gegebenenfalls deren Anzahl bestimmt: Uterushorn vor der Bifurkation, Ovarien, C.II., Follikel > 1mm.

3.5.4. Prüfung des Einflusses von Helligkeits- und Kontraständerung in der Konfiguration der Bildanalyse - Software auf die Graustufenanalyse von Sonogrammen

Helligkeit und Kontrast können unabhängig vom Originalbild intern im Bildanalyseprogramm variabel konfiguriert werden. Getestet wurde, inwieweit eine Änderung der Eingangskonfiguration des Programms Einfluß auf eine GSA hat. Es wurde das Basismonitorbild (512 x 512 Pixel) des Ultraschallgerätes ohne Sondenbetrieb digitalisiert und für die Messungen verwendet. Ausgehend von der systemeigenen Grundkonfiguration (30 % Helligkeit und 70 % Kontrast) wurde bei Konstanthaltung eines Parameters der jeweils andere in 10 % Schrittweite in der Eingangskonfiguration verändert (Helligkeit 30 - 70 %; Kontrast 30 - 70 %). Anschließend wurde die Grauwertverteilung eines uniform schwarzen Bildareals innerhalb eines Analysefensters (100 x 100 Pixel) bestimmt und statistisch ausgewertet. (Abb. 7/8).

Änderung der Helligkeitskonfiguration in % bei konstantem Kontrast (70%)



Änderung der Kontrastkonfiguration in % bei konstanter Helligkeit (70%)

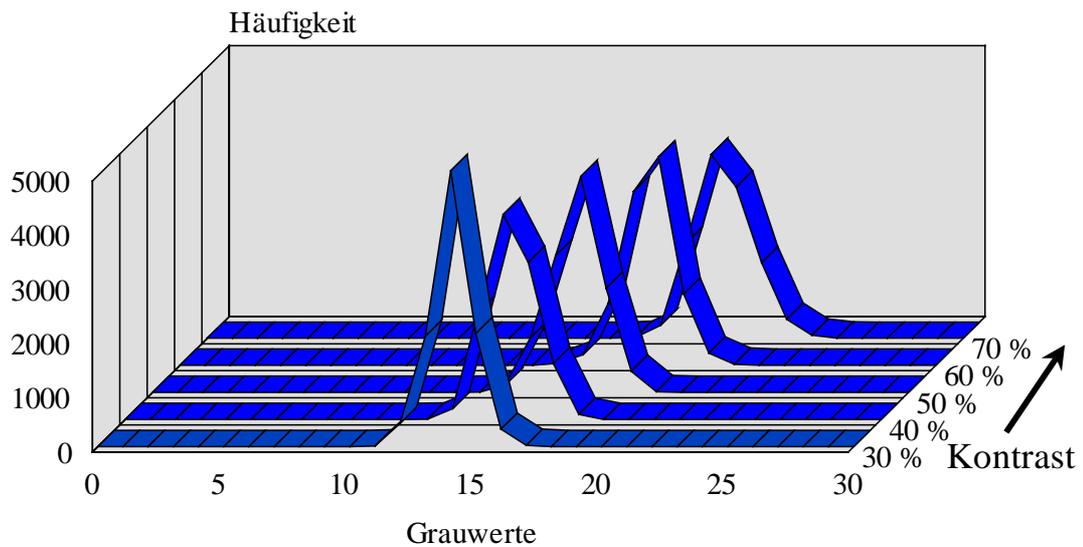


Abb. 7/8: Einfluß der Eingangskonfiguration auf eine Graustufenanalyse.

Sowohl die Änderung der Helligkeit als auch des Kontrastes in der Bildanalyse - Software in der Eingangskonfiguration hatten Einfluß auf die Grauwertverteilung. Dabei nahm die Änderung der Helligkeit einen größeren Einfluß auf die Grauwertistogramme des gleichen Analyseareals als die Kontraständerung. Die Abbildungen 7 und 8 zeigen diesen Zusammenhang graphisch. In Auswertung dieser Messergebnisse wurde bei der GSA von Sonogrammen darauf geachtet, daß die externe Synchronisation von Helligkeit und Kontrast des Eingangssignals stets konstant war.

3.5.5. Graustufenanalyse

Wie im Abschnitt 2.2.2. beschrieben, ist eine stets gleiche Positionierung von Gewebestrukturen im Ultraschallbild die Voraussetzung für eine GSA. Bei der vorliegenden Arbeit wurde im Hinblick auf eine quantitative Analyse von uterinen Strukturveränderungen bei der Untersuchung des Genitaltraktes versucht, den Uterus, respektive das Endometrium, nahe der Mittellinie im ersten Fokusbereich des Ultraschallbildes darzustellen (Abb.: 9).

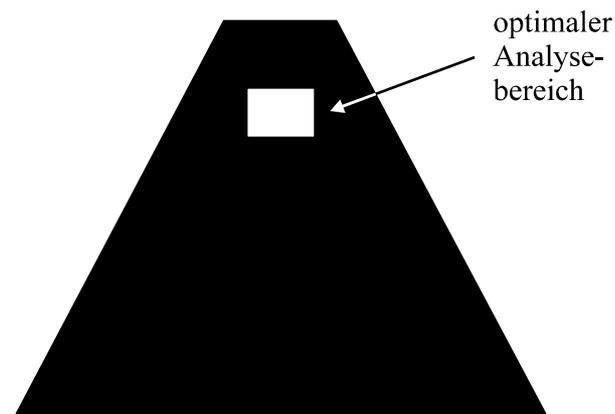


Abb. 9: Positionierung des Uterus innerhalb des ersten Fokusbereiches des Ultraschallbildes nahe der Mittellinie.

Für die GSA des Endometriums wurden pro Untersuchung drei Videostandbilder mit der Einstellung des Endometriums im optimalen Analysebereich digitalisiert. Innerhalb des Analysebereiches wurde dann an drei unterschiedlichen Stellen des Endometriums das Analysefenster für die GSA plziert. So wurden pro Untersuchung und Tier insgesamt neun quantitative Messungen der Graustufenverteilung vorgenommen.

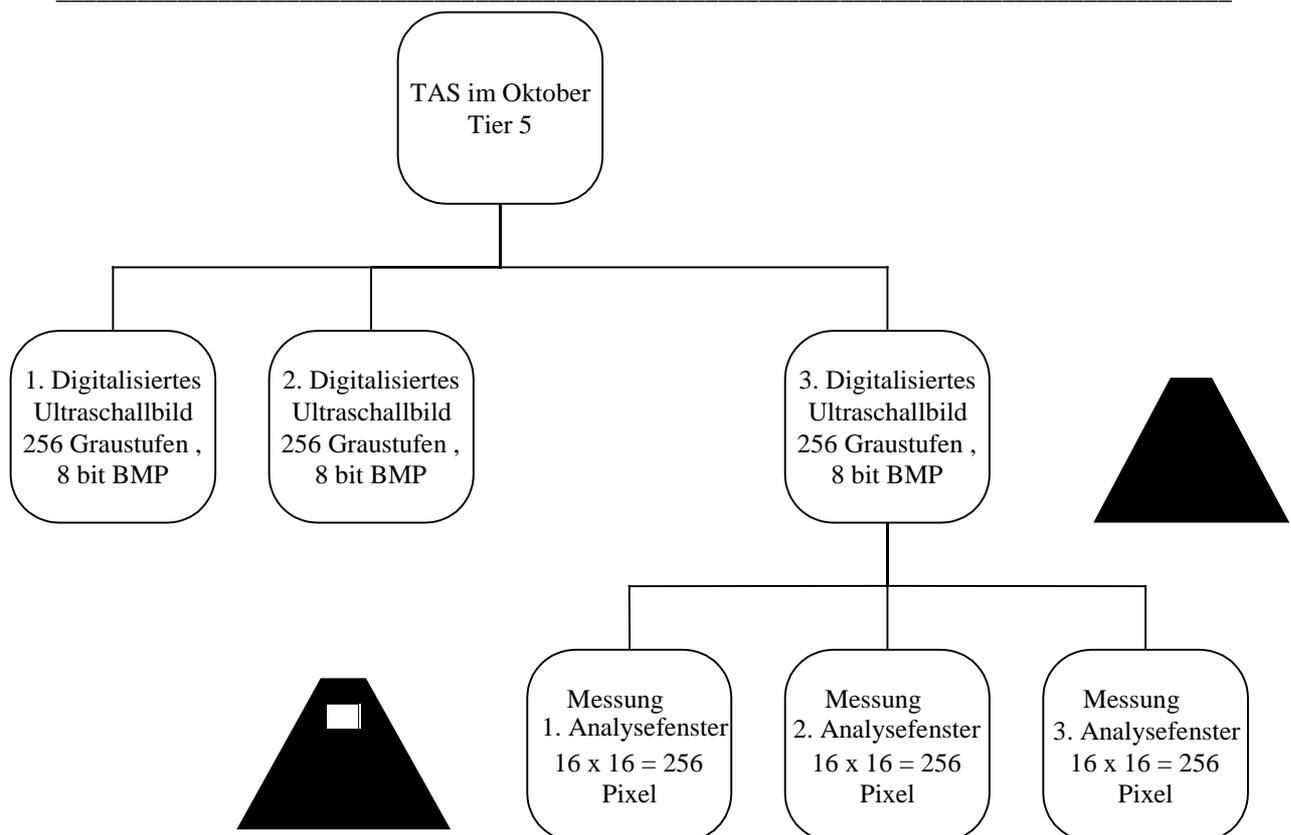


Abb. 10: Versuchsprotokoll der Graustufenanalyse des Endometriums beim Reh.

Die Größe (16 x 16 Pixel) und Plazierung des Analysefensters schlossen eine fälschliche Messung anderer Gewebeanteile des Uterus wie z. B. Myometrium oder Parametrium aus. Als Teil der statistischen Auswertung gab die einfache Darstellung der Häufigkeit vorkommender Grauwerte in Form eines Histogramms einen Überblick über die Häufigkeitsverteilung der Grauwerte.

3.5.6. Statistische Auswertung

Im Rahmen der statistischen Verarbeitung der aus den Grauwert-Histogrammen gewonnenen Daten erfolgte die Berechnung des Medians und der Standardabweichung mit Hilfe eines Software-Programms (Excel 5.0, Microsoft®, Corp.). Die somit pro Untersuchung ermittelten neun Mediane wurden in der Berechnung eines Mittleren Medians sowie des Standardfehlers dieses Mittelwertes zusammengefaßt. Zur Darstellung der Signifikanz ($p < 0,05$) unabhängiger Proben wurde der t-Test angewendet.

4. Ergebnisse

4.1. Sonographie des Urogenitaltraktes beim Reh

Unter Verwendung der miniaturisierten 7,5 MHz Konvex-Sonde ließen sich mit der TAS alle Organe des Urogenitaltraktes mit Ausnahme der Ureteren beim weiblichen Reh nicht-invasiv bildlich darstellen. Die erstmalige sonomorphologische Beschreibung des Urogenitaltraktes bildete die Grundlage für die ultrasonographische Beurteilung zyklischer Strukturveränderungen der Genitalorgane insbesondere während der Diapause. Die detaillierte, schallkopfnahere Darstellung ermöglichte des weiteren die Beobachtung der peri- und postimplantativen Embryonal- und Foetalentwicklung sowie die Erkennung pathologischer Prozesse dieser Entwicklungsphase. Für die Sonographie der Hochträchtigkeit bot der transkutane Ultraschall mit einem 3,5 MHz Konvex-Schallkopf einen besseren Überblick über die weiter fortgeschrittene foetale Entwicklung.

Die qualitativ hochwertige Aufzeichnung jeweils der gesamten Ultraschalluntersuchung (S-VHS Videobänder) erwies sich aus folgenden Gründen von großer Bedeutung:

1. Im Hinblick auf den hohen materiellen Wert der Untersuchungsobjekte können Streßfaktoren wie die manuelle Fixation, Sedation oder Narkose im Zuge einer Manipulation zeitlich so kurz wie möglich gehalten werden, um das Risiko für das Tier (Patient) zu minimieren. Eine vollständige Aufzeichnung gestattet eine exakte Diagnosestellung im Anschluß an die eigentliche Untersuchung.
2. Da die Fähigkeit des menschlichen Auges eine Vielzahl von Bildinformationen pro Zeiteinheit aufzunehmen begrenzt ist, machte die Dokumentation von Ultraschalluntersuchungen in Echt-Zeit auf Videobändern eine retrospektive Betrachtung beliebig auswählbarer Videoeinzelbilder möglich.
3. Eine eingehende retrospektive Befundung von Ultraschallbildern ermöglichte präzise Vermessungen von Strukturen und Organen, die Zählung dreidimensional angeordneter Strukturen sowie eine quantitative Analyse von Strukturveränderungen physiologischen oder pathologischen Ursprungs.

Für die retrospektive Auswertung und Analyse sonographischer Daten war somit die Wahl der Dokumentationsform entscheidend. Mit einer OFF-line Erfassung sonographischer Daten z. B. in Form von Thermoprints ist die Digitalisierung und quantitative Bildanalyse aufgrund des Informationsverlustes nicht praktikabel. Die Aufzeichnung von Ultraschalluntersuchungen in Echt-Zeit auf Videobändern ermöglicht in Kombination mit moderner Computertechnik eine ON-line Übernahme, Verarbeitung und Archivierung sonographischer Bilddaten und war die Voraussetzung für eine retrospektive Analyse der Ultraschallbilder.

4.2. Sonomorphologie des Harnapparates

4.2.1. Urethra und Harnblase

Die sich dem Blasen Hals kaudomedial anschließende Urethra ließ sich mittels TAS in ihrem Verlauf durch das Becken bis zum *Ostium urethrae externum* verfolgen. Sonomorphologisch dominierte die echoarme, homogene Textur der *Tunica muscularis*. Die aufeinanderliegende Schleimhaut der Urethra war im Sonogramm durch eine echogene Mittellinie gekennzeichnet.

Die Harnblase war aufgrund ihres Inhalts eine sonographisch markante, einfach auffindbare Struktur und diente zu Beginn der TAS beim Reh als Orientierungshilfe bei der Auffindung anderer Urogenitalorgane. Bei 0° Auslenkung des rektal ca. 7 - 20 cm eingeführten Schallkopfes (dorsoventrale Schallrichtung) erschien die Blase als flüssigkeitsgefülltes Organ. Je nach Füllungsgrad waren die Dimensionen der Blase in einem Auslenkungswinkel von $\pm 10 - 30^\circ$ erfaßbar. Die Blasenwand stellte sich als echogenes weißes Band dar. Je nach Menge gespeicherten Harns war die Dreischichtung der Blasenwand sichtbar. Die ventrale Blasenwand und das sich anschließende Gewebe erschienen aufgrund distaler Schallverstärkung (Schallartefakt) echointensiver. Physiologisch ist der Harn des Rehs sedimentfrei, so daß sich das flüssigkeitsgefüllte Blasenlumen anechogen darstellte (Abb. 11).

4.2.2. Ureter und Niere

Die Darstellung des Ureters gelang nur in seinem Mündungsbereich in die Harnblase am *Ostium ureterum*, da er dort durch die *Plica ureterica* bindegewebig verstärkt ist. Unter Verwendung des Adapters III bei einer rektalen Eindringtiefe von 35 - 50 cm und einer Auslenkung von 70 - 90° ließen sich beide Nieren schallkopfnah darstellen. Die glatte Rehnier wurde begrenzt von der stark echogenen Nierenkapsel. Bei den einzelnen Renculi ließen sich Mark und Rinde voneinander differenzieren. Die Echogenität der Markzone war etwas geringer und ließ sich dadurch gut von der Rindenzone abgrenzen. Das Nierenbecken erzeugte aufgrund des eingelagerten Fett- und Bindegewebes ein starkes Echo. Zuführende und ableitende Gefäße im Nierenhilus konnten ebenfalls im Sonogramm dargestellt und hinsichtlich ihres Durchmessers beurteilt werden (Abb. 12).

4.3. Sonomorphologie der Genitalorgane

Der Füllungsgrad der Harnblase nahm Einfluß auf die intrapelvine bzw. intraabdominale Lage der inneren Genitalorgane. Bei mäßiger bis starker Harnblasenfüllung bedeutete dies eine zur Harnblase laterale Lage des kranialen Bereichs der Zervix, des sich anschließenden Uterus und der Ovarien. Für die sonographische Darstellung der inneren Genitalorgane war daher eine Auslenkung des Schallkopfes um 20 - 60° erforderlich. In diesem Zusammenhang erwies sich die Lagerung des Tieres in Brustbauchlage für die Darstellung der Genitalorgane im Vergleich zur Seitenlage als günstiger, da die Organe durch eine stark gefüllte Harnblase hierbei nicht komprimiert wurden.

4.3.1. Vagina

Die Vagina war ab einer Eindringtiefe von 3 bis zu 15 cm ab Anus transrektal sonographisch darstellbar und diente beim weiteren Einführen des Ultraschallkopfes als Führungsstruktur zur Auffindung der *Cervix uteri* sowie des Uterus selbst. Ihr sonomorphologisches Erscheinungsbild war gekennzeichnet durch einen dreiteiligen Wandaufbau. Die Vagina hatte eine mittelechogene Struktur, die außen von der *Adventitia* in Form eines stark echogenen Bandes begrenzt war. Die adhäsiv aneinanderliegende Vaginalschleimhaut erzeugte im Ultraschall ein deutliches Mittelecho in Form einer weißen Linie. Im Vergleich zur Zervix und zum Uterus erschien die Vagina insgesamt etwas echogener. Während des Oestrus war die Scham der Tiere nur gering ödematisiert, und ein Austritt von Vaginalsekret konnte nur vereinzelt beobachtet werden. Im Sonogramm dagegen war brunstassoziiertes Vaginalsekret als anechogener Streifen im Vaginallumen nachweisbar. Auch bei einer äußerlich bzw. adspektorisch unauffälligen, eitrigen Vaginitis konnte sonographisch das entzündungsbedingte Exsudat als intraluminale Flüssigkeit mit kleinen, stark echogenen Reflektionen dargestellt werden (Abb.13).

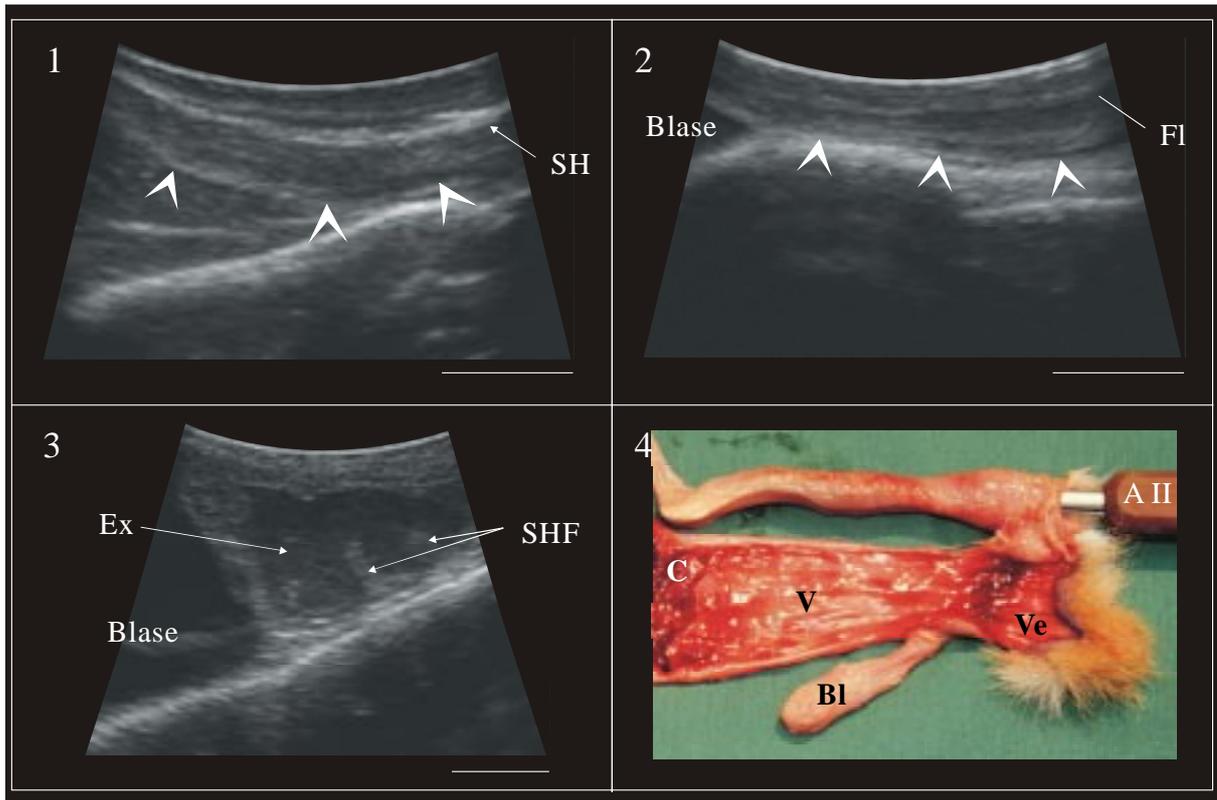


Abb. 13: Sonogramme und postmortales Präparat der Vagina von Rehen: 1. Vagina (<) in der Lutealphase. Die aneinanderliegende Vaginalschleimhaut (SH) erzeugt ein starkes Echo. 2. Im Oestrus erscheint das Vaginalsekret im Lumen als anechogene Flüssigkeit (FI). 3. Mit Entzündungsexsudat (Ex) gefüllte Vagina, deren Schleimhautfalten (SHF) sich ins Lumen vorwölben. 4. Vestibulum (Ve), Vagina (V), Cervix (C) und Blase (Bl) im postmortalen Präparat. Über der Vagina ist rektal der Schallkopfadapter II (AII) eingeführt.

4.3.2. Cervix uteri

Die Zervikalfalten prägten das sonographisch charakteristische Aussehen der *Cervix uteri* und machten die Unterscheidung zur Vagina und zum Uterus einfach. Die Falten erschienen als längsovale Strukturen mittlerer Echogenität, zwischen denen sich der Zervikalkanal aufgrund seiner Windungen und geringen Echogenität nicht immer verfolgen ließ. Der Übergang der Vagina in die *Cervix uteri* war sonographisch gekennzeichnet durch die in die Vagina hineinragende *Portio vaginalis uteri*. Die im zweidimensionalen Ultraschall dreieckig erscheinende *Portio* war gegen die sie umgebende *Fornix vaginae* mit einer feinen echogenen Linie und im Oestrus zusätzlich mit einem geringen

Flüssigkeitssaum abgegrenzt. Der Zervikalkanal, außerhalb der Brunst eine echogene weiße Linie, öffnete sich mit seinem *Orificium uteri externum* nach dorsokaudal und war in der Brunst etwas mit anechogener Flüssigkeit gefüllt (Abb. 14). Die eindeutige Darstellbarkeit des Kanals gelang erst nach Einführung eines echogenen Katheters in den Zervikalkanal im postmortalen Präparat. Der Beginn des Zervikalkanals hatte dabei eine leicht dorsoventrale Orientierung.

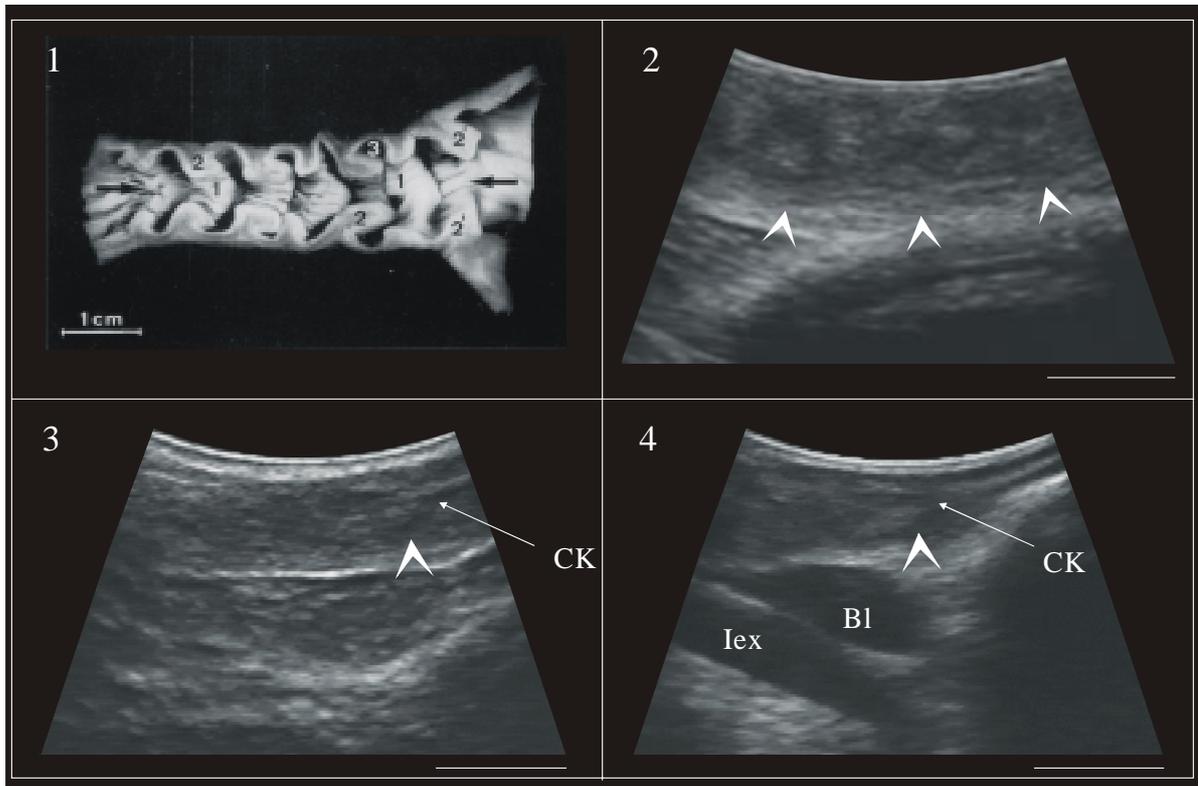


Abb. 14: Postmortales Präparat und Sonogramme der *Cervix uteri* von Rehen: 1. Postmortales Präparat 2. Im Sonogramm erscheinen Zervikalfalten Innerhalb der Zervix (<) als kissenartige Struktur. 3. *Portio* (<) mit echogenem Zervikalkanal (CK) in der Lutealphase. 4. *Portio* (<) mit flüssigkeitsgefülltem Cervikalkanal (CK) während des Oestrus. Anechogene Bereiche sind Anschnitte der *Arteria iliaca externa* (Iex) und der Blase (Bl).

4.3.3. Ovarien

Die Ovarien, jeweils am Ende der widderhornartig aufgerollten Uterushörner gelagert, zeichneten sich durch eine Variabilität ihrer intraabdominalen, topographischen Situation aus. Die Ursache für diese Lagevariabilität liegt in ihrer Aufhängung an einem langen Gekröse (Mesovarium) sowie dem individuellen bzw. zyklusabhängig unterschiedlichen Aufrollungsgrad der Uterushörner. Beim Aufsuchen der Gonaden dienten die Krümmungen des Uterus als Orientierungshilfe. Bei lateraler Auslenkung des Ultraschallkopfes erstreckte sich die variable Lage des Ovars in einem Bereich von kraniodorsal der großen Krümmung des Uterus, bei einer Eindringtiefe von ca. 1 cm, bis kaudoventral der kleinen Krümmung bei einer Eindringtiefe von 2 - 3 cm. Diese Lagevariabilität der Ovarien erschwerte eine konstante Positionierung in einem bestimmten Fokusbereich des Schallkopfes.

Das Ovargewebe hatte eine schwach- bis mittelechogene, homogene Textur und war je nach Individuum und Zyklusstand im Ultraschallbild rund bis queroval. In seiner Echogenität unterschied sich das inaktive Ovar nur wenig vom Uterus, insbesondere von den benachbarten Uterushörnern. Zur sonographischen Verifizierung bei kugelförmiger Form des Ovars erfolgte daher ein Durchscannen des Ovars in der Längsachse, um eine Verwechslung mit einem quer getroffenen Uterushorn auszuschließen. Zusätzlich halfen Funktionskörper aktiver Ovarien bei der Differenzierung von ovariellen und uterinem Gewebe (Abb. 14).

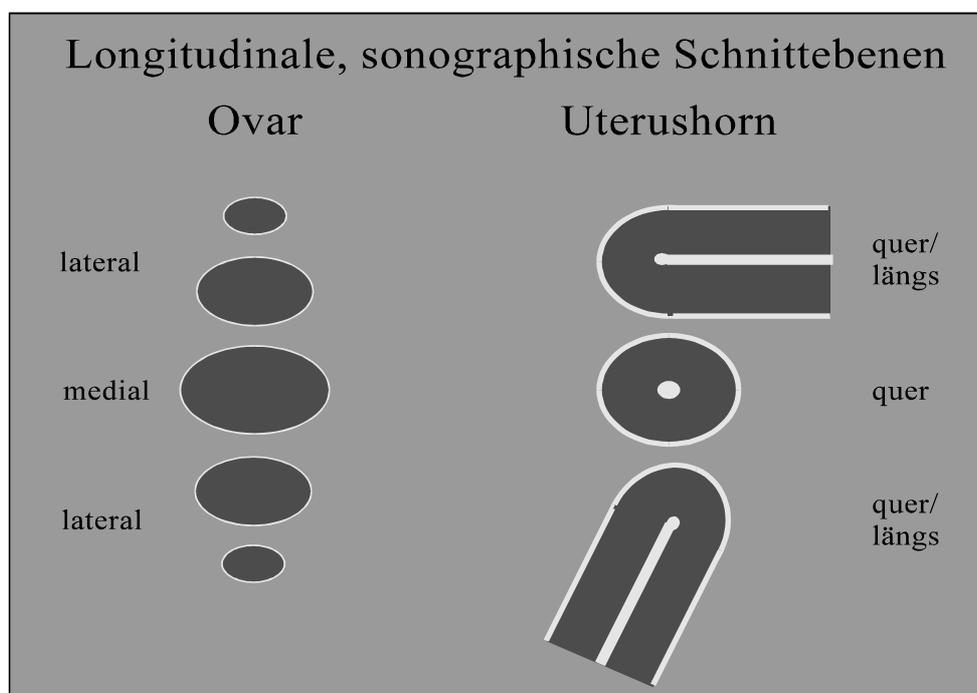


Abb. 14: Schematische Darstellung der sonographischen Differenzierung ovariellen und uterinen Gewebes.

Die TAS ermöglichte die Differenzierung von Follikeln > 1 mm und C.II. im ovariellen Gewebe. Die Einzeldifferenzierung von Funktionskörpern bildete die Grundlage für die Beobachtung der Ovardynamik während des Reproduktionzyklus.

4.3.3.1. Follikelphase

4.3.3.1.1. Sonomorphologie der Follikel

Unter Verwendung einer 7,5 MHz Konvex-Sonde ließen sich am Ovar Follikel ab einer Größe von 1 mm sicher differenzieren. Sie stellten sich als flüssigkeitsgefüllte, anechogene, runde Strukturen dar. Differentialdiagnostisch mußte besonders bei kleineren Follikeln ihre dreidimensionale, kugelige Form durch Schwenken des Schallkopfes gegenüber quer getroffenen, interstitiellen Ovargefäßen abgegrenzt werden. Proximal und distal entstanden am Follikel, aufgrund des großen Impedanzsprunges (Impedanz = Echodichte) zwischen Ovargewebe und Follikelflüssigkeit Verstärkungsechos. Diese Verstärkungsechos in Form stark echogener Linien waren von Bedeutung für die Unterscheidung von Follikeln und C.II. in der Lutealphase. Große, dicht benachbarte Follikel ließen teilweise keine trennende Follikelwand erkennen. Bei der dreidimensionalen Untersuchung waren allerdings die einzelnen Follikelhöhlen differenzierbar. Viele kleine, im Rindenbereich des Rehovars (*Zona parenchymatosa*) eng aneinanderliegende Follikel bildeten ganze Follikelkonglomerate. Diese stellten sich im Sonogramm als unregelmäßige, längsovale, anechogene Zone dar und konnten als große Follikel oder C.II. mißinterpretiert werden. Das Fehlen von Verstärkungsechos sowie die Unregelmäßigkeit der Struktur in Folge der Aneinanderlagerung der kleinen Follikel waren jedoch sichere Kriterien zum Ausschluß einer solchen Fehlinterpretation.

4.3.3.1.2. Sonomorphologische Veränderungen am Ovar während der Brunst

Beim monöstrischen Reh geht dem Prooestrus eine anovulatorische Lutealphase voraus. Ein in diesem Zeitraum vorhandenes C.I. konnte mit Beginn des Prooestrus bei einem Tier (Nr.3) sonographisch nachgewiesen werden (Abb. 18). Im Prooestrus und Oestrus nahm das gesamte Ovar unter der Anbildung antraler Follikel erheblich an Größe zu, was sich an der maximalen sonographischen Schnittfläche der Ovarien ablesen läßt (Tab. 9). Das sonographische Bild der Ovarien war gekennzeichnet durch bis zu vier 2 - 4 mm große, dominierende Follikel neben einer großen Anzahl von bis zu 20 kleineren antralen Follikeln mit einem Durchmesser von maximal 1,5 mm. Durch die topographische Erfassung der großen folliculären Strukturen und nach der Ovulation nachweisbarer C.II.

(Abb. 18/19), konnten retrospektiv Graafsche Follikel, die zur Ovulation gekommen waren, identifiziert werden. Dabei waren bei den in Niederfinow und in Czempin untersuchten Tieren vor der Ovulation detektierte Follikel topographisch identisch mit entstandenen C.II. Zur Ovulation gekommene Follikel wiesen eine Größe von 2,8 bis 6,9 mm auf (Abb. 15).

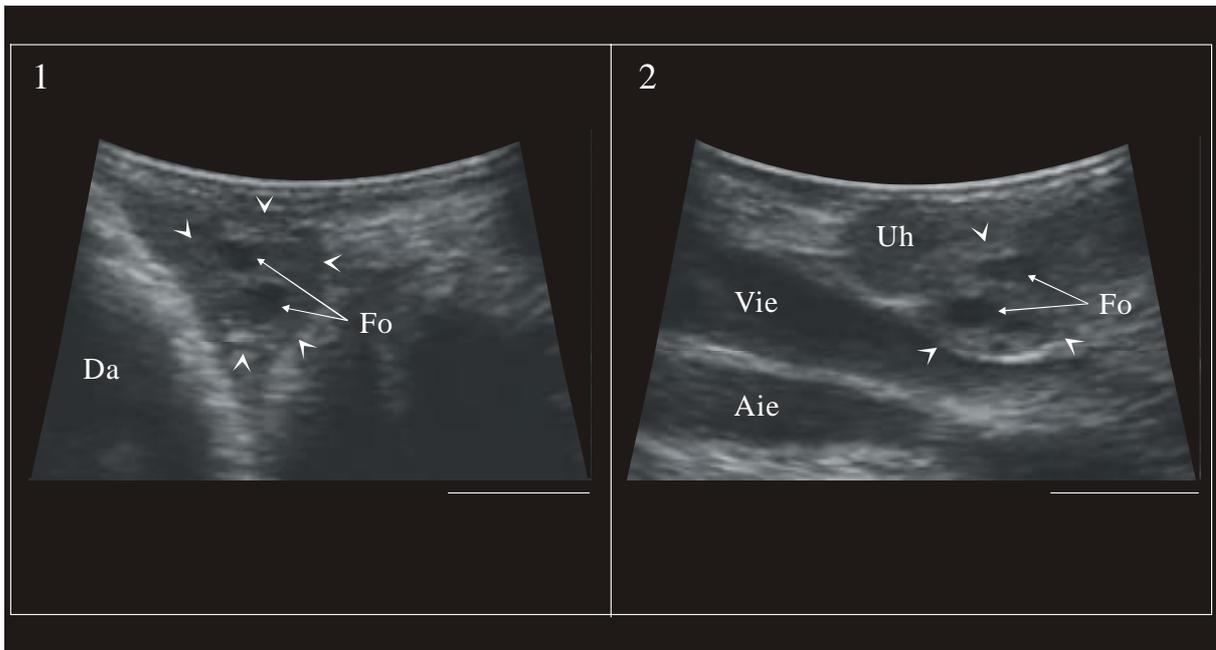


Abb. 15: Sonogramme zweier Rehovarien (<) mit präovulatorischen Follikeln (Fo) welche ein deutliches distales und poximales Verstärkungsecho zeigen. Durch geringe Komprimierung durch den Schallkopf geht die runde Form der Follikel etwas verloren. 1. Das Ovar wird kranial vom gasgefüllten Darm (Da) begrenzt. 2. das kraniodorsal liegende Uterushorn (Uh) hat ähnliche Echogenität wie das Ovar. Kranial Anschnitte der *Arteria iliaca externa* (Aie) und *Vena iliaca externa* (Vie).

4.3.3.2. Lutealphase

4.3.3.2.1. Sonomorphologie des Corpus luteum

Die einer Ovulation folgende geringe Einblutung in die Follikelhöhle und transitoriale Ausbildung eines *Corpus haemorrhagicum* ist ein im Anschluß an den Oestrus im August nur innerhalb weniger Tage sonographisch darstellbarer Prozeß, dem sich der Umbau zu einem aktiven Gelbkörper anschließt. Bedingt durch zu große Untersuchungsabstände konnte nur bei einem Tier (Nr. 1) ein frisch eingeblutetes *Corpus haemorrhagicum* sonographisch dargestellt werden (Abb. 16). Die ovulationsbedingte Blutung erzeugte im

sonographischen Bild eine erhöhte Echogenität des *Corpus haemorrhagicum* im Vergleich zum reifen C.I. Bei anderen im gleichen Monat untersuchten Tieren konnten unterschiedliche Proliferationsstadien des C.I. dargestellt werden. So zeigte das *Corpus haemorrhagicum* zu Beginn der Ausbildung lutealen Gewebes eine echogene Randzone mit einem anechogenem Zentrum. Im weiter fortgeschrittenen Proliferationsstadium konnte nur noch ein kleines anechogenes Zentrum im Gelbkörper beobachtet werden. In den Folgeuntersuchungen während der Lutealphase von September bis Dezember konnte nach Abschluß der Proliferationsphase bei keinem der detektierten C.II. eine echogene Randzone mehr beobachtet werden. Vielmehr hatten alle C.II. ein solides Erscheinungsbild (Abb. 16). Das sonographische Bild aktiver C.II. des Rehs war gekennzeichnet durch ein fast follikelartiges Erscheinungsbild. Das aktive C.I. während der eD hatte eine runde bis ovale Form und wölbte sich teilweise aus dem Ovarparenchym hervor. Das capreoline Lutealgewebe besitzt eine sehr geringe Echogenität und erscheint manchmal sogar anechogen. Es war nur durch eine feine echogene Linie vom Ovargewebe abgegrenzt. Wichtigste Unterscheidungskriterien zum Follikel waren die fehlenden Verstärkungsechos des Gelbkörpers. Die Ursache für die geringe Echogenität des Lutealgewebes liegt in den ungewöhnlich großen, plasmareichen Granulosaluteinzellen des Rehs. Im Gegensatz zu anderen Tierarten mit oD, bei denen hauptsächlich plasmaarme Granulosaluteinzellen das Lutealgewebe während der oD bestimmen, dominieren beim Reh die plasmareichen Granulosaluteinzellen. Verbunden mit diesem Plasmareichtum ist der hohe Flüssigkeitsgehalt des capreolinen Lutealgewebes. Im Sonogramm führt dies zu einer follikelähnlichen Echogenität des aktiven C.I.

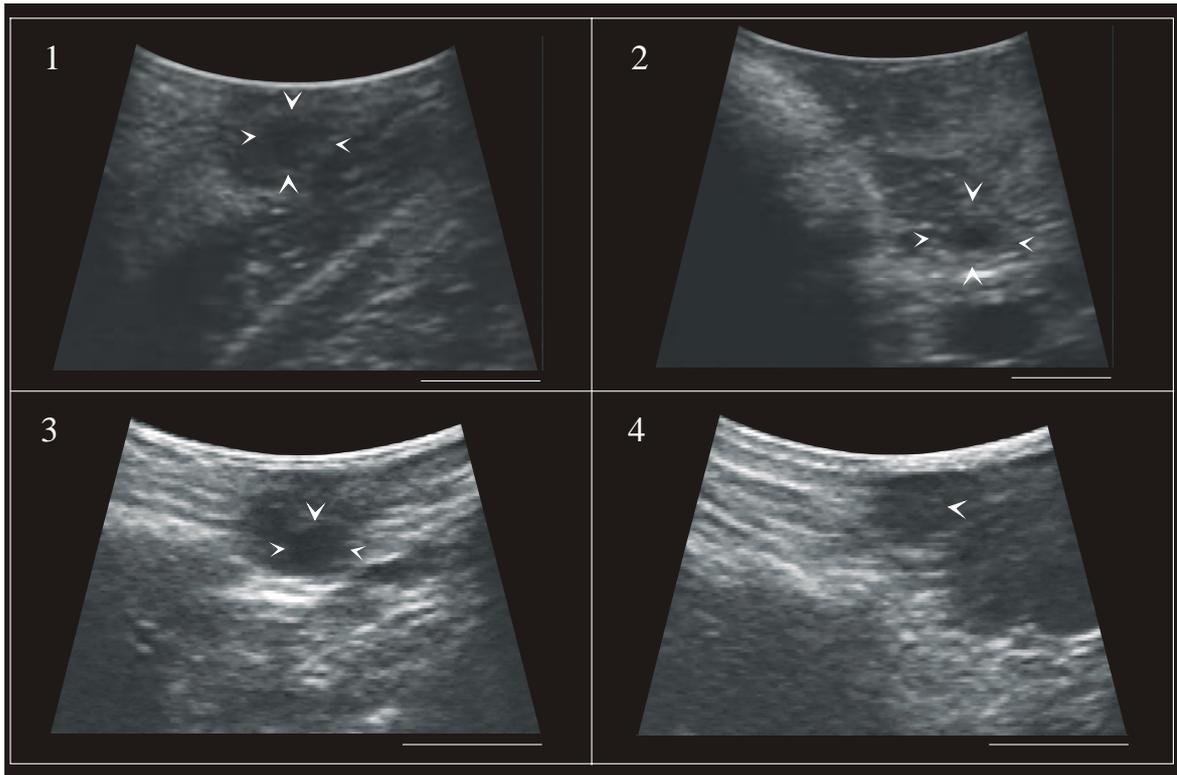


Abb. 16: Sonogramme unterschiedlicher Entwicklungsstadien des C.I.:
 1. *Corpus haemorrhagicum* (<) mit der typischen hohen Echogenität unmittelbar nach der Ovulation (Nr.1). 2. C.I. in der Proliferationsphase mit echogener Randzone und anechogenem Zentrum (<) (Nr. 4, 1997).
 3. Aktives C.I. während der eD. 4. Erscheinungsbild eines sich in Regression befindlichen C.I.

4.3.3.2.2. Ovardynamik nicht gravider und gravider Rehe während der Diapause

Bei den in Niederfinow und Czempin kontinuierlich untersuchten Tieren (n = 11) kamen pro Ovar bis zu vier Follikel zur Ovulation, wobei die maximale Anzahl nachweisbarer C.II. pro Tier sechs betrug (Abb. 18; Tab. 10). Im Zeitraum der eD, von August bis Dezember, konnte bei den untersuchten Individuen bei qualitativer sonographischer Bewertung der Gewebetextur aktiver C.II. zwischen graviden und nicht graviden Tieren kein Unterschied festgestellt werden (Abb. 17).

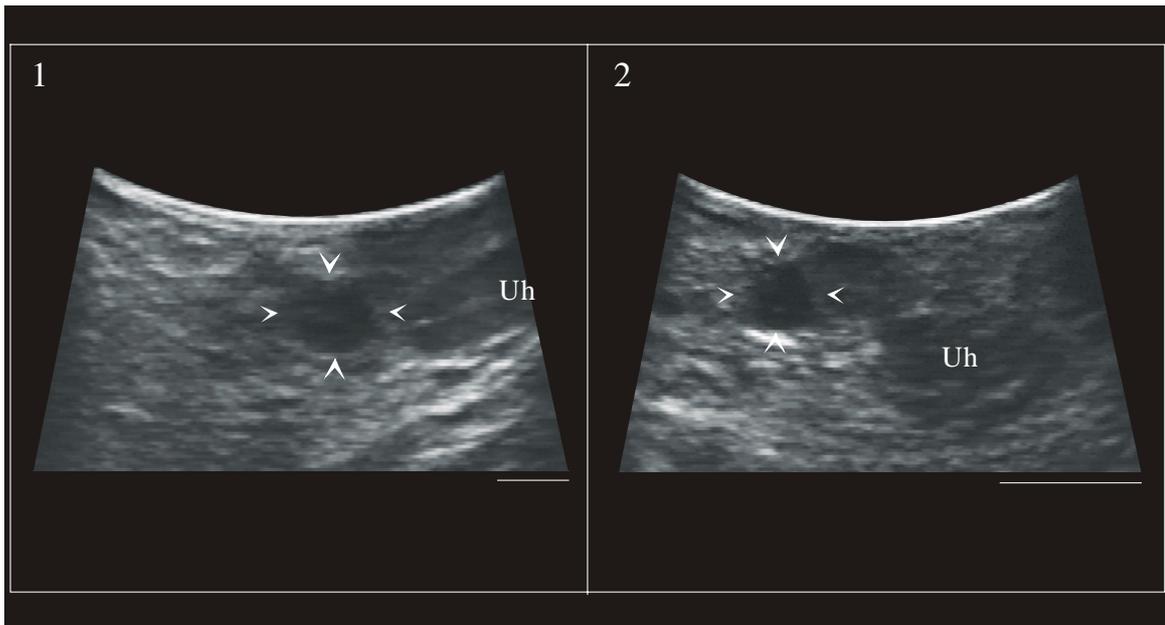


Abb. 17: Aktives C.I. eines graviden (1.) (Nr. 6) und eines nicht graviden Tieres (2.) (Nr. 4) im Zeitraum der Diapause. Die ähnliche Echotextur des Uterushornes (Uh) muß vom Ovarparenchym differenziert werden.

Die Gelbkörperblüte, d.h. der Zeitraum der größten Ausmaße der C.II., variierte nicht nur von Individuum zu Individuum, sondern auch am Ovar ein und desselben Tieres. So erstreckte sich die Blütezeit der Gelbkörper einzelner Tiere über einen Zeitraum von Oktober bis Dezember. Die größte Ausdehnung der Gelbkörper wurde am häufigsten im Dezember gemessen. Beginnend im November, konnte in den letzten Wochen der eD sowohl bei graviden als auch bei nicht graviden Tieren während der Gelbkörperblüte eines oder mehrerer C.II. eine Regression einzelner C.II. beobachtet werden (Abb. 18/19; Tab. 10). Sonographisch war die Gelbkörperregression charakterisiert durch eine zunehmende Echogenität im Vergleich zum aktiven C.I. sowie einer Größenabnahme. Aufgrund ähnlicher Echogenität zum umgebenden Ovarparenchym gestaltete sich die Abgrenzung regressiver C.II. bis zu ihrer völligen Rückbildung zunehmend schwieriger.

Eine Bildung akzessorischer C.II. im Zeitraum der eD konnte nicht beobachtet werden. Die während der eD registrierten antralen und wieder atretisch werdender Follikel wurden nicht größer als 3 mm. Zwischen den Untersuchungsintervallen unterlag die Follikelpopulation einem ständigen Wechsel. Die Ovarien zeichneten sich sonographisch entweder durch das Vorkommen einer Vielzahl kleiner bis zu 1,5 mm großer oder einer kleineren Zahl großer Follikel aus.

Es wurde gezeigt, daß das Ovar des Rehs während der eD keinen ruhenden Zustand einnimmt, sondern dynamischen Prozessen unterliegt. Bisher unbekannte parakrine und endokrine Faktoren nehmen dabei offenbar Einfluß auf die Entwicklung sowohl der C.II.

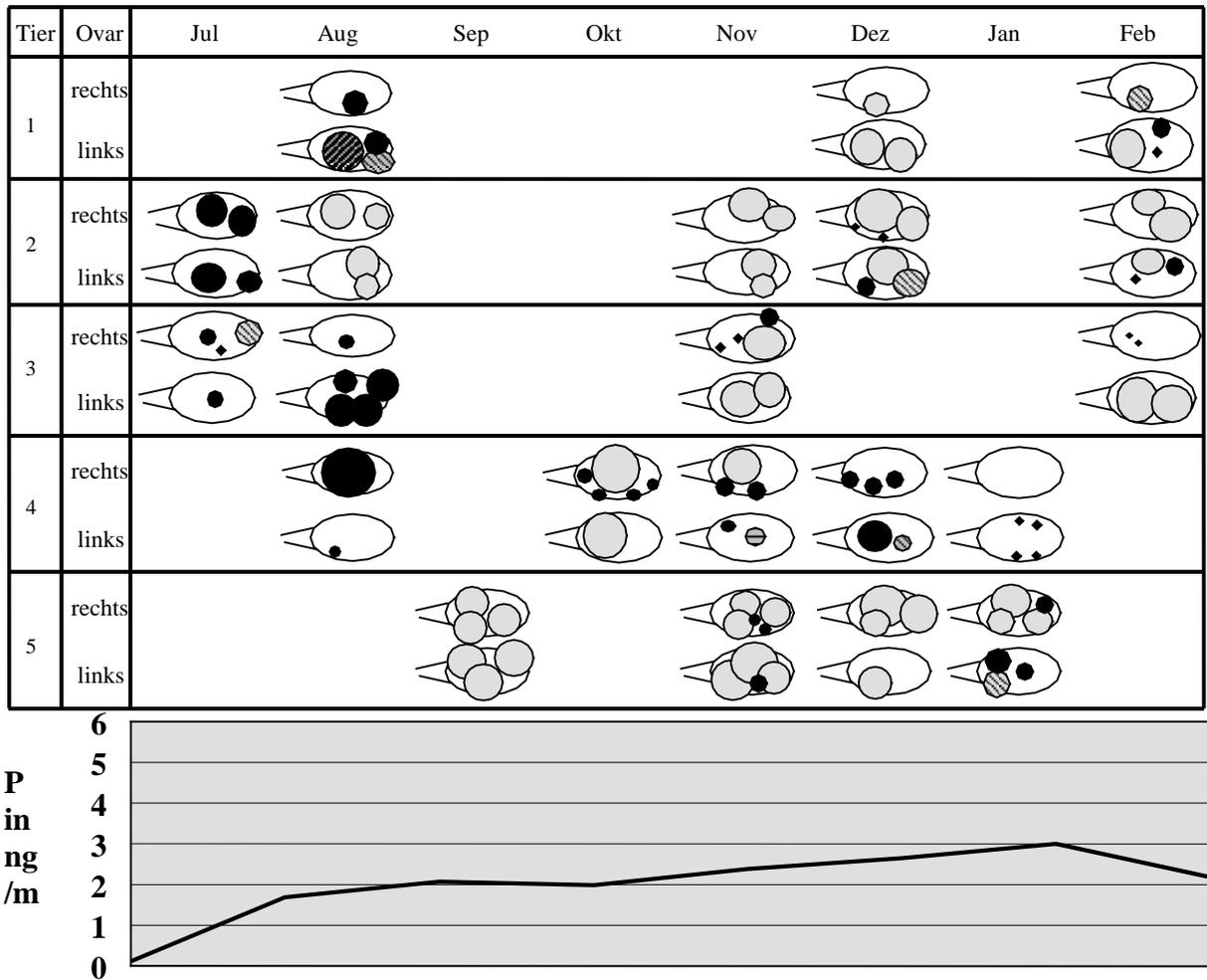
als auch der Follikel. Eine sonomorphologische Unterscheidung gravider und nicht gravider Rehe im Zeitraum der eD anhand der Gelbkörper Struktur war nicht möglich.

Tab. 9: Ovardimensionen über den Zeitraum der Follikelphase und der embryonalen Diapause von Rehen.

Tier	Ovar Höhe / Länge	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Feb.
1	links		7,0/15,9				6,7/11,1		6,4/10,2
	rechts		7,4/11,4				6,2/9,2		5,9/8,6
2	links		8,7/7,6			8,6/8,2	8,2/10,4		6,0/10,3
	rechts	9,9/10,3	6,5/11,5			7,2/9,8	7,0/8,4		5,6/10,2
3	links	6,2/7,7	12,3/8,3			7,0/10,1			7,5/14,4
	rechts	6,0/8,2	9,1/9,3			7,8/10,2			7,7/11,5
4	links		6,9/8,7		13,4/11,9	10,2/11,9	9,7/11,6		
	rechts		13,0/16,3		14,4/12,4				
5	links			5,5/9,0		6,9/10,6	7,5/9,4		
	rechts			6,1/11,9		7,0/13,3	7,3/11,6	5,8/10,2	
6	links	7,0/7,1	8,6/10,9			8,4/9,9			
	rechts	8,0/10,0	10,4/11,7			8,74/11,5	7,4/12,4		
7	links					7,4/11,7	7,4/8,4		
	rechts					7,9/9,8	8,7/10,5		
8	links						8,0/11,3		
	rechts						7,0/8,6		
9	links		6,9/11,0		7,6/14,8	7,1/11,5	7,9/11,8		
	rechts		8,5/12,1		6,5/10,5	8,2/13,1	7,4/12,7	8,1/12,0	
10	links		5,1/9,3	6,5/9,2	7,2/11,4				
	rechts		7,2/11,9	10,5/13,2	7,9/9,3				
11	links		8,3/13,3		8,6/12,0	7,8/11,5	7,2/12,1	8,5/10,9	
	rechts		9,9/17,9		9,3/12,6	8,7/11,9	8,9/12,6	7,0/9,4	

Tab. 10: Größe von Gelbkörpern bei graviden (Nr.1-5) und nicht graviden (Nr.6-11) Rehen in Zeitraum der embryonalen Diapause.

Tier	C.I.	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.	Jan.	Feb.
1	1		5,2				4,3		3,7
	2		2,8				3,2		–
	3						2,7		3,1
2	1		4,3			4,2	5,2		4,7
	2		2,0			3,8	3,7		3,5
	3		2,8			2,6	5,2		3,8
	4		2,4			2,3	4,6		–
3	1					4,5			5,8
	2					2,9			4,6
	3	2,9				3,7			–
4	1				6,9	4,8	4,9		
	2				5,7	4,2	3,6		
5	1			3,8		2,5	4,1	2,9	
	2			3,1		2,8	3,7	2,7	
	3			3,7		2,6	3,8	2,7	
	4			4,0		5,7	–		
	5			3,7		5,5	3,4	–	
	6			3,6		3,7	–		
6	1		5,3				2,6	–	
	2		5,8				6,2	6,3	
7	1					6,1	5,4		
	2					3,4	7,3		
	3					3,5	–		
8	1						4,4		
	2						4,5		
	3						4,0		
9	1		3,3		6,0	7,3	6,0		
	2		2,8		3,9	4,7	4,4		
	3		4,2		4,8	4,6	5,7		
	4		5,3		2,9	3,8	4,7		
10	1			3,7		3,3			
	2			2,6		3,3			
	3			3,3		2,6			
	4			3,0		2,4			
11	1		4,3	4,6		4,3	4,3	3,0	
	2		4,2	3,7		2,8	2,8	2,7	
	3		4,1	3,4		5,5	5,8	4,1	
	4		2,8	3,4		3,2	2,7	2,4	

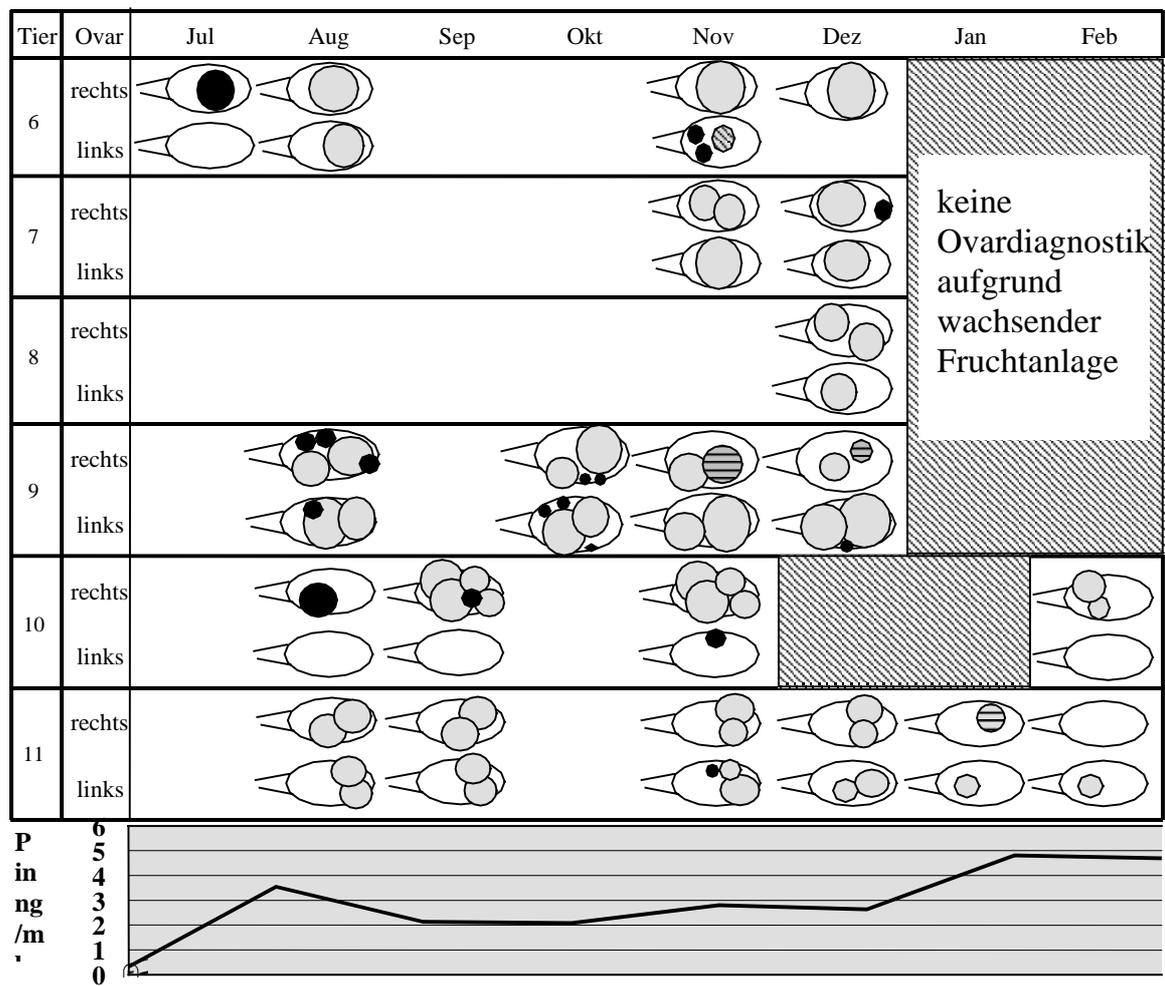


nach Hoffmann et al., 1978

Zeichenerklärung:



Abb. 18: Ultrasonographisch dargestellte Ovardynamik von Rehen während der Follikelphase und der Lutealphase im Zeitraums der embryonalen Diapause bei nicht tragenden Tieren. Die Plasmaprogesteronwerte nicht tragender Tiere sind für den entsprechenden Zeitraum nach Hoffmann abgebildet.



nach Hoffmann et al.,1978

Zeichenerklärung:



Abb. 19: Ultrasonographisch dargestellte Ovardynamik von Rehen während der Follikelphase und der Lutealphase im Zeitraum der embryonalen Diapause bei tragenden Tieren. Die Plasmalogesteronwerte tragender Tiere sind für den entsprechenden Zeitraum nach Hoffmann abgebildet.

4.3.3.2.3. Dynamik des Ovars im Anschluß an die Diapause

Im periimplantativen Zeitraum wurde sowohl bei graviden als auch bei nicht graviden Tieren eine Gelbkörperregression beobachtet (Nr. 1 - 2, 4, 7 - 9). Aufgrund der peri- und postimplantativ schnell wachsenden Embryonalanlage, der raschen Größenzunahme der flüssigkeitsgefüllten Fruchthüllen und des dadurch in die Bauchhöhle absinkenden Uterus (Abb. 19, Nr. 6 - 9) wurde die transrektale Darstellbarkeit der Ovarien bei tragenden Tieren zunehmend erschwert und war schließlich ab Januar nicht mehr möglich. Eine Aussage über die Ovardynamik gravider Tiere im postimplantativen Zeitraum war daher sonographisch nicht möglich gewesen. Ovarien nicht gravider Tiere (Abb. 18; Nr. 1 - 5) waren im postimplantativen Zeitraum gekennzeichnet durch eine weiter fortschreitende Regression der C.II. und die Anbildung einer größeren Anzahl von Follikeln. Trotz beobachteter Atresie größerer Follikel und in dieser Phase ansteigender Plasmaprogesteronwerte konnte die Bildung akzessorischer Gelbkörper, insbesondere bei den tragenden Tieren, nicht beobachtet werden.

4.3.4. Uterus

Der Uterus war in seiner Gesamtheit in einer Schnittebene nicht darstellbar. Die hohe Auflösungsfähigkeit der verwendeten Ultraschallsonde erlaubte jedoch die genaue Differenzierung der einzelnen Bestandteile der Uteruswand (Peri-, Myo- und Endometrium). Der Uterus ließ sich anhand einer das Perimetrium repräsentierenden stark echogenen Linie sehr gut gegen das umliegende Gewebe abgrenzen. Zur Darstellung des maximalen Durchmessers des Uterus sowie des Endometriums wurde der Uterus in mehreren Schnittebenen durchgescannt (Abb. 20). Dabei war die sonographisch charakteristische Kontur der großen und kleinen Krümmung Ausgangspunkt für die systematische Untersuchung des *Corpus uteri* und der Uterushörner. Die teilweise aufeinanderliegenden dorsalen und ventralen Hornabschnitte im Bereich der kleinen Krümmung riefen ein stärkeres Echo hervor als die äußere perimetriale Begrenzung des Uterus. Durch Schwenken des Ultraschallkopfes von medial nach lateral konnte der gesamte Verlauf der Uterushörner teils im Längs- und teils im Querschnitt verfolgt werden. Der Uterus war im Gegensatz zur *Cervix uteri* als homogene und im Vergleich zur Vagina als schwächer echogene Gewebestruktur charakterisiert.

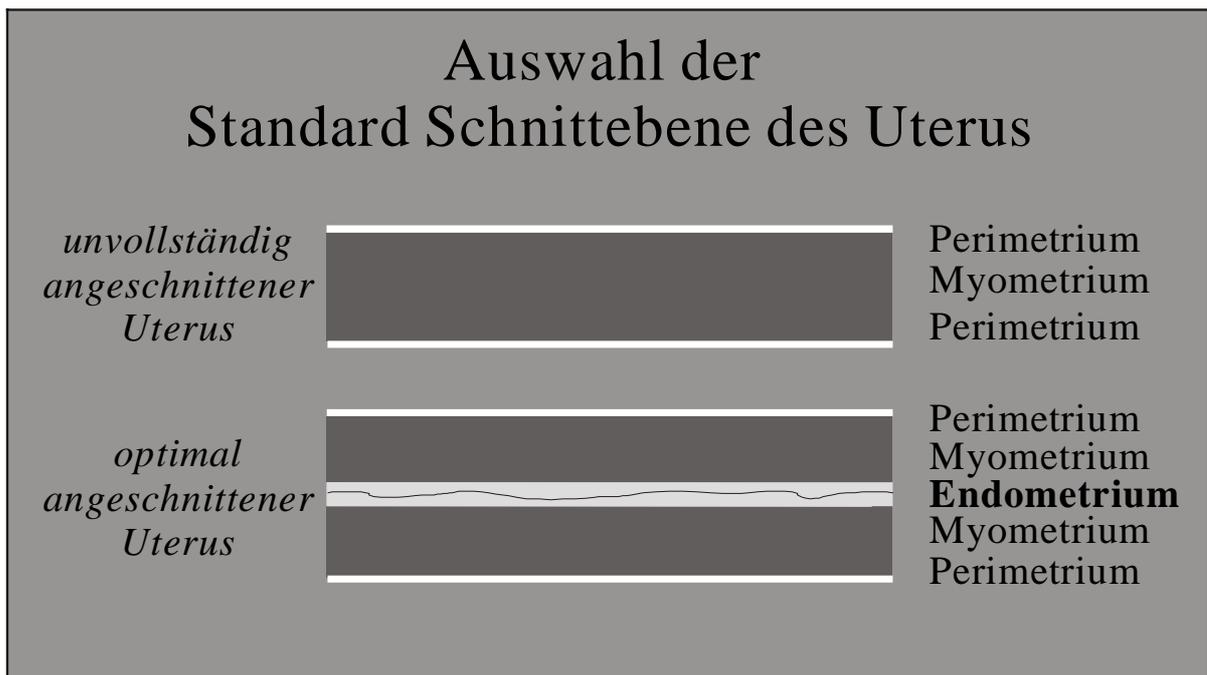


Abb. 20: Schematische Darstellung der optimalen Uterusschnittebene im Sonogramm, Standard Schnittebene. Linie im Endometrium repräsentiert aufeinanderliegende Uterusschleimhaut.

Beim Vergleich von nulliparen und uniparen Tieren mit älteren, pluriparen Tieren war sowohl ein Unterschied in der Gesamtgröße des Uterus als auch in dessen Grundechogenität feststellbar. So zeigte der Uterus älterer, pluriparer Tiere (Nr. 7, 8, 10, 11) ultrasonographisch größere Ausmaße, eine stärkere, widderhornartige Aufrollung sowie ein heterogeneres Erscheinungsbild vor allem des Myometriums im Vergleich mit jüngeren Tieren.

Die beiden aufeinanderliegenden Schleimhautblätter des Endometriums, im Sonogramm als endometriales Doppelblatt bezeichnet, stellten sich als ein homogen echogenes Band dar. Die aufeinanderliegenden Schleimhautoberflächen des Endometriums erzeugten aufgrund eines Impedanzsprunges eine schwache, weiße Mittellinie, die das Lumen des Uterus bezeichnete. Hinsichtlich Höhe und Aufbau des Endometriums war bei Tieren verschiedener Altersklassen kein Unterschied festzustellen. Gefundenen Veränderungen des Endometriums waren ausschließlich zyklusabhängig.

4.3.4.1. Sonomorphologische Veränderungen am Uterus während der Brunst

Das während der Brunstperiode durchgeführte Untersuchungsprofil ermöglichte die sonographische Erfassung von Umbauprozessen des Endometriums in diesem Zeitraum.

Zu Beginn der Brunst (14. Juli) hatte das endometriale Doppelblatt das Erscheinungsbild eines mittelechogenen Bandes mit einer Höhe im Bereich des bifurkationsnahen Uterushornes von 2,1 – 2,9 mm. Während der Hochbrunst (23. Juli) verbreiterte sich das endometriale Doppelblatt im Durchschnitt um 0,8 mm (2,5 – 5,5 mm). In der Hochbrunst war das sonographische Erscheinungsbild charakterisiert durch eine zentrale echogene Zone, umgeben von einer schwachechogenen Zone (Abb. 21). Am Ende der Brunstperiode (1. August) war das endometriale Doppelblatt insgesamt im Durchschnitt weiterhin verbreitert (Abb. 22). Bei drei Tieren (Nr. 4, 6, 9) war allerdings am Ende der Brunstperiode auch eine Verringerung des Endometriumlängsschnitts um 0,4 - 0,7 mm meßbar (Tab. 11). Zwei von diesen Tieren waren bereits neun Tage zuvor bei der Begattung beobachtet worden.

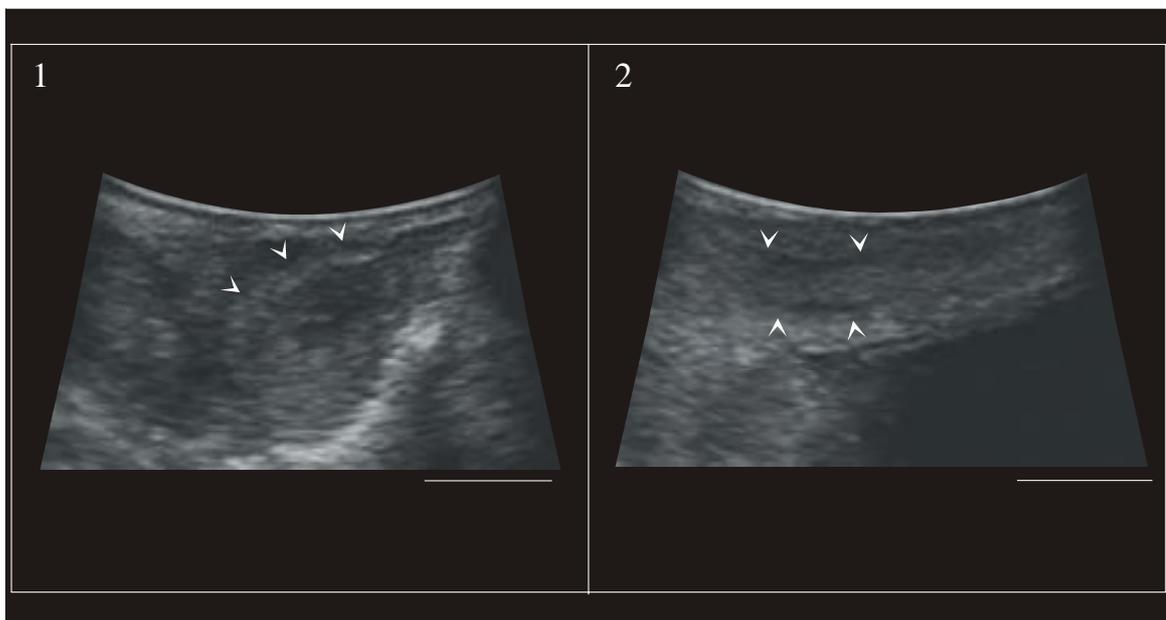


Abb. 21: Sonographisches Aussehen des Uterus von Rehen während der Brunst
 1. Brunstbeginn: Das endometriale Doppelblatt ist als mittelechogenes Band (<) gekennzeichnet. 2. Hochbrunst: Das Endometrium (<) ist charakterisiert durch eine zentrale echogene Zone, umgeben von einer peripheren schwachechogenen Zone.

Tab. 11: Durchmesser des Endometriums während der Brunstperiode (n=9).

Tier / Datum	Höhe des endometrialen Doppelblattes in mm									Mittelwert \bar{x}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
14. Juli	2,9	2,2	2,3	2,1	2,3	2,2	2,2	2,5	2,6	2,4 ± 0,3
23. Juli	3,8	3,4		5,5	2,5	3,5	3,2		3,7	3,7 ± 0,9
1. Aug.	4,2	3,7		4,9	3,8	3,1	5		3,0	4,0 ± 0,8

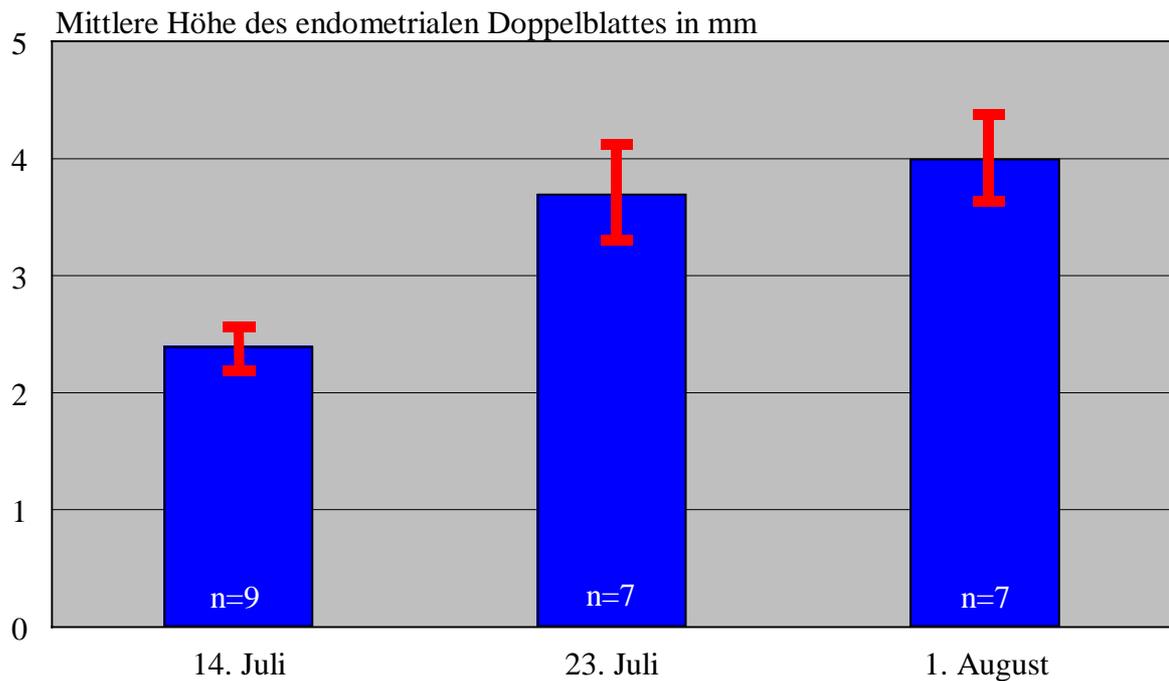


Abb. 22: Änderung der Höhe des endometrialen Doppelblattes von Rehen während der Brunstperiode.

4.3.4.2. Der Uterus gravider und nicht gravider Rehe während der embryonalen Diapause

Zu Beginn der eD hatte das Endometrium sonographisch das Erscheinungsbild eines flachen echogenen Bandes, das bei graviden und nicht graviden Tieren gleich ausgeprägt war. Die sonographische Textur des Endometriums von Tieren mit unterschiedlichem Reproduktionsstatus ließ sich in den beiden ersten Monaten der eD (August/September) qualitativ nicht unterscheiden. Im dritten und vierten Monat der eD (Oktober/November) war eine geringfügige Änderung die Echogenität des Endometriums gravidier Individuen im Sonogramm zu erkennen. Gravidie Tiere fielen sonographisch durch eine schwächer werdende Echotextur des Endometriums auf. Im Vergleich mit nicht graviden Tieren bedeutete dies eine zunehmende Flüssigkeitseinlagerung in das Endometrium. Im Dezember, dem letzten Monat der Diapause, konnte das Endometrium gravidier Tiere bereits als deutlich vergrößertes, schwachechogenes Band im Sonogramm differenziert werden. Im Gegensatz dazu war das Erscheinungsbild des Endometriums nicht gravidier Individuen weiterhin echogen und flach. Freie Flüssigkeit im Uteruslumen als Zeichen einer endometrialen Sekretion konnte noch Mitte Dezember bei graviden Tieren nicht nachgewiesen werden (Abb. 23/24).

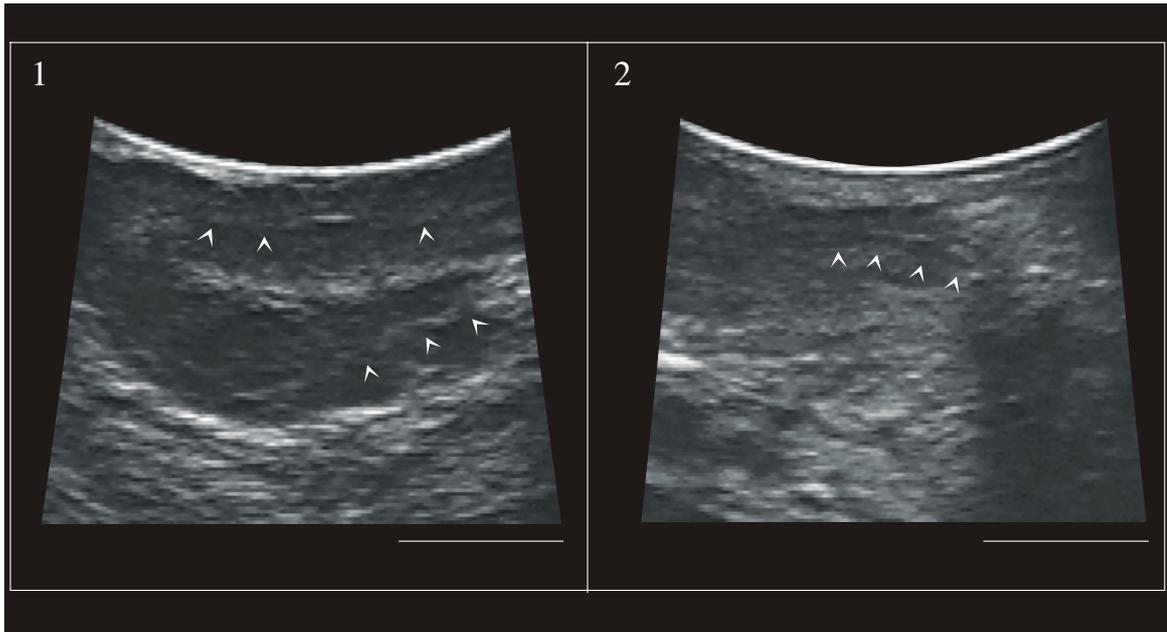


Abb. 23: 1. Uterussonogramm eines nicht graviden Rehs (Nr.4) im Oktober
2. Uterussonogramm eines graviden Rehs (Nr.9) im Oktober
Das Endometrium des graviden Tieres stellt sich im Kontrast zur stark echogenen Linie des nicht graviden Tieres als dunkleres, echoarmes Band dar.

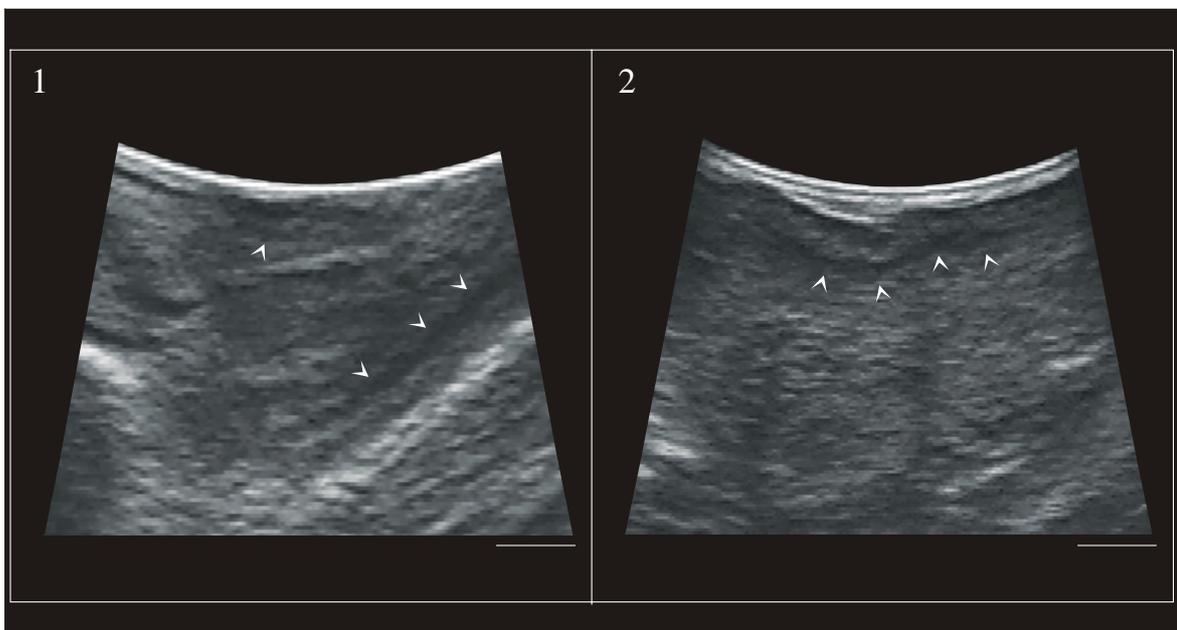


Abb. 24: 1. Uterussonogramm eines graviden Rehs im November (Nr. 7)
2. Uterussonogramm eines graviden Rehs Dezember (Nr. 7).
Das Endometrium (<) ist als dunkles echoarmes Band charakterisiert.

Da das menschliche Auge lediglich 16 - 25 verschiedene Grautöne zu unterscheiden vermag, Ultraschallbilder des verwendeten Computersonographen aber bis zu 64 Graustufen enthalten, ist die Auswertung und Analyse von Sonogrammen mit einem optischen Informationsverlust von ca. 60 - 75 % behaftet. Für die Quantifizierung geringfügiger, nicht offensichtlicher Veränderungen des Endometriums von August bis Dezember wurde daher anhand digitalisierter Videostandbilder eine GSA durchgeführt, deren Ergebnis im nachfolgenden Abschnitt 4.4. beschrieben ist.

Die Vermessung des Uterus gravidier Tiere ergab eine Zunahme des Durchmessers am Ende der eD im Dezember, synchron zu der in diesem Zeitraum einsetzenden, raschen Elongation des Trophoblasten. Die Zunahme des Uterusdurchmessers gravidier Tiere erfolgte somit erst drei Monate nach der bereits im Oktober beobachteten Texturveränderung des Endometriums. Die Wachstumsgeschwindigkeit des Trophoblasten in der periimplantativen Phase ist vergleichbar mit der anderer, etwa gleichgroßer Wiederkäuerarten in diesem Abschnitt der Trächtigkeit. Im Sonogramm war das am Ende der eD beschleunigte Wachstum des Trophoblasten gekennzeichnet durch die Zunahme der von Fruchthüllen umgebenen Fruchtfüssigkeit. Das schwachechogene Endometrium gravidier Tiere, das zuvor noch charakterisiert war durch die Flüssigkeitseinlagerung während der eD, ließ sich in der raschen Elongationsphase des Trophoblasten kaum von der Uteruswand anliegenden Fruchtmembranen unterscheiden.

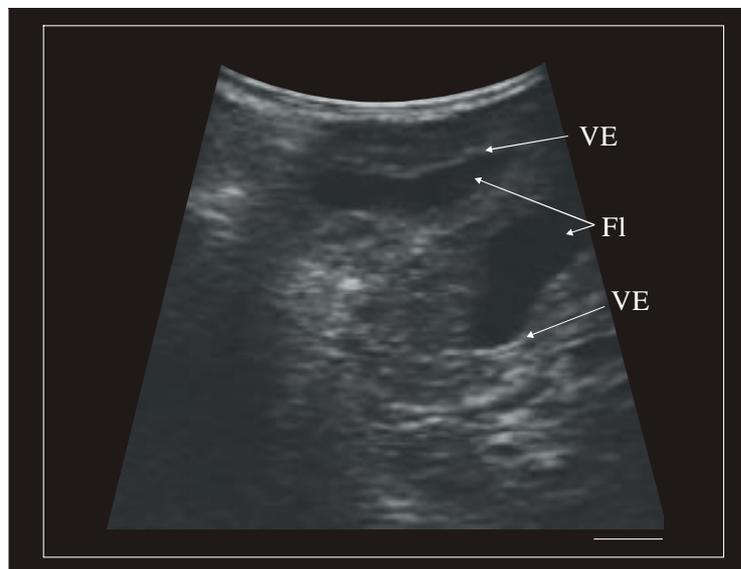


Abb. 25: Uterussonogramm eines Rehs am Ende der embryonalen Diapause. Mit anechogener Flüssigkeit (FI) gefüllter Trophoblast der Uteruswand anliegend. Verstärkungsechos (VE) kennzeichnen den hohen Impedanzunterschied zwischen Uterusgewebe und freier Flüssigkeit.

4.4. Computergestützte Graustufenanalyse endometrialer Strukturveränderungen während der embryonalen Diapause

Im Hinblick auf die GSA wurde bereits während der Untersuchungen darauf geachtet, daß der Uterus in einer für die GSA optimalen gleichbleibenden Position der sogenannten Standard - Schnittebene im Ultraschallbild dargestellt wurde, um systemische Fehlerquellen bei der späteren Analyse auszuschließen. Die Größe des gewählten Analysefensters (16 x 16 Pixel) ermöglichte im digitalisierten Videostandbild eine Platzierung des Analysefeldes, bei der das angrenzende myometriale Uterusgewebe von der Berechnung der Grauerthäufigkeitsverteilung ausgeschlossen wurde. Die graphische Darstellung der Grauerthäufigkeitsverteilung erfolgte in Form eines Histogramms (Abb. 26).

Die statistische Auswertung der Daten zeigte, daß beginnend im Oktober die mittleren Mediane der Grauerthistogramme gravider Tiere signifikant niedriger waren als die nicht gravider Tiere ($p < 0,05$). Die Differenz der mittleren Mediane (Δ) betrug:

im Oktober $\Delta = 17,11$ Graustufen

im November $\Delta = 13,29$ Graustufen und

im Dezember $\Delta = 14,97$ Graustufen.

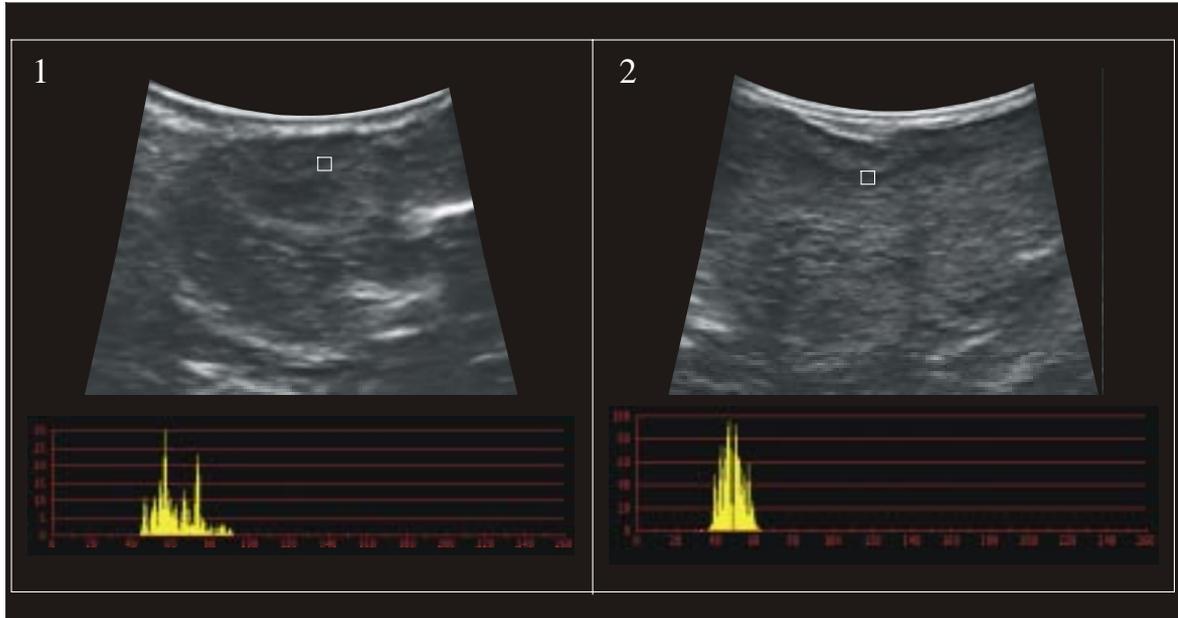


Abb. 26: GSA des Endometriums eines nicht graviden (1.) und eines graviden (2.) Rehs im Dezember. Vom weiß umrahmten Analysefenster wurden die Graustufenhistogramme erstellt. Beim tragenden Reh dominieren deutlich die dunklen, flüssigkeitsassoziierten Graustufen im Gegensatz zu einer breiten, helleren Graustufenpalette beim nicht graviden Reh.

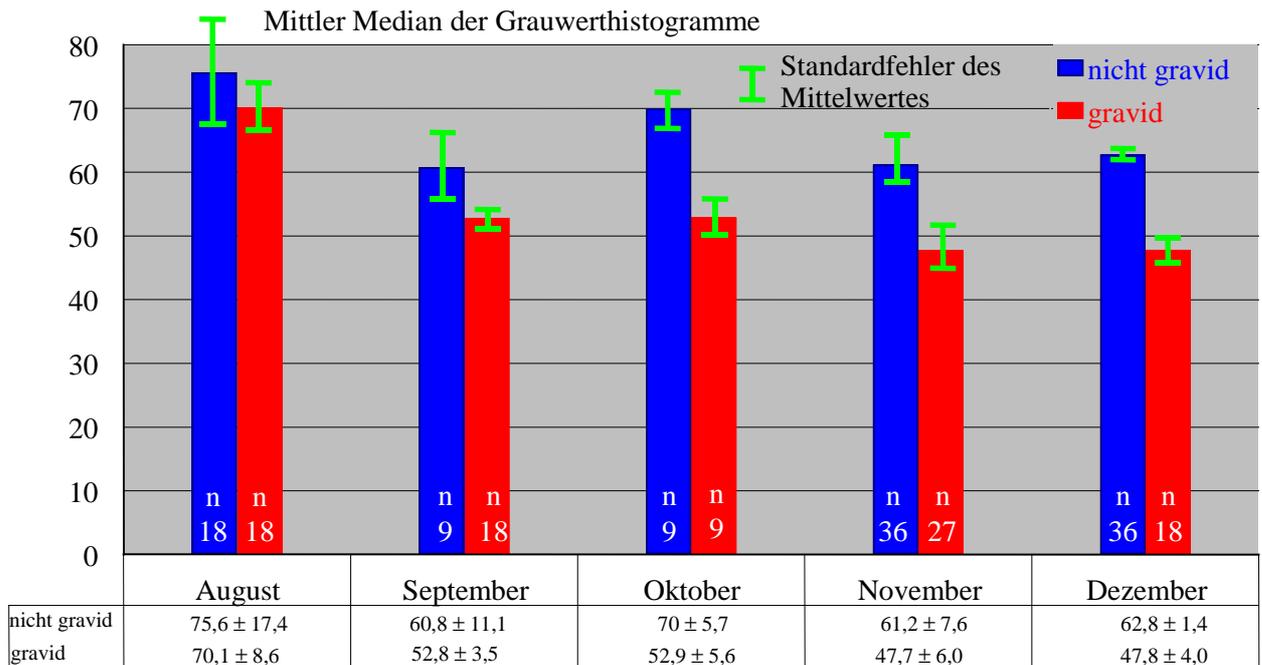


Abb. 27: Quantifizierung der Umbauprozesse des Endometriums während der Diapause. Mittlere Mediane der Graustufenhistogramme des Endometriums gravid und nicht gravid Tiere (n = Anzahl durchgeführter Messungen).

In den beiden vorhergehenden Monaten August/September lag die Differenz der mittleren Mediane gravid und nicht gravid Tiere bei $\Delta = 5,5$ bzw. $\Delta = 7,96$ Graustufen. Obwohl sich die Werte im September gravid und nicht gravid Tiere noch nicht signifikant voneinander unterschieden, waren die Werte gravid Tiere in diesem Monat bereits genauso niedrig wie in den darauf folgenden Monaten der eD. Somit war der Beginn einer endometrialen Flüssigkeitseinlagerung bereits im September vier Monate vor der Implantation zu erkennen. (Abb. 27).

Die Verifizierung der mit Hilfe der TAS in Kombination mit der GSA diagnostizierten Frühgraviditäten erfolgte durch den sonographischen Nachweis embryonalen Gewebes sowie embryonaler Vitalitätszeichen in der postimplantativen Phase der Embryonalentwicklung (Abschnitt 4.5.).

Die vorgestellten qualitativen und quantitativen Ergebnisse sonographischer Verlaufsuntersuchungen des Reh - Uterus während der eD dokumentieren die dynamischen Umbauprozesse des Endometriums gravid Tiere in den letzten drei Monaten der eD. Es gelang der sonographische Nachweis, daß es sich bei der endometrialen Drüsensekretsynthese und -retention um einen fortlaufenden, mindestens drei Monate vor Ende der eD einsetzenden Vorgang handelt. Im Gegensatz zu der sich nicht unterscheidenden Echotextur der C.II. während der eD konnten anhand der nachgewiesenen endometrialen Flüssigkeitseinlagerung gravid von nicht graviden Tieren bereits ab Oktober diskriminiert werden. Die computergestützte GSA erwies sich als

geeignete Methode, sonographische Ergebnisse zu objektivieren und gleichzeitig die beschränkten Fähigkeiten des menschlichen Auges zur Graustufendifferenzierung zu kompensieren. Mit Hilfe der bisher in der Veterinärmedizin nur wenig verwendeten GSA gelang erstmalig die Quantifizierung schwer differenzierbarer, geringer Echotexturveränderungen des Endometriums bei graviden und nicht graviden Tieren während der eD.

4.5. Postimplantative Embryonal- und Foetalentwicklung

4.5.1. Embryonalentwicklung

Im weiteren Verlauf embryonalen Wachstums konnte ab Anfang Januar die postimplantative Embryonalentwicklung transrektal sonographisch verfolgt werden. Die Geschwindigkeit dieser Entwicklungsphase wurde durch die Darstellung des von Allantoisflüssigkeit umgebenen embryonalen Dottersacks (1 - 2 mm) eines Individuums (Nr. 6) sowie zweier Embryonen (SSL 8/8,5 mm) eines anderen Rehs (Nr. 9) in einem Zeitabstand von nur 10 Tagen Anfang Januar dokumentiert. An den dargestellten Embryonen konnten deutlich Kopf und Rumpf sowie die Extremitätenanlagen differenziert werden. Auch die Nabelschnur war bei günstiger Lage des Embryos als weiße embryomaternale Verbindung im Sonogramm sichtbar. Eine echogene Erhabenheit des Endometriums in unmittelbarer Nähe der Embryonen wurde als erstes Anzeichen der Plazentombildung gewertet (Abb. 28). Das den Embryo umgebende Amnion stellte sich als linienförmiges Echo dar. Die Integrität dieser Membran sowie der Nachweis des embryonalen Herzschlages stellten deutliche Vitalitätszeichen des Conceptus dar. Davon eindeutig abgrenzbar waren die sonographischen Befunde, die bei embryonalem Frühtod erhoben werden konnten (Abschnitt 4.6.1.). Als bevorzugte Implantationsstellen wurden die Uterushörner im Bereich der großen Krümmung identifiziert. Bei den untersuchten Einlingsträchtigkeiten wurde, obwohl das Allantochorion beim Reh den gesamten Uterus ausfüllt, eine Asymmetrie der Uterushörner festgestellt.

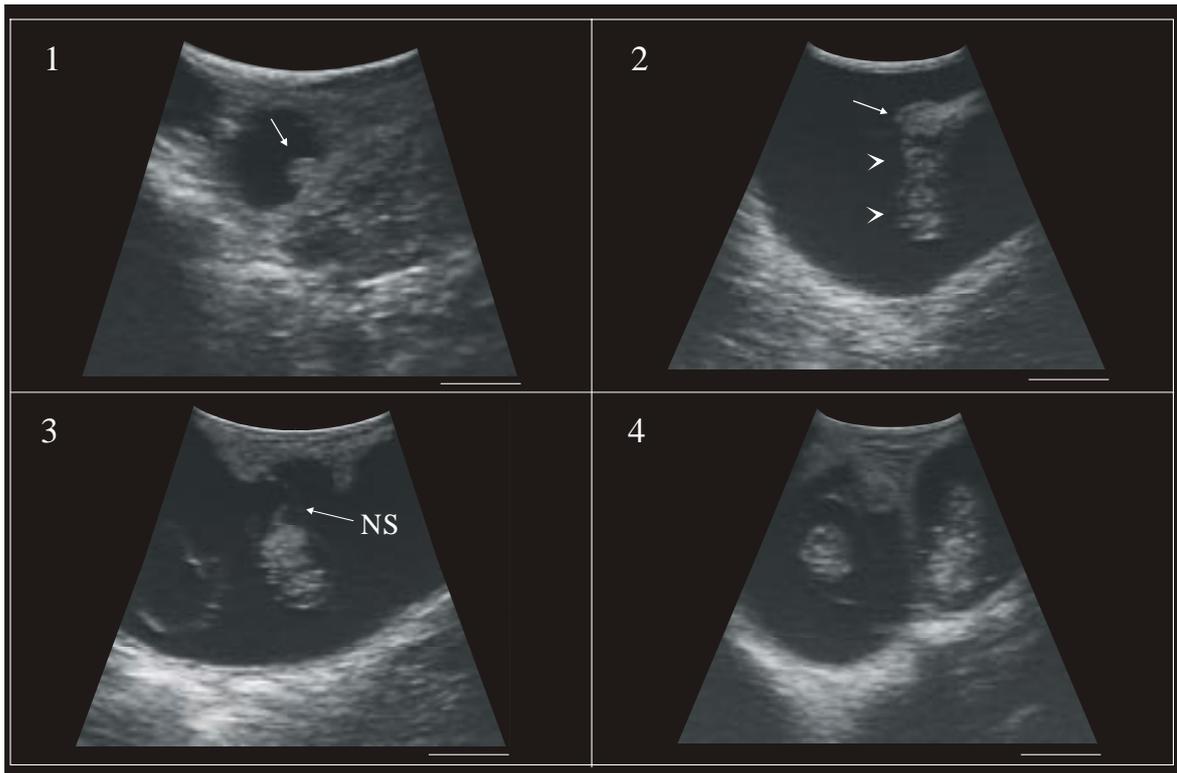


Abb. 28: Sonogramme verschiedener Stadien der frühen Embryonalentwicklung von Rehen: 1. stark echogener, von Flüssigkeit umgebener Dottersack (\uparrow). 2. Embryo mit klar konturiertem Kopf und Rumpf (\leftarrow) und darüber (\uparrow) ein sich entwickelndes Plazentom. 3. Zum Embryo hinziehender Nabelstrang (NS). 4. Zwillingsgravidität.

4.5.2. Foetalentwicklung und Foetometrie

Ende Januar/Anfang Februar konnten bereits Organstrukturen dargestellt werden, die auf eine abgeschlossene Embryonalentwicklung hindeuteten. Ab diesem Zeitraum wurde der Conceptus als Foetus angesprochen. Die TAS ermöglichte hierbei die Erstellung detaillierter Schnittbilder foetaler Organe. Am Kopf gelang frühzeitig die sonographische Differenzierung der stark echogenen Schädelknochen, der flüssigkeitsgefüllten Augenanlagen und der schwach echogenen Gehirnanlage mit dessen anechogenen Ventrikeln. Am Rumpf zeichneten sich Wirbelsäule, Rippen und Sternum durch stark reflektierende Echos aus. Große parenchymatöse Organe wie Herz, Lunge, Leber und Niere gaben charakteristische sonographische Echos. Besonders gut darstellbar waren die flüssigkeitsgefüllten Organe wie Herz, Magen und Harnblase.

Aufgrund der schwach echogenen Herzkammern konnte die Pulsation des Herzens als entscheidendes Vitalitätskriterium festgestellt werden. Der foetale Rehmagen war bereits zu einem frühen Zeitpunkt aufgrund seiner mehrkammerigen Struktur, gekennzeichnet durch mehrere flüssigkeitsgefüllte Kompartimente, sonographisch markant (Abb.29). Die zu diesem Zeitpunkt gut ausgebildeten, von der Uteruswand sich vorwölbenden Plazentome hatten variierende Längsdurchmesser von bis zu 35,7 mm und waren in ihrer Gesamtzahl sonographisch schwer erfassbar. Ihre mittelechogene Innenstruktur war von einer echointensiven Mittelzone durchzogen, die eine in das Plazentom hineinreichende Falte des Endometriums repräsentierte. Begrenzt wurden die Plazentome durch einen echostarken Randsaum, der durch den großen Impedanzsprung vom Allantochorion zur Binnenflüssigkeit entsteht (Abb.29).

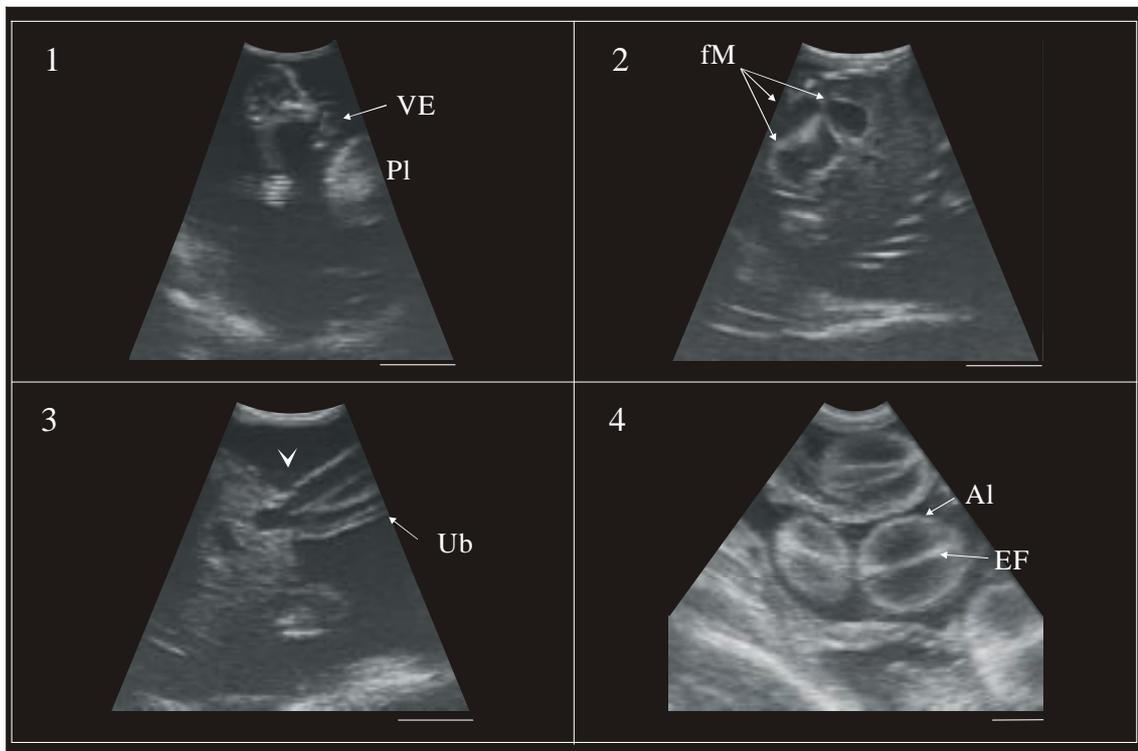


Abb. 29: 1. Querschnitt eines Rehfoetus im Kopf-Rumpf-Bereich. Oft war eine Vorderextremität (VE) in der Nähe des Maules zu finden, dicht benachbart ein Plazentom (PI). 2. gekammerte foetale Magenblase (fM) umgeben von Leberparenchym und den umschließenden Rippen. 3. Eintritt des Umbilicus (Ub) in die foetale Leibeshöhle (<). 4. transkutanes Sonogramm mehrerer Plazentome. Die homogene Innenstruktur wird von einer Endometrium-Falte durchzogen (EF). Das Allantochorion (Al) als Begrenzung erscheint stark echogen.

Von den einmalig untersuchten 44 Rehen aus einer französischen Population (Ort III) wurde bei 75 % der Tiere eine Trächtigkeit festgestellt. Bei 36,4 % aller sonographisch bestimmten Trächtigkeiten konnte eine Einlingsträchtigkeit, bei 51,5 % eine Zwillingssträchtigkeit, bei 9,1 % ein Drillingsträchtigkeit und bei 3,0 % ein Vierlingsträchtigkeit diagnostiziert werden (Abb. 30). Obwohl bis zu vier Fruchtanlagen pro Tier gefunden wurden, konnte bei keinem der Tiere mehr als zwei lebende Fruchtanlagen nachgewiesen werden (Abschnitt 4.6.1.).

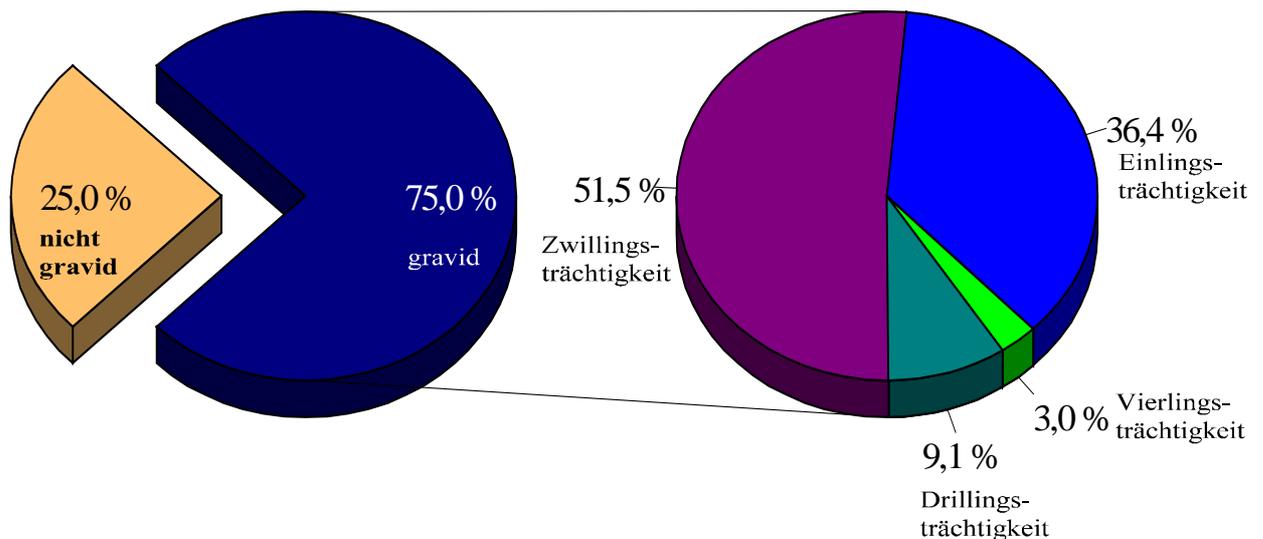


Abb. 30: Mittels TAS ermittelte Trächtigkeiten in einer freilebenden französischen Rehpopulation Ende Januar (n = 44).

Die Darstellung mehrerer Fruchtanlagen gelang nur selten in einer Schnittebene. Durch eine kontinuierliche Drehung des Schallkopfes in seiner Längsachse konnte die wiederholte Darstellung ein und desselben Foeten ausgeschlossen und somit die Diagnose einer Mehrlingsträchtigkeit sicher gestellt werden.

In den Verlaufsuntersuchungen erwies sich für die sonographische Foetaldiagnostik in der Hochträchtigkeit (April) die transkutane Applikation eines niederfrequenten Schallkopfes der TAS als überlegen. Sowohl Anzahl und Größe der Plazentome als auch die Größe des Foeten selbst ließen eine übersichtliche Darstellung foetaler Strukturen nicht mehr zu. Der sich durch eine höhere Eindringtiefe auszeichnende transkutane Ultraschallkopf (3,5 MHz) erlaubte, neben einer besseren Übersichtsdarstellung, vor allem eine der Lage des Foetus angepaßte Schallkopfführung.

Die Nabelschnur, im Januar/Februar zunächst nur ein echogener Strang, konnte mit fortgeschrittener Foetalentwicklung im April sowohl im Quer- als auch im Längsverlauf unter Darstellung der *Vv.umbilicales*, der *A.umbilicalis* und des *Urachus* bis zum Eintritt in das foetale Abdomen sonographisch dargestellt werden. Die sich der *A. umbilicalis*

anschließende foetale *V. hepatica* konnte ebenfalls verfolgt werden. Die Integrität der foetalen Struktur und seiner umhüllenden Membranen sowie Herzschlag und Bewegung des Foetus bildeten eindeutige Lebenszeichen.

Bei den insgesamt 44 in Frankreich Ende Januar untersuchten Tieren konnte eine große Variabilität der foetalen Körpergröße festgestellt werden. Die größte und kleinste gemessene Scheitelsteißlänge (SSL) aller untersuchten Foeten wies eine Differenz von 58,1 mm auf (16,9 mm gegenüber 75,0 mm). Dabei kam es bei Foeten mit SSL > 45 mm zu Darstellungsschwierigkeiten des gesamten Foetus innerhalb eines Schnittbildes. Die Berechnung der durchschnittlichen SSL und des durchschnittlichen BP im Januar ergab keine Entwicklungsunterschiede zwischen Foeten der untersuchten französischen und deutschen Rehpopulation. Es wurde damit ein geographisch-klimatisch bedingter Einfluß auf die Länge der eD ausgeschlossen (Tab. 12 / 13).

Tab. 12: Scheitelsteißlänge (SSL), Biparietaler Abstand (BP) und Größen nicht intakter Fruchtanlagen (Resorptionen) bei 33 Rehen einer Wildpopulation. Untersucht zwischen 21. - 25. Januar in Chize', Frankreich (Ort III., 46°10' Nord / 0°30' Ost). Teilweise waren aufgrund der sonographischen Schnittebene keine Messungen möglich (kM).

Zahl	Tier Nr.	Lebender Konzeptus 1		Lebender Konzeptus 2		Resorptionen	
		SSL (mm)	BP (mm)	SSL (mm)	BP (mm)	1 (mm)	2 (mm)
1	25	16,9	5,2				
2	1	17,6	6,9	15,7	6,6		
3	18	20,0	7,2			23,3 x 10,4	8,0 x 6,1
4	13	20,3	kM	32,7	11,0		
5	32	20,8	5,8	kM	6,2		
6	17	22,6	8,2				
7	3	24,1	7,9				
8	5	25,2	9,0				
9	27	25,4	10,2	kM	11,4		
10	10	26,0	7,6	21,1	8,1	18,0 x 9,0	11,3 x 6,3
11	31	28,2	8,3	27,9	10,5		
12	12	29,2	10,7	33,9	6,5	16,5 x 11,0	
13	33	29,8	11,1	kM	kM		
14	15	30,2	15,8			8,1 x 8,1	
15	11	31,3	11,0			20,8 x 1,6	64,1 x 21,0
16	28	32,0	12,1	27,3	kM		
17	19	34,2	14,4				

Zahl	Tier Nr.	Lebender Konzeptus 1		Lebender Konzeptus 2		Resorptionen	
		SSL (mm)	BP (mm)	SSL (mm)	BP (mm)	1 (mm)	2 (mm)
18	4	35,3	11,8	37,4	12,7		
19	2	42,3	12,5				
20	29	44,7	13,8	42,9	kM		
21	22	45,1	11,5	kM	10,3		
22	9	53,7	18,6	kM	14,7		
23	6	75,0	15,8				
24	7	kM	15,0	kM	19,3		
25	16	kM	kM			16,2 x 17,6	
26	23	kM	12,4				
27	20	kM	14,0				
28	21	kM	14,8	kM	16,1		
29	8	kein	lebender	Konzeptus		37,0 x 13,0	
30	14	kein	lebender	Konzeptus		11,0 x 11,5	
31	24	kein	lebender	Konzeptus		9,0 x 7,5	5,0 x 6,3
32	26	kein	lebender	Konzeptus		5,2 x 4,3	4,9 x 5,3
33	30	kein	lebender	Konzeptus		30,3 x 19,3	
				$\bar{x}_{SSL} = 29,3 \pm 12,8 \text{ mm}$		$\bar{x}_{BP} = 10,4 \pm 3,3 \text{ mm}$	

Tab. 13: Scheitelsteißlänge (SSL), Biparietaler Abstand (BP) und Größen nicht-intakter Fruchtanlagen (Resorptionen) von Tieren aus Gehegehaltung in Niederfinow, Deutschland (52°44' Nord / 13°50' Ost). Teilweise waren aufgrund der sonographischen Schnittebene keine Messungen möglich (kM).

Anzahl (n)	Tier- nr.	Lebender Konzeptus 1		Lebender Konzeptus 2		Resorption (mm)
		SSL (mm)	BP (mm)	SSL (mm)	BP (mm)	
1	1	kM	11,1			
2	2	30	9,8	36,3	kM	10,0
3	3	27,7	9,7	kM	10,0	
4	4	22,4	7,1			
				$\bar{x}_{SSL} = 29,1 \pm 5,8 \text{ mm}$		$\bar{x}_{BP} = 9,5 \pm 2,9 \text{ mm}$

4.6. Vorkommen embryonaler Fruchtresorptionen und des foetalen Aborts beim Reh

Die embryonale Fruchtresorption tritt beim Reh in unterschiedlichen Phasen der Embryogenese auf. Sowohl präimplantativ im Zygoten-, Mehrzell- oder Blastozystenstadium als auch postimplantativ kann es zu einer vollständigen embryonalen Fruchtresorption kommen. Im Gegensatz zur Resorption embryonaler Fruchtanlagen wird der vorzeitige Abgang einer nicht lebensfähigen oder frühreifen Frucht als Abort bezeichnet. Ein Abort tritt vorwiegend während der Foetalentwicklung ein. Ein Abgang der Fruchtanlage kann, soweit sie nicht vollständig resorbiert wird, auch im Embryonalstadium auftreten. Sowohl die postimplantative embryonale Fruchtresorption als auch ein Abort erzeugen charakteristische sonographische Bilder.

Bei der Darstellung von bis zu vier Fruchtanlagen tragender Rehe Ende Januar konnten bei keinem der untersuchten Tiere mehr als zwei lebende Fruchtanlagen nachgewiesen werden. Die große Anzahl postimplantativer embryonaler Fruchtresorptionen sowie der Nachweis einer Fehlgeburt (*Abortus immaturus*) konnten sonographisch dokumentiert werden. In Kombination mit der GSA gelang auch der Nachweis einer präimplantativen embryonalen Fruchtresorption.

4.6.1. Embryonale Fruchtresorption während der embryonalen Diapause

Bei einem Tier (Abb. 19, Nr. 11) konnte eine embryonale Resorption während der eD nachgewiesen werden. Als Nachweismethodik diente die TAS in Kombination mit der computergestützten GSA. Einschließlich des Monats November, dem vierten Monat der eD, waren bei diesem Tier die oben beschriebenen, sonomorphologisch charakteristischen Strukturveränderungen des Endometriums als deutliche Anzeichen einer Gravidität zu beobachten. Im Dezember hatte sich die endometriale Echotextur, entgegen der beobachteten Entwicklung bei graviden Tieren, nicht weiter verdunkelt, sondern war gleich dem Sonogramm nicht gravidier Tiere echointensiver geworden (Abb. 31).

Die Quantifizierung der Echotexturveränderung des Endometriums mit Hilfe der GSA ergab einen Anstieg des mittleren Medians der Grauerthistogramme von $41,78 \pm 2,68$ Graustufen im November auf $61,67 \pm 3,77$ Graustufen im Dezember (Abb.32). Die Differenz von $\Delta = 19,89$ Graustufen zwischen den mittleren Medianen der Monate November und Dezember dokumentiert einen wesentlich geringeren Flüssigkeitsgehalt des Endometriums im Dezember im Vergleich zum Vormonat. Schlußfolgernd wurde die Abnahme des Flüssigkeitsgehaltes als vollständige präimplantative, embryonale Fruchtresorption gewertet.

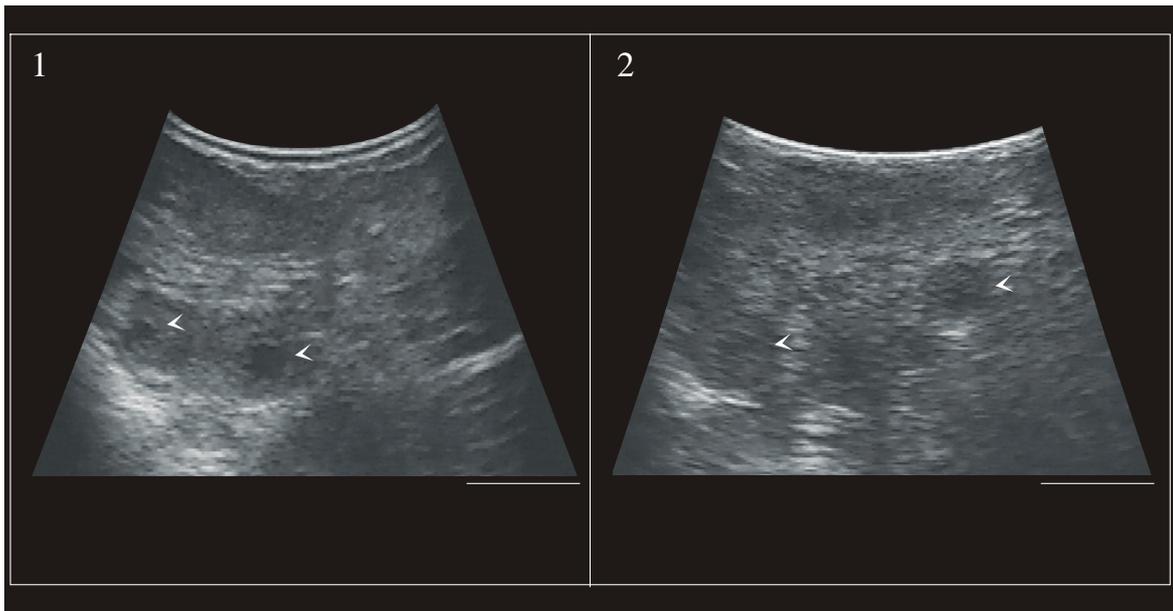


Abb. 31: Sonographisches Erscheinungsbild einer präimplantativen Resorption eines Rehs während der eD. 1. Typisches trächtigkeitsassoziiertes Endometrium (<) mit geringer Echogenität im November. 2. Die Echogenität des Endometriums (<) nahm im Dezember entgegen der Erwartung wieder zu.

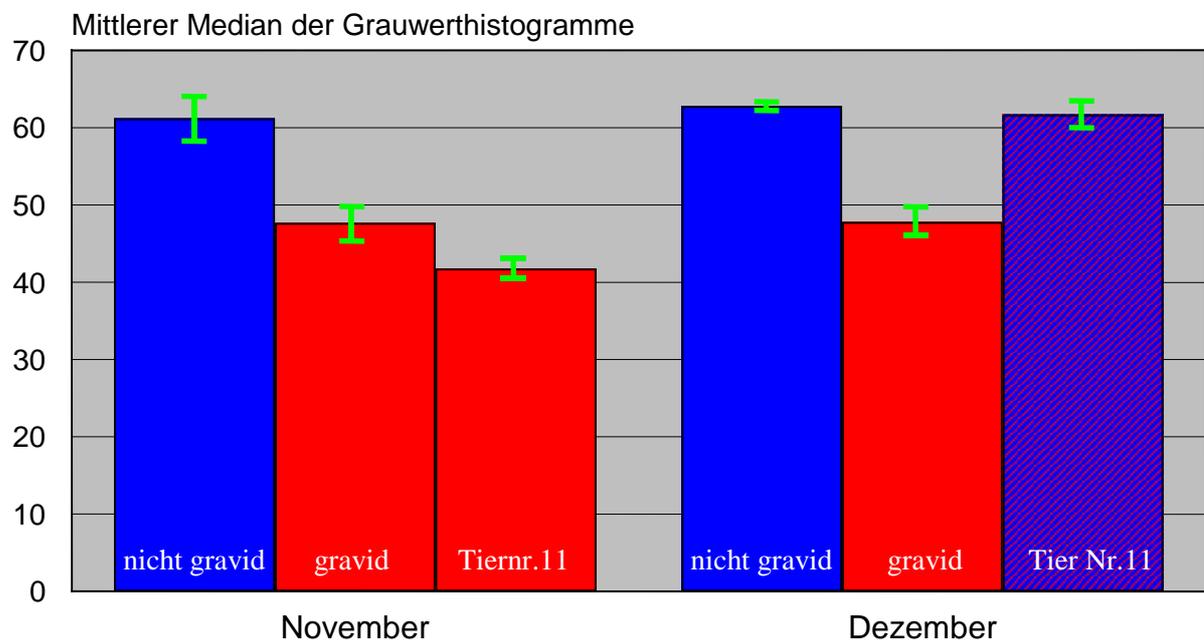


Abb. 32: Mittlere Mediane der Grauerthistogramme des Endometriums von nicht graviden und graviden Tieren sowie des Tieres Nr. 11 in den Monaten November und Dezember. Entgegen der erwarteten Entwicklung bei graviden Tieren ist die Echotextur des Endometriums des Tieres Nr. 11 im Dezember wesentlich heller als im Vormonat.

4.6.2. Postimplantative embryonale Resorptionen

Eindeutig abgrenzbar zum sonographischen Aussehen intakter Embryonalanlagen waren die Befunde, die bei postimplantativen embryonalen Fruchtresorptionen erhoben werden konnten. Das Fehlen von Vitalitätszeichen wie Herzschlag und pulsierende Nabelschnur sowie der Integritätsverlust der Fruchtmembranen und der embryonalen Strukturen bildeten die Parameter für die Diagnose eines embryonalen Fruchttodes. Bei den im Januar an einer französischen Wildpopulation durchgeführten Trächtigkeitsuntersuchungen konnte unter Berücksichtigung dieser Kriterien eine hohe Inzidenz embryonaler Fruchtresorptionen festgestellt werden. 11 der insgesamt 33 als tragend diagnostizierten Tiere zeigten Anzeichen eines embryonalen Frühtodes. Dieser war sonographisch charakterisiert durch

- (i) strukturlose embryonale Zellmassen innerhalb der Fruchtmembranen sowie
- (ii) frei flotierender Fruchtmembranen mit echogenem Inhalt (Abb. 33).

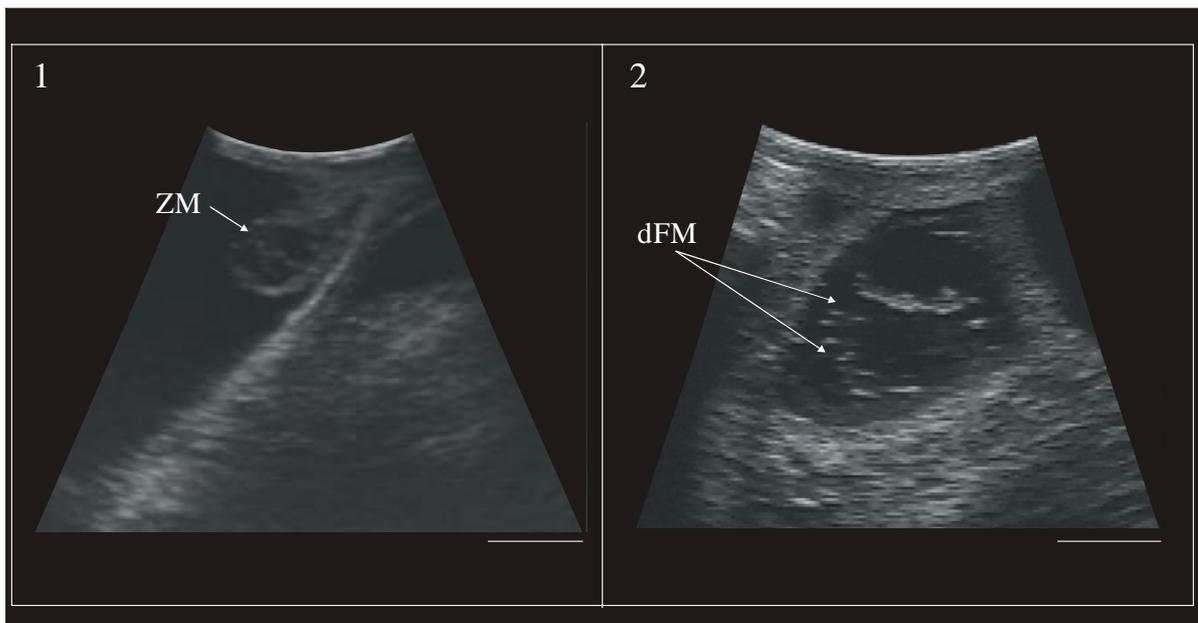


Abb. 33: Sonographisches Erscheinungsbild embryonalen Frühtodes bei Rehen:
 1. strukturlose, von Fruchthüllen umgebene Zellmassen (ZM).
 2. Diskontinuierliche, frei flotierende Fruchthüllen mit teils starken internen Echos.

Bei 12,1 % der trächtigen Tiere war nur noch eine von zwei oder drei Fruchtanlagen vital, so daß diese Trächtigkeiten ab diesem Zeitpunkt als Einlingsträchtigkeiten bezeichnet wurden. Bei 6,1 % der Tiere konnten zwei lebende Fruchtanlagen neben ein oder zwei embryonalen Fruchtresorptionen dargestellt werden, im folgenden als Mehrlingsträchtigkeit bezeichnet. Bei 15,2 % der graviden Tiere mit Zeichen embryonaler Fruchtresorption konnte keine intakte Frucht mehr dargestellt werden

(Abb. 34; Tab.12/13). Insgesamt belief sich das Vorkommen embryonaler Fruchtresorptionen auf 33,3 % (n = 11) der untersuchten wildlebenden Rehe.

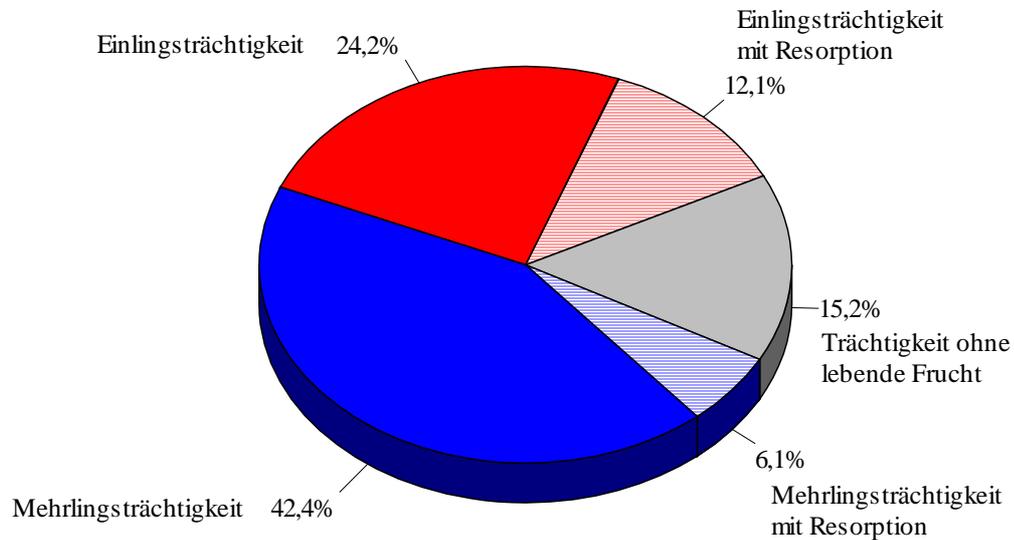


Abb. 34: Vorkommen embryonaler Fruchtresorption in einer freilebenden französischen Rehpopulation (n = 33).

4.6.3. Abort

Eine Fehlgeburt (*Abortus immaturus*) konnte sonographisch im April mittels TAS dokumentiert werden. Die Trächtigkeit des betreffenden Tieres (Abb. 19, Nr. 10) wurde beginnend in der eD sonographisch verfolgt. Den sonomorphologischen und quantifizierten Veränderungen des Endometriums während der eD folgte im Dezember die Darstellung eines Embryos und im Januar eines bereits gut entwickelten Foeten. Im Februar konnten dann im Uterus keine intakten foetalen Strukturen mehr nachgewiesen werden. Der in seinem Durchmesser merklich verkleinerte Uterus enthielt nur freie Flüssigkeit mit schneegestöberähnlich, echogenen Flocken (Abb. 35). Auch in der Vagina war intraluminal ein schwach echogener Flüssigkeitssaum sichtbar. Bei der Adspektion der Vagina mit Hilfe eines Spreizspekulums konnten diese sonographischen Befunde bestätigt werden. Die Vaginalschleimhaut wies dabei eine starke Rötung auf und eitriges Exsudat war im Lumen der Vagina sichtbar. Aus der leicht geöffneten Zervix trat ebenfalls eitriges Exsudat aus. Während der sonographischen Untersuchung gestatteten die verringerten Uterusdimensionen erneut eine transrektale sonographische Darstellung der Ovarien. Dabei kamen drei der vier im November vermessenen C.II. des rechten Ovars wieder zur Darstellung. Aufgrund der gleichen topographischen Lage der detektierten drei C.II. im Vergleich zu den während der eD beobachteten C.II. konnte bei diesem Tier eine

postimplantative Bildung akzessorischer C.II. ausgeschlossen werden. Zusätzlich hatte die Größe der C.II. gegenüber den während der eD im November ermittelten Werten wesentlich abgenommen (Tab. 10).

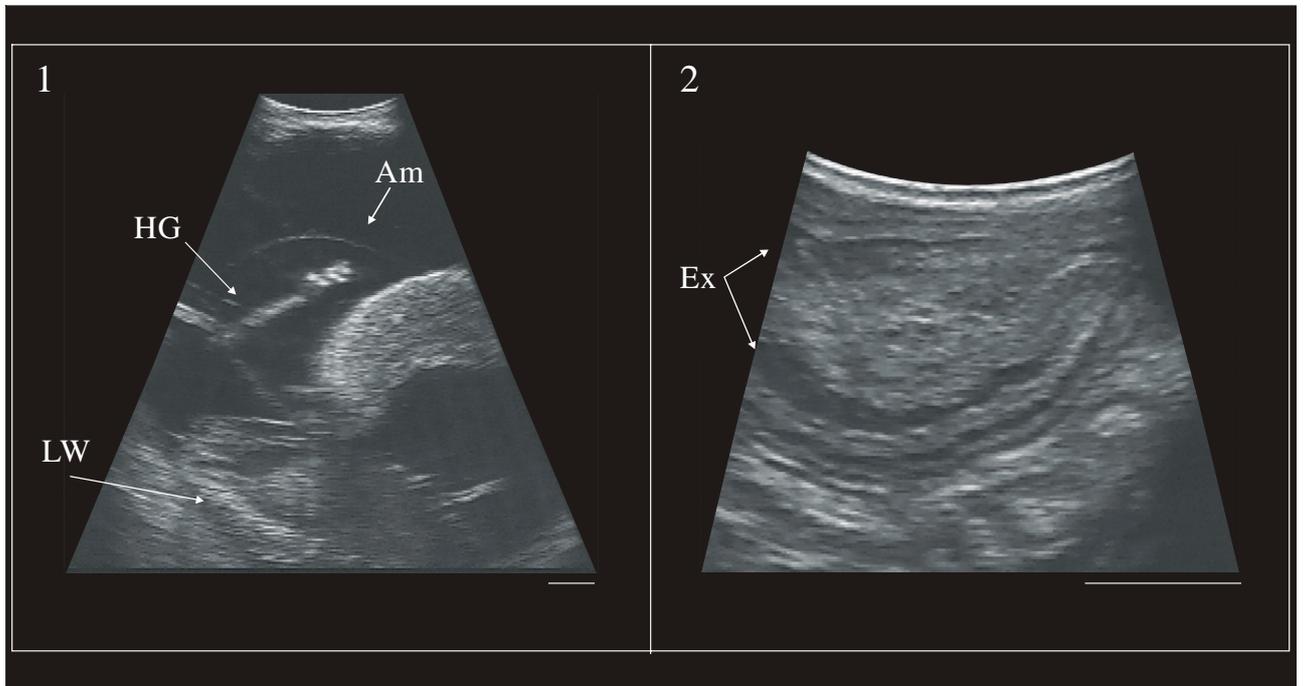


Abb. 35: Abort beim Reh: 1. intakter Foetus im Februar: Längsschnitt durch Hintergliedmaße (HG), Lendenwirbelsäule (LW). Das Amnion ist als feine weiße Linie gekennzeichnet. 2. mit Exsudat (Ex) gefüllter Uterus desselben Tieres mit schneegestöberähnlichen Reflektionen.

5. Diskussion

5.1. Sonographie des weiblichen Urogenitaltraktes beim Europäischen Reh mittels Transrektaler Adaptersonographie

Mit Hilfe der TAS gelang erstmals die detaillierte sonographische Darstellung aller Organe des Urogenitaltraktes beim nicht und frühgraviden Reh. Im Gegensatz zu anatomischen und morphologischen Studien (BISCHOFF, 1854; KEIBEL, 1902; SHORT und HAY, 1966; AITKEN et al., 1973; 1974; HORAK, 1989), die Einblicke in die Morphologie der Ovarien und des Uterus einzelner Rehe zu einem bestimmten Zeitpunkt beschrieben, war die TAS in der Lage, über den gesamten Zeitraum der Brunst und der eD ovarielle und uterine Umbauprozesse darzustellen sowie den Verlauf der postimplantativen Embryonal- und der frühen Foetalentwicklung zu verfolgen. Darüber hinaus bot die TAS neben der im Vordergrund stehenden sonographischen Beurteilung des Genitaltraktes die Möglichkeit, durch die Darstellung abdominalen Organe wie z. B. Niere, Blase und Nebenniere, den Gesundheitsstatus eines Tieres und dessen Reproduktionsfähigkeit zu beurteilen. Die hohe Auflösung der transrektal verwendeten 7,5 MHz Ultraschallsonde wurde bis in die Hochträchtigkeit für die detaillierte Darstellung des embryonalen und foetalen Wachstums genutzt. Der transkutane Ultraschall, der prinzipiell beim Reh die sonographische Darstellung embryonaler Strukturen ab Ende Januar ermöglicht (SEMPERE et al., 1989), wurde erst zum Ende der Trächtigkeit eingesetzt (April). Erst in der Hochträchtigkeit erwies sich der transkutane Ultraschall für die Darstellung foetaler Strukturen aufgrund der Größe und Anzahl der Plazentome sowie die Größe der Foeten der TAS als überlegen.

Die sonographische Ovardiagnostik ist besonders bei der Beurteilung des Reproduktionsstatus eines Tieres von Bedeutung. Sie gibt Aufschluß über die Zyklusaktivität eines Tieres oder eventuell vorhandene pathologische Veränderungen am Eierstock, wie z. B. zystische Degenerationen oder Ovarialtumoren (WHITE und ALLEN, 1985; ANDRESEN et al., 1986; KÄHN, 1991). Die Verwendung der TAS für die Ovardiagnostik beim Reh ermöglichte erstmals bei Cerviden eine differenzierte *in vivo* - Darstellung der verschiedenen Funktionskörper des Ovars sowie deren einzelne Entwicklungsstadien. Da bei keiner der 130 durchgeführten transrektalen Ultraschalluntersuchungen im Anschluß Blutspuren von eventuell verursachten Darmwandläsionen beobachtet werden konnten, wurde die Nichtinvasivität dieser Untersuchungstechnik (Ultraschalllexikon, 1996) unter Beweis gestellt. Die für sonographische Untersuchungen beim Reh entwickelte TAS (HILDEBRANDT, 1995 b; Fa. Schnorrenberg) wurde am IZW gleichzeitig in modifizierter Form auch bei einer Vielzahl anderer Zoo- und Wildtiere eingesetzt (KÄHN, 1992; GÖRITZ et al., 1994 a, 1996 c; THIELEBEIN et al., 1994; HILDEBRANDT et al., 1995 b; 1996 a, b, c). Die bereits von mehreren Autoren eingesetzte Sonographie ist für die Grundlagenforschung an

Zoo- und Wildtieren sowie für das Reproduktionsmanagement bedrohter Tierarten von wachsender Bedeutung (GÖRITZ, 1996).

5.2. Sonomorphologische Veränderungen der Genitalorgane während der Brunst

Die TAS erlaubte die kontinuierliche sonographische Darstellung des Genitaltraktes in der Brunst sowie während der gesamten eD und der postimplantativen Fruchtentwicklung. Mit Hilfe eines neuntägigen Untersuchungsintervalls in der Brunstperiode konnten sowohl die Anbildung großer antraler Follikel als auch endometriale Veränderungen während der Brunst sonographisch nachgewiesen werden. Anhand der topographischen Lage detektierter C.II. im Anschluß an die Brunst konnten retrospektiv diejenigen Follikel bestimmt werden, die zur Ovulation gekommen waren (Abb.18/19). Aufgrund des neuntägigen Untersuchungsabstandes gestaltete sich die Darstellung Graaf'scher Follikel bzw. frisch eingebluteter *Corpora haemorrhagica* schwierig. Die Darstellung eines frisch eingebluteten *Corpus haemorrhagicum* gelang daher auch nur in einem Fall (Abb.18, Tier Nr. 1 / Abb. 16). In Übereinstimmung mit dem sonographischen Erscheinungsbild der Proliferationsphase von C.II. bei Pferd und Rind (KÄHN, 1991; NYLAND und MATTOON, 1995) zeigte das *Corpus haemorrhagicum* beim Reh ein schwach echogenes Zentrum mit einem echogenen Randsaum. Am Ende der Proliferationsphase lutealen Gewebes wiesen C.II. als Restbestandteil des *Corpus haemorrhagicum* nur noch ein kleines, anechogenes Zentrum auf, das in den folgenden Untersuchungen während der eD nicht mehr beobachtet werden konnte.

Für eine detaillierte Untersuchung der Vorgänge während der Ovulation und der Proliferationsphase des C.I. müßten, analog zu Studien bei Nutztieren und Mensch, sonographische Untersuchungen täglich durchgeführt werden (BOMSEL-HELMREICH und AL-MUFTI, 1994; PIERSON und GINTHER, 1984 b; 1985 b). Beim Reh waren aufgrund der unerläßlichen, medikamentellen Immobilisation der Tiere tägliche Untersuchungen in praxi nicht durchführbar. Eine Gewöhnung der Tiere an moderne Fixierungsanlagen (restraint chutes), wie sie in der Gatterwild- und Zootierhaltung eingesetzt werden (HAIGH und HUDSON, 1993), würde wahrscheinlich eine transrektale Ultraschalluntersuchung im nicht narkotisierten bzw. unsedierten Zustand auch beim Reh erlauben und tägliche Untersuchungen ermöglichen.

Hervorgerufen durch den hohen Blutöstrogenspiegel während der Brunst (SCHAMS et al., 1980) zeigten die übrigen inneren Genitalorgane Uterus, Zervix und Vagina eine brunstassoziierte Ödematisierung im Sonogramm. Die damit verbundene gute sonographische Darstellbarkeit der *Portio vaginalis uteri*, des *Orificium uteri externum* im Östrus waren wichtige Kriterien für die Durchführung einer transzervikalen künstlichen Besamung unter sonographischer Kontrolle beim Reh (GÖRITZ et al. 1995 c).

Histologisch sind Veränderungen des Uterus, insbesondere des Endometriums, während des Östrus bereits für viele Tierarten beschrieben, die vor allem beim Pferd und den Primaten dramatisch ausfallen (McENTEE, 1990). Die im Vergleich zum Pferd geringeren Umbauprozesse des Endometriums während des Östrus beim Rind und bei den kleinen Wiederkäuern, als dem Reh näher verwandte Spezies, sind gekennzeichnet durch eine Ödematisierung der *Tunica propria* des Endometriums und eine Streckung sonst stark gewundener Uterindrüsen. Sowohl die Drüsenepithelzellen als auch die Oberflächenepithelzellen des Endometriums erreichen beim Rind ihre maximale Größe 9 - 12 Tage nach der Ovulation. Erst unter zunehmendem Progesteroneinfluß des sich entwickelnden C.I. bildet sich die Ödematisierung zurück und die Uterindrüsen sind wieder stärker gewunden (COLE und MILLER, 1935; HANSEL und McENTEE, 1977). Diese histologischen Veränderungen korrelieren jeweils mit dem für das Rind beschriebenen sonomorphologischen Erscheinungsbild des Endometriums während des Östrus (KÄHN, 1991).

Auch beim Reh zeigte das Endometrium während der Brunstperiode ein typisches sonographisches Erscheinungsbild, verbunden mit einer deutlichen Größenzunahme. Das im Sonogramm dargestellte endometriale Doppelblatt unterteilte sich in die ödematisierte *Tunica propria* als schwach echogene Randzone und in die aufeinanderliegenden, stärker gewundener Uterindrüsen als echogenere Mittelzone. Die geringere Dicke des Endometriums bei Tieren, die bereits zu Beginn der Paarungszeit begattet wurden, signalisierte den wachsenden Progesteroneinfluß aktiver C.II. analog zu den Veränderungen bei Rind und Schaf (COLE und MILLER, 1935; HANSEL und McENTEE, 1977; KÄHN, 1991).

Zusammenfassend sind die sonographisch beobachteten, ovariellen und uterinen Umbauprozesse während und kurz nach der Brunst beim Europäischen Reh denen anderer Wiederkäuer im Bezug auf die Anbildung sprungreifer Follikel, der anschließenden Proliferationsphase der Gelbkörper sowie der Ödematisierung des Endometriums und Veränderungen des endometrialen Epithels ähnlich. Der Abschluß der lutealen Proliferationsphase 8 - 10 Tage post ovulationem ist zeitgleich mit dem Rückgang der Ödematisierung und der Dicke des Endometriums. Unter diesen, bei domestizierten Wiederkäuern ähnlichen Bedingungen, entwickelt sich in der Frühgravidität der Rehkonzepus bis zum Stadium der aus der *Zona pellucida* „geschlüpften“ Blastozyste (BISCHOFF, 1854; KEIBEL, 1902). Daraus ergibt sich die Schlußfolgerung, daß die endokrinen oder parakrinen Wirkungsmechanismen, die Beginn und Verlauf der eD des Rehs steuern, offenbar erst im Anschluß an die embryonale Eileiterwanderung aktiv werden.

5.3. Sonomorphologische Veränderungen am Genitaltrakt während der embryonalen Diapause

5.3.1. Ovarium

Der histologische Aufbau des Gelbkörpers des Europäischen Rehs während der eD unterscheidet sich von dem aller anderen Tierarten mit einer obligaten eD. Das C.I. gravider Marder (*Mustelidae*) (MEAD et al. 1986), Bären (*Ursidae*) (FORESMAN und DANIEL, 1983) und Wasserraubtiere (*Pinnipedia*) (BOSHIER, 1981) erscheint während der eD inaktiv. Das histologische Erscheinungsbild ist dabei geprägt durch kleine, plasmaarme Granulosa-Lutein-Zellen. Zeitgleich mit dem beschleunigten Embryonalwachstum im Anschluß an die eD und mit der Implantation kommt es zu histomorphologischen Veränderung des C.I., dessen Struktur erst jetzt durch große plasmareiche Granulosa-Lutein-Zellen gekennzeichnet ist (BOSHIER, 1981; MEAD, 1981; CRAIG, 1964). Der luteale Zellumbau ist verbunden mit einem Anstieg des Plasmaprogesteronspiegels (MEAD und EIK-NES, 1969; DANIEL, 1981).

Im Gegensatz dazu bilden sowohl gravide als auch nicht gravide Rehe bereits während der eD aktive C.II. (SHORT und HAY, 1966; AITKEN et al., 1973) mit großen, plasmareichen Granulosa-Lutein-Zellen aus (HORAK, 1989). Diese besonderen histomorphologischen Eigenschaften des C.I. des Rehs erzeugen ein sonomorphologisches Erscheinungsbild, das sich von dem für Nutztiere beschriebenen Bild unterscheidet (KÄHN, 1991; NYLAND und MATTOON, 1995). Die plasmareichen Granulosa-Lutein-Zellen erzeugen aufgrund ihres hohen Flüssigkeitsgehaltes nur ein geringes Schallecho, so daß beim Reh im Gegensatz zu Pferd und Rind das aktive C.I. im Sonogramm ähnlich anechogen erscheint wie ein großer Follikel. Markante Unterscheidungskriterien des C.I. zu den ebenfalls während der eD vorhandenen antralen Follikeln waren:

1. die geringere Größe der Follikel während der eD im Vergleich zu C.II.,
2. die an den Follikelgrenzen entstehenden Verstärkungsechos und
3. die eher ovale Form des C.I., die vom umliegenden Ovargewebe unregelmäßig begrenzt wurde.

Mit den insgesamt über zwei Reproduktionsphasen durchgeführten Einzeluntersuchungen bei 11 Tieren (Ort I und II) konnten Entwicklung, Blüte und Regression einzelner Gelbkörper verfolgt werden. HORAK (1989) beschrieb in morphologischen Studien eine altersabhängige Gelbkörperblüte in einem variierenden Zeitraum von September bis November. Die sonographischen Untersuchungen ergaben, daß die Entwicklung der C.II. sich zeitlich nicht nur von Individuum zu Individuum unterscheidet, sondern auch am Ovar ein und desselben Tieres zeitlich variieren kann. Dieses Ergebnis und das von HORAK (1989) abweichende Ergebnis der Gelbkörperblüte vorwiegend im Monat Dezember zeigen die Defizite einmaliger morphologischer Untersuchungen zur Beschreibung

dynamischer Prozesse auf. Allerdings macht die begrenzte Anzahl der in dieser Untersuchung gemachten Beobachtungen weiterführende Untersuchungen zur Bestätigung des Zeitraums der Gelbkörperblüte beim Reh notwendig.

Die Regression einzelner C.II. konnte zum Ende der eD sowohl bei graviden als auch bei nicht graviden Tieren nachgewiesen werden. Übereinstimmend mit morphologischen Arbeiten (HORAK, 1989; BORG, 1979) konnte keine Korrelation zwischen der Gelbkörperanzahl und der Anzahl implantierter Embryonen festgestellt werden. Der diesbezüglich eindrucksvollste Befund war der Nachweis vier aktiver C.II. eines Ovars eines Tieres bei gleichzeitig nur einem implantierten Konzeptus (Abb.19, Tier Nr. 10). Wanderungsbewegungen der Fruchtblase, wie sie sonographisch bei der Stute bereits beobachtet (GINTHER, 1984; LEITH und GINTHER, 1985) und für das Reh von HAMILTON et al. (1960) und STRANDGARD (1972) vermutet wurden, konnten nicht dargestellt werden. Die einmaligen Untersuchungen während des Implantationszeitraumes, in der die Fruchtblase erst zur Darstellung kam, sowie die begrenzte Untersuchungszeit schloß eine eingehende Beobachtung möglicher Wanderungsbewegungen der Fruchtblase aus.

Die ultrasonographisch beobachtete Gelbkörperregression sowie die nachfolgend noch ausführlich diskutierten Nachweise embryonaler Resorptionen beim Reh bieten eine Erklärung des scheinbar fehlenden Zusammenhangs zwischen Gelbkörperanzahl und der Anzahl implantierter Fruchtanlagen (BORG, 1970; HORAK, 1989). Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen unterstützen die Aussage von BORG (1970) und HORAK (1989), daß die Zählung aktiver Gelbkörper keine Grundlage für die Berechnung eines Populationszuwachses beim Europäischen Reh bildet.

Ein Beweis dafür, daß es beim Reh nicht zu einer Anbildung akzessorischer C.II. nach der Implantation kommt, war der sonographische Nachweis dreier von ursprünglich vier C.II. am Ovar eines Tieres mit einem foetalen Spätabort (Abb.19, Tier Nr. 10). Die sich infolge des Abortes zwar regressiv darstellenden C.II. waren topographisch mit den präimplantativ nachgewiesenen C.II. identisch. Bei den übrigen graviden Rehen konnte sowohl nach der Ovulation während der eD als auch in der periimplantativen Trächtigkeitsphase keine Anbildung akzessorischer Gelbkörper beobachtet werden. Bei drei der graviden Rehe konnte vielmehr im periimplantativen Zeitraum eine singuläre Gelbkörperregression dargestellt werden. Die beim relativ nah verwandten Rothirsch beschriebene Anbildung akzessorischer Gelbkörper (ADAM et al., 1985) wurde für das Reh somit ausgeschlossen. Damit wurde die von HOFFMANN (1978) aufgestellte Hypothese bekräftigt, daß die Plazenta beim Reh einen Ort zusätzlicher Progesteronsynthese darstellt, der mitverantwortlich ist für den Anstieg des Plasmaprogesteronspiegels nach der Implantation. Für die weiterführende Bearbeitung dieser Fragestellung müßte für die sonographische Ovardiagnostik verstärkt der transkutane Ultraschall im postimplantativen Zeitraum eingesetzt werden, da die Möglichkeiten der Darstellbarkeit der Ovarien mittels

TAS während der späten Embryonal- und Foetalentwicklung aufgrund der wachsenden Fruchtanlage und des Fruchtwasseranteils begrenzt waren.

Das Vorhandensein antraler Follikel und ihre große Variation in Anzahl und Größe während der eD läßt den Schluß zu, daß die Follikelpopulation in diesem Zeitraum, in Analogie zu den ovariellen Prozessen in der Frühgravidität beim Rind (SCHEEBELI, 1984; GINTHER et al., 1989) einem mehrwelligen Wachstum unterliegt. Dabei entwickelt sich der dominierende Follikel in seinem Durchmesser gegenläufig zu Größe und Anzahl jeweils kleiner Follikel. Mit der Atresie der größeren Follikel setzt erneut eine Welle des Follikelwachstums ein. Ein wellenförmiges Wachstum der Follikel ist somit wahrscheinlich Ursache für den zwar niedrigen, aber schwankenden Östrogenspiegel des Rehs während der eD (HOFFMANN et al., 1978).

5.3.2. Uterus

Während das Ovar keine Unterscheidungsmöglichkeit gravider und nicht gravider Tiere hinsichtlich ihrer Gelbkörperstruktur im Zeitraum der eD erlaubte, waren am Uterus bereits ab Oktober Umbauprozesse des Endometriums im Sonogramm qualitativ und quantitativ nachzuweisen. Im Gegensatz zu den Beschreibungen bei anderen Tierarten mit einer obligaten eD (ENDERS und GIVEN, 1977; DANIEL, 1981; SCHLAFKE et al., 1981; MEAD, 1981; RENFREE und CALABY, 1981) konnte sonographisch bewiesen werden, daß beim Reh neben dem retardierten Wachstum der Blastozyste auch das Ovar und das Endometrium während der eD dynamischen Umbauprozessen unterliegen. Ultrastrukturelle Analysen des graviden Uterus von AITKEN et al. (1973) hatten Strukturveränderungen des endometrialen Drüsenepithels gravider Tiere ergeben. In dieser Studie war eine Akkumulation von Sekretvesikeln im endometrialen Drüsenepithel zunächst nur im Dezember nachgewiesen worden (AITKEN et al. 1973).

In den vorliegenden sonographischen Untersuchungen konnte eine Zunahme dunkler, flüssigkeitsassoziierter Graustufen in der Echotextur des Endometriums bei tragenden Tieren bereits drei Monate vor Ende der eD festgestellt werden. Die dargestellte Zunahme des Flüssigkeitsgehaltes des Endometriums resultiert ultrastrukturell wahrscheinlich, basierend auf den Untersuchungen von AITKEN et al. (1973), aus einer Akkumulation von Drüsensekret. Der beim Reh beobachtete kontinuierliche Akkumulationsprozess steht im Gegensatz zu der von *Mustelidae* berichteten Inaktivität des Endometriums während der gesamten eD (SCHLAFKE et al., 1981). In den Monaten August und September konnten am Endometrium gravider und nicht gravider Rehe keine wesentlichen Texturunterschiede festgestellt werden. Die sonomorphologischen Verlaufsuntersuchungen führten zusammen mit der nachfolgend diskutierten GSA zu dem Ergebnis, daß es zumindest ab dem dritten Monat der eD zum Einsetzen einer gesteigerten Synthese und gleichzeitiger Retention

endometrialen Drüsensekretes kommt. Im Gegensatz zu diesen bereits im Oktober sonographisch darstellbaren Umbauprozessen des Endometriums konnte am Trophoblasten selbst, anhand einer *in vitro* - Studie, eine gesteigerte DNA - Synthese als Zeichen einer erhöhten Teilungsaktivität der Trophoblastenzellen erst ab Dezember nachgewiesen werden (LENGWINAT und MEYER, 1996). Größere Mengen freier Flüssigkeit im Uteruslumen, als Anzeichen einer Sekretion uteriner Drüsen, konnte zu keinem Zeitpunkt der eD festgestellt werden. Mit den ultrastrukturellen Beobachtungen von AITKEN et al. (1973) übereinstimmend konnte ultrasonographisch die periimplantative Sekretion des akkumulierten, endometrialen Drüsensekrets nachgewiesen werden. Das Endometrium verlor in der Elongationsphase des Trophoblasten seine dunkle Echotextur und war nur noch schwer von den der Uteruswand anliegenden Fruchtmembranen unterscheidbar. Aufgrund der Beobachtung einer gesteigerten, endometrialen Sekretionsleistung nach Beendigung der eD bei der Ratte (*Rattus norvegicus*) (SURANI, 1975), der Maus (*Mus musculus*) (AITKEN, 1977 b), dem Tammar - Wallaby (*Tammar wallaby*) (RENFREE, 1973) und dem Seebären (*Callorhinus ursinus*) (DANIEL, 1971) wird angenommen, daß die Ursache für die Wachstumsreduktion der Blastozyste in der eD bei diesen Tierarten in der verminderten Sekretion von Embryothrophe zu sehen ist. Der Steuermechanismus (embryonal/maternal), der für die verminderte uterine Sekretion und die Ausbildung der obligaten eD verantwortlich ist, bleibt aber weiter unbekannt.

5.4. Graustufenanalyse

Aus der beschränkten Fähigkeit des Menschen, Grautöne unterscheiden sowie eine Vielzahl von Bildelementen gleichzeitig wahrzunehmen zu können, ergibt sich die Notwendigkeit der digitalen Bildanalyse in der Sonographie (LIEBACK, 1993). Die zunehmende Zahl an Publikationen in verschiedenen Fachrichtungen der Humanmedizin belegt den wachsenden Bedarf, geringe sonographische Texturveränderungen mittels computergestützter GSA zu quantifizieren (RÄTH et al., 1984; HIRNING et al., 1989; GARRA et al., 1993; BADER et al., 1994; STEMPFLE et al., 1994; LIEBACK et al., 1996; BLECK et al., 1997). Um Strukturveränderungen des Endometriums im Sonogramm frei von systembedingten Fehlern quantifizieren zu können, wurden bei den durchgeführten Untersuchungen ausschließlich standardisierte Einstellungen des Ultraschallgerätes verwendet, da Untersuchungen von LIEBACK, (1993) die Einflußnahme von wechselnden Geräteeinstellungen auf die GSA aufgezeigt hatten. Darüber hinaus wurde die Einflußnahme einer Änderung der Konfiguration von Helligkeit oder Kontrast innerhalb der verarbeitenden Bildanalyse - Software geprüft. Die Auswertung dieser Vorversuche ergab, daß die Änderung nur eines Parameters erhebliche Auswirkungen auf die GSA hat, und nur eine gleichbleibende Helligkeits- und

Kontrastkonfiguration der Software zu vergleichbaren Ergebnissen führte. Untersuchungen zur Positionierung des Analysefensters im Sonogramm und dem sich daraus ergebenden Einfluß auf das Ergebnis der GSA (LIEBACK, 1993) wurden dahingehend berücksichtigt, daß bei den Ultraschalluntersuchungen der Uterus stets im gleichen Focusbereich des Sonogramms dargestellt wurde. Für die Quantifizierung endometrialer Strukturveränderungen während der eD wurde eine eindimensionale Analyse der Graustufenverteilung durchgeführt. Sowohl in der Humanmedizin (SKORTON et al., 1983; FRAKER et al., 1988; TAK et al., 1988) als auch in der Veterinärmedizin (RUPERTE et al., 1994) wurde diese einfache Form der GSA, die die räumliche Anordnung der Graustufen zueinander nicht berücksichtigt, bereits erfolgreich zur Unterscheidung von Echotexturveränderungen von Geweben eingesetzt.

Die Auswertung der GSA des Endometriums ergab, daß die mittleren Mediane der Grauwertistogramme des Endometriums tragender Tiere im Vergleich zu nicht tragenden in den Monaten August bis Dezember ein unterschiedliches Niveau aufwiesen (tragend: $70,1 \pm 8,6$; $52,8 \pm 3,5$; $52,9 \pm 5,6$; $47,7 \pm 6,0$; $47,8 \pm 4,0$ nicht tragend: $75,6 \pm 17,4$; $60,6 \pm 11,1$; $70,0 \pm 5,7$; $61,2 \pm 7,6$; $62,8 \pm 1,5$). Dabei war das Endometrium tragender Tiere im Vergleich mit dem nicht tragender stets durch einen größeren Anteil dunkler Graustufen gekennzeichnet. Die mittleren Mediane tragender Tiere unterschieden sich signifikant von denen nicht tragender Tiere ab Oktober, dem dritten Monat der eD (Differenz [Δ]mittlerer Mediane tragender und nicht tragender Tiere: Oktober: 17,11 Graustufen, November: 13,29 Graustufen, Dezember: 14,97 Graustufen). Bereits im September hatten die mittleren Mediane der Graustufenhistogramme des Endometriums gravider Tiere genauso niedrige Werte erreicht, wie in den darauf folgenden Monaten der eD. Da sich die Werte in diesem Monat noch nicht signifikant unterscheiden ließen, wird auf die geringe Anzahl durchgeführter Messungen bei nicht graviden Tieren in diesem Monat zurückgeführt. Basierend auf diesen Ergebnissen wird geschlußfolgert, daß eine Flüssigkeitseinlagerung in das Endometrium gravider Rehe bereits im September beginnt und somit gravide und nicht gravide Rehe sonographisch mit Hilfe der GSA vier Monate vor der Implantation unterschieden werden können. Die in der ultrastrukturellen Arbeit von AITKEN et al. (1973) beschriebene Anreicherung von Sekretvesikeln in Zellen des endometrialen Drüsenepithels im letzten Monat der eD erklärt diese sonographisch beobachtete, zunehmende Flüssigkeitseinlagerung in das Endometrium. Weiterführende räumliche Texturanalysen, wie sie in neueren Publikationen in der Humanmedizin beschrieben werden, mußten nicht durchgeführt werden (HIRNING et al., 1989; GARRA et al., 1993; OOSTERVELD et al., 1993; BADER et al., 1994; LIEBACK et al., 1996), da sich die eindimensionale Analyse als ausreichend für die Beschreibung endometrialer Texturunterschiede von Rehen mit unterschiedlichem Reproduktionsstatus während der eD erwies.

Trotz wünschenswerter Objektivierung der qualitativen Veränderungen der C.II. während

der eD waren diese aus mehreren Gründen einer quantitativen GSA nicht zugänglich. Zum einen hatten die zu analysierenden Gelbkörperstrukturen sehr kleine Dimensionen. Damit war eine exakte Platzierung eines Analysefensters, das die Messung nicht-lutealen Gewebes ausschließen sollte, mit großen Schwierigkeiten verbunden. Zum anderen war die beschriebene Lagevariabilität des Ovars Ursache für eine sowohl von Individuum zu Individuum, als auch von Untersuchung zu Untersuchung unterschiedliche Positionierung des Ovars im Ultraschallbild. Daraus resultierte eine ständig wechselnde, lateral und/oder axial variierende Position des Ovars, die Einfluß auf das Ergebnis der GSA nahm, ohne daß tatsächliche Texturunterschiede vorlagen.

Trotz der nicht erreichbaren Quantifizierung lutealen Gewebes während der eD des Rehs stellt die GSA prinzipiell eine sonographische Analyse-Methode dar, mit der die Quantifizierung von Texturveränderungen des Gelbkörpers, beispielsweise infolge seiner Regression, auch bei anderen Tierarten denkbar wäre. Auch die Beschreibung krankhafter Veränderungen der Uteruswand, wie diese mittels GSA in der Frauenheilkunde bereits durchgeführt wurde (MORRIS, 1988), sind in der Veterinärmedizin ein denkbare Einsatzgebiet für eine quantitative Analyse sonographischen Bildmaterials. Darüber hinaus bietet die Veterinärmedizin ein vielfältiges Anwendungsspektrum für die Methodik der GSA. So bilden die Erfassung und Abgrenzung tumoröser Entartungen hinsichtlich ihrer Dignität (HIRNING et al. 1989; BLECK et al., 1997), die Differenzierung infarktgeschädigter Herzmuskellareale (SKORTON et al., 1983), die Beurteilung degenerativer Muskelerkrankungen sowie die Muskelfleischbewertung von Schlachtkörpern weitere mögliche Einsatzgebiete der GSA. Bei der Bearbeitung neuer Fragestellungen muß allerdings in Betracht gezogen werden, inwieweit eine eindimensionale Analyse der Grauwertverteilung für die Beschreibung veränderter Texturparameter eines Gewebes ausreichend ist. Vergleichbar der Entwicklung in der Humanmedizin sollten dann weiterführende mehrdimensionale Analysen einer Gewebetextur zur Anwendung kommen, die die räumliche Beziehung der Graustufen zueinander berücksichtigen.

5.5. Sonographie der postimplantativen Embryonal- und Foetalentwicklung

Durch die transrektale, sonographische Darstellung des embryonalen Dottersackes sowie embryonaler Strukturen konnten bereits Anfang Januar die Frühträchtigkeitsdiagnosen verifiziert werden. Bei keinem der Tiere, die während der eD ein echogenes Erscheinungsbild des Endometriums aufwiesen, konnten im Januar embryonale Strukturen dargestellt werden. Dieses Ergebnis bestätigte die Genauigkeit der in Kombination mit der GSA in der eD gestellten sonographischen Diagnosen über den Reproduktionsstatus untersuchter Rehe. Der fehlende Nachweis embryonaler Strukturen bei einem Reh (Tier

Nr. 11), dessen endometriale Veränderungen während der eD eindeutig auf eine Trächtigkeit hingewiesen hatten, wurde im Zusammenhang mit einer präimplantativen embryonalen Resorption gesehen (siehe Abschnitt 5.8.).

Die große Stichprobe Ende Januar untersuchter Tiere ergab eine große Variabilität des Entwicklungsstandes der Fruchtanlagen bei Tieren aus derselben Population. So wurden sowohl Embryonen als auch bereits gut ausgebildete Foeten sonographisch dargestellt. Der Vergleich der mittleren SSL und des mittleren BP-Abstandes von Tieren aus Populationen unterschiedlicher geographischer Standorte erbrachte keinen signifikanten Unterschied im Entwicklungsstand der Fruchtanlagen. Der unterschiedliche Entwicklungsstand der Fruchtanlagen einzelner Tiere wurde vielmehr auf variierende Deckzeitpunkte innerhalb eines Sozialverbandes zurückgeführt (STIEVE, 1950, HORAK, 1989). Besonders ein Tier, das zu Beginn der Brunst neu in die etablierte Untersuchungsgruppe eingestellt wurde und vor seiner Einstellung in das Gehege gedeckt worden war, fiel bereits Ende Dezember durch den fortgeschrittenen Entwicklungsstand seiner Fruchtanlage im Vergleich zu den anderen Tieren der Gruppe auf. So kommen weibliche Tiere während der einmonatigen Brunstperiode im Juli/August abhängig von ihrer sozialen Rangordnung zu unterschiedlichen Zeitpunkten in den Östrus (HORAK, 1989). Rehe, die im zweiten Lebensjahr erstmalig in die Brunst kommen, sogenannte Schmalrehe, werden zum Ende der Brunst, pluripare Tiere entsprechend ihrer Rangordnung schon zu Beginn bzw. zur Mitte der Brunst gedeckt (HORAK, 1989). Die Beendigung der obligaten eD im Dezember ist vom Befruchtungszeitpunkt der Eizelle in der Brunstperiode abhängig. Aus den beobachteten, unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Fruchtanlagen im Januar kann somit geschlußfolgert werden, daß die eD eine zeitlich fixierte Periode der Trächtigkeit beim Reh darstellt. Das Ende der eD wird daher nicht durch äußere Umwelteinflüsse, sondern ausschließlich durch interne Signalgeber gesteuert (SEMPERE, 1989). Externe Zeitgeber, wie Klima, Tageslänge oder Nahrungsangebot scheiden als direkte Einflußfaktoren der eD beim Reh aus. Das entspricht auch ersten Ergebnissen aus Versuchen zur Verschiebung der eD beim Reh (LENGWINAT, persönl. Mittlg., 1997).

Aus den in den Abschnitten 5.1-5.5 diskutierten Ergebnissen ergibt sich, daß abhängig von der jeweiligen Trächtigkeitsphase unterschiedliche Methoden für die Trächtigkeitsdiagnostik beim Reh erfolgreich eingesetzt werden können. In der Abbildung 36 werden diese teils in dieser Arbeit entwickelten Methoden und deren Kombination zusammenfassend dargestellt.

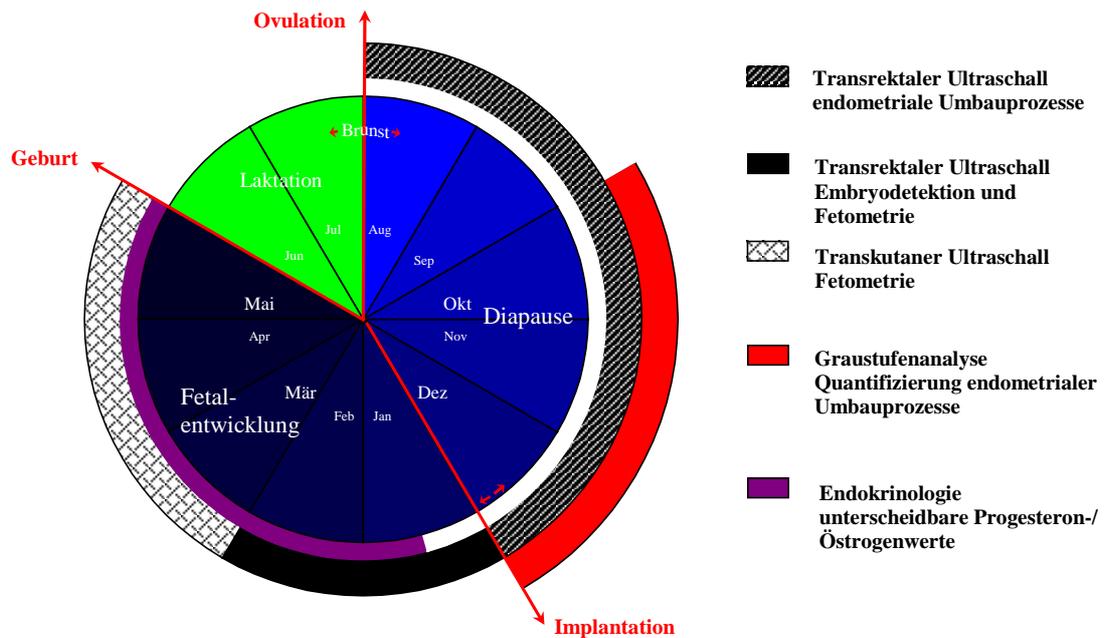


Abb. 36: Schematische Darstellung der Methoden der Trächtigkeitsdiagnostik beim Reh.

5.6. Embryonale Fruchtresorption und Abort beim Reh

Embryonale Resorptionen und Aborte treten mit bemerkenswerter Häufigkeit bei allen Haussäugetierarten in unterschiedlichen Phasen der Trächtigkeit auf. So wird die Häufigkeit, mit der eine zygotäre oder embryonale Resorption eintritt, bei gut untersuchten Haussäugetieren und beim Menschen mit 15 - 30 % beziffert (PETER et al., 1993). Als Ursache für die präimplantative Fruchtresorption werden hauptsächlich chromosomale Abnormalitäten des Konzeptus diskutiert. Dabei führen abweichende Chromosomensätze im Mehrzellstadium, im Stadium der Blastozyste, aber auch während der Anlagerung des Trophoblasten an die Uterusschleimhaut oder während der Implantation aufgrund fehlender Kompatibilität zu einem Abbruch der Trächtigkeit (CHANDLEY et al., 1975; PETER et al., 1993). Die Sonographie konnte das äußerlich schwer nachweisbare Vorkommen embryonaler Mortalität bei Pferd, Rind und Schaf durch die Beschreibung charakteristischer sonographischer Merkmale *in vivo* eindrucksvoll darstellen (KÄHN, 1991; CHEVALIER und PALMER, 1982; SQUIRES et al., 1988; KAULFUß, 1996). Unter Anwendung der TAS wurde beim Schaf das sonographische Erscheinungsbild embryonaler Mortalität bereits eingehend beschrieben und die Häufigkeit ihres Auftretens mit 36,7 % im Rahmen einer umfangreichen Studie belegt (KAULFUß, 1996). Im Gegensatz zu den genannten Haustierarten wurde das Auftreten embryonaler Mortalität beim Reh in der Literatur bisher nicht beschrieben. Daher stützt sich die in dieser Arbeit gestellte Diagnose embryonaler Resorptionen nicht auf postmortale Befunde beim Reh als vielmehr auf die bei den Nutztieren erarbeiteten sonomorphologischen Grundlagen. Als Vergleichstierart diente hierbei insbesondere das Schaf, aufgrund seiner

vergleichbaren Ovulationsrate, seiner Neigung zur Zwillingsfruchtbarkeit sowie seiner zum Reh vergleichbaren Körpergröße, die in einem ähnlichen sonomorphologischen Erscheinungsbild des Genitaltraktes resultiert. Das in dieser Studie dargestellte Erscheinungsbild unterschiedlich stark retardierter toter Embryonalanlagen beim Reh korreliert mit gleichen sonographischen Befunden embryonaler Fruchtresorptionen beim Schaf (KAULFUß, 1996). Die ermittelte Häufigkeit embryonaler Resorptionen beim Reh von 33,3 % (n = 11) ist ebenfalls vergleichbar mit den Ergebnissen beim Schaf (36,7 %) (KAULFUß, 1996) und anderen Haustieren (15-30 %) (PETER et al., 1993).

Der direkte Nachweis einer präimplantativen Fruchtresorption ist sonographisch nicht möglich. Sekundäre Merkmale einer Resorption in diesem Entwicklungsstadium sind generell auch bei Haustieren sonographisch nicht zu ermitteln, da die Veränderungen am Genitaltrakt in der Frühgravidität nicht zweifelsfrei von zyklischen Veränderungen unterschieden werden können (KÄHN, 1991; MATTOON und NYLAND, 1995). Die Frühfruchtigkeitsdiagnose und die Diagnose embryonaler Mortalität ist somit bei den Haustieren an den zweifelsfreien Nachweis einer Fruchtblase gebunden (KASTELIC et al., 1989; KÄHN, 1991; NYLAND und MATTOON, 1995). Beim Reh konnten im Gegensatz dazu, während der langen Phase der eD, gravide und nicht gravide Tiere anhand ihres unterschiedlich echogenen Endometriums sonographisch unterschieden werden, bevor es zum verstärkten Größenwachstum des Trophoblasten und damit zur Ausbildung einer sonographisch darstellbaren Fruchtblase kam. Daher führte die Beobachtung der zunächst bis zum vierten Monat der eD dunklen Echotextur des Endometriums eines Rehes (Tier Nr. 11), die sich im letzten Monat der eD zu einem wesentlich helleren Erscheinungsbild veränderte zu dem Schluß, daß es sich hierbei um eine präimplantative Resorption einer bzw. aller im Uterus freischwimmenden Fruchtanlage(n) handeln mußte. Abgesichert wurde diese Diagnose durch die quantitative GSA des Endometriums dieses Tieres im November und Dezember, die eine Differenz der mittleren Mediane von 19,89 Graustufen ergab. Unabhängig von diesem Ergebnis konnten bei einer Vielzahl postmortaler Uterusspülungen nicht weiter teilungsfähige Formen befruchteter Eizellen und Blastozysten beobachtet werden, was die sonographisch nur singular beobachtete embryonale Resorption während der eD untermauert (LENGWINAT, persönl. Mittlg., 1997). Die Resorption einer einzelnen Blastozyste während der eD kann, soweit noch weitere Blastozysten im Uterus vorhanden sind, durch diese Untersuchungsmethodik aufgrund der ausbleibenden endometrialen Veränderungen nicht erfaßt werden.

Der erst ultrasonographisch detektierte Spätabort eines Tieres (*Abortus completus*) stellte unter Beweis, daß der Abgang eines bereits weit entwickelten Foetus beim Reh ohne größere Symptomatik vor sich gehen kann. Ursachen des Spätabortes können sowohl infektiöser als auch nicht infektiöser Genese sein und wurden im vorliegenden Fall nicht weiter verfolgt. Im Einzelfall kann das Absterben eines Foetus beim Reh auch zur Ausbildung sogenannter Steinfrüchte führen (IPPEN et al., 1995).

6. Zusammenfassung

Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*) - Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der embryonalen Diapause (eD) mittels computergestützter Graustufenanalyse

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mittels Transrektaler Adaptersonographie (TAS) morphologische Umbauprozesse des Genitaltraktes *in vivo* während der Brunst, der Phase der eD bei graviden und nicht graviden Tieren, sowie die weitere postimplantative Embryonal- und Foetalentwicklung im Rahmen einer Langzeituntersuchung ultrasonographisch darzustellen. Dazu wurden zunächst durch postmortale Voruntersuchungen *in situ* und *ex situ* sonomorphologische Grundlagen für Vagina, Zervix, nicht graviden Uterus und Ovar erarbeitet. Die Ergebnisse der mittels TAS dargestellten ovariellen und uterinen Umbauprozesse während der Brunst, der eD und der postimplantativen Fruchtentwicklung beim Reh werden wie folgt zusammengefaßt:

1. Während der Brunstperiode konnten brunstassoziierte Veränderungen an Ovar, Uterus, Zervix und Vagina beobachtet werden. Am Ovar wurden anhand der topographischen Lage der Corpora lutea retrospektiv Follikel bestimmt, die zur Ovulation gekommen waren. Die Luteinisierung des C.I. konnte in den Verlaufsuntersuchungen sonographisch dargestellt werden. Die Proliferationsphase lutealen Gewebes war 10 d p.o. fast vollständig abgeschlossen, da nur noch ein Restbestandteil des *Corpus haemorrhagicum* nachgewiesen werden konnte. Die übrigen inneren Genitalorgane Uterus, Zervix und Vagina zeigten im Sonogramm eine brunstassoziierte Flüssigkeitseinlagerung. In Übereinstimmung mit histomorphologischen und ultrasonographischen Befunden von Rind und kleinen Hauswiederkäuern erschien die *Tunica propria* des Endometriums des Rehs während des Östrus stark ödematisiert und die Uterindrüsen stark gewunden. Bei begatteten Tieren konnte im Anschluß an die Brunstperiode nach ca. 8 - 10 Tagen eine Abnahme der Höhe des endometrialen Doppelblattes nachgewiesen werden. Der Abschluß der Proliferationsphase des C.I. erfolgte zeitgleich mit dem Rückgang der Ödematisierung und der abnehmenden Höhe des endometrialen Doppelblattes. Die sonographisch bestimmten ovariellen und uterinen Umbauprozesse während und kurz nach der Brunst sind beim Europäischen Reh denen anderer Wiederkäuer im Bezug auf die Anbildung sprungreifer Follikel, der anschließenden Proliferationsphase der Gelbkörper sowie der Ödematisierung des Endometriums ähnlich.

2. Während der eD konnten an den Ovarien Entwicklung, Blüte und Regression einzelner Gelbkörper sonographisch verfolgt werden. Die während der eD aktiven C.II. nicht

gravider und gravider Tiere zeigten aufgrund großer, plasmareicher Granulosa-Lutein-Zellen ein anechogenes Erscheinungsbild, ähnlich großen Follikeln. Die Anzahl aktiver C.II. während der eD korrelierte nicht mit der Anzahl später sonographisch nachgewiesener Fruchtanlagen. Sowohl bei graviden als auch bei nicht graviden Tieren konnte im Dezember eine Regression einzelner C.II. sonographisch festgestellt werden. Die beobachtete, vom Reproduktionsstatus des Tieres unabhängige Regression einzelner C.II. liefert eine Erklärung für die in morphologischen Arbeiten beschriebene, fehlende Korrelation zwischen Gelbkörperanzahl und Anzahl implantierter Embryonen beim Reh. Bei keinem der untersuchten Tiere konnte während der eD die Bildung akzessorischer C.II. nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis unterstützt die Hypothese, daß die Plazenta beim Reh einen Ort zusätzlicher Progesteronsynthese darstellt, der am postimplantativen Anstieg des Plasmaprogesteronspiegels wesentlichen Anteil hat. Aufgrund der großen Variation von Anzahl und Größe antraler Follikel während der eD wird vermutet, daß die Follikelpopulation einem mehrwelligen Wachstum unterliegt, das wahrscheinlich verantwortlich ist für den in diesem Zeitraum schwankenden Östrogenspiegel.

Ab dem dritten Monat der eD (Oktober) waren Unterschiede im sonomorphologischen Erscheinungsbild des Endometriums gravider und nicht gravider Tieren nachweisbar. Das Endometrium tragender Tiere war dabei charakterisiert durch einen größeren Anteil dunkler, flüssigkeitsassoziiertes Graustufen. Durch die ultrasonographischen Verlaufsuntersuchungen konnte eine kontinuierliche Zunahme des Flüssigkeitsgehaltes des Endometriums in den letzten drei Monaten der eD dargestellt werden, die ultrastrukturell wahrscheinlich aus einer Retention von Sekretvesikeln uteriner Drüsenzellen resultiert. In der Elongationsphase des Trophoblasten im Anschluß an die eD verlor das Endometrium seine dunkle Echotextur und war nur noch schwer zu unterscheiden von den der Uteruswand anliegenden echogenen Fruchthüllen.

3. Zur quantitativen Beurteilung der endometrialen Echotextur während der eD wurde eine computergestützte Graustufenanalyse (GSA) der Uterus-Sonogramme durchgeführt. Sie verdeutlichte Unterschiede, die im sonographischen Bild nicht offensichtlich waren. So wurde quantitativ die Zunahme dunkler flüssigkeitsassoziiertes Graustufen in der Echotextur des Endometriums bei tragenden Tieren ab dem dritten Monat der eD (Oktober) nachgewiesen. Die mittleren Mediane der Grauwerthistogramme waren bei graviden Rehen ab diesem Monat signifikant niedriger als bei nicht graviden. Die Darstellung embryonaler Strukturen Anfang Januar verifiziert alle mit Hilfe der GSA während der eD diagnostizierten Frühträchtigkeiten. Einzige Ausnahme bildete eine mit Hilfe der GSA diagnostizierte präimplantative, embryonale Fruchtresorption. Die GSA ermöglichte somit erstmalig eine quantitative Charakterisierung sonomorphologischer Umbauprozesse des Endometriums während der eD beim Reh.

4. Die Anfang Januar einsetzende postimplantative Embryonal- und Foetalentwicklung konnte mit der Darstellung des embryonalen Dottersacks (1 - 2 mm) und embryonaler Strukturen bis hin zum ausgebildeten Foetus transrektal sonographisch verfolgt werden. Die Integrität der foetalen Struktur und foetale Vitalitätszeichen waren klar von sonographischen Befunden bei embryonaler Fruchtresorption abgrenzbar. 75 % der Tiere (n = 44) einer Ende Januar untersuchten freilebenden Rehpopulation wurden als tragend diagnostiziert. Dabei wurde eine große Variabilität des Entwicklungsstandes zum gleichen Zeitpunkt untersuchter Fruchtanlagen festgestellt. Diese variierenden Befunde wurden zurückgeführt auf zeitlich versetzte Deckzeitpunkte innerhalb eines Sozialverbandes. Der Vergleich der mittleren SSL und des mittleren BP-Abstandes von Fruchtanlagen aus geographisch unterschiedlichen Populationen erbrachte keinen signifikanten Unterschied im Entwicklungsstand der Fruchtanlagen. In der Hochträchtigkeit ermöglichte der Einsatz transkutanen Ultraschalls aufgrund zunehmender Größe und Anzahl von Plazentomen eine bessere Übersichtsdarstellung und Beurteilung foetaler Strukturen.

5. Embryonale Fruchtresorptionen konnten mit Hilfe der TAS erstmals auch beim Reh zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Frühträchtigkeit dargestellt werden. Sekundäre Anzeichen einer Trächtigkeit während der eD in Form endometrialer Umbauprozesse bildeten die Grundlage für die Beschreibung einer präimplantativen embryonalen Fruchtresorption. Eine zunächst bis zum vierten Monat der eD dunkle Echotextur des Endometriums eines Rehs wies im letzten Monat der eD ein wesentlich helleres Erscheinungsbild als andere tragende Tiere auf. Die quantitative GSA des Endometriums ergab eine signifikante Änderung der Echotextur des Endometriums in den Monaten November und Dezember. Daraus wurde die Schlußfolgerung gezogen, daß es sich um eine vollständige Resorption einer, bzw. aller im Uterus freischwimmenden Fruchtanlage(n) gehandelt hat. Ende Januar konnte bei 33,3 % (n = 11) gleichzeitig untersuchter trächtiger Tiere das Auftreten embryonaler Fruchtresorptionen festgestellt werden. Bei 12,1 % der Einlingsträchtigkeiten und bei 6,1 % der Zwillingssträchtigkeiten konnten (bei gleichzeitiger Darstellung intakter Foeten) tote, retardierte Embryonalanlagen nachgewiesen werden. Bei 15,2 % der Tiere war keine intakte Frucht mehr darstellbar. Das sonomorphologische Erscheinungsbild embryonalen Frühaborts war gekennzeichnet durch fehlende Vitalitätszeichen und fehlende Integrität der embryonalen Strukturen sowie der Fruchthüllen. Nachdem bei einem Reh endometriale Veränderungen während der eD dargestellt und quantifiziert, Ende Dezember embryonale Strukturen sowie im Januar foetale Strukturen nachgewiesen worden waren, konnte im April ein Spätabort dokumentiert werden.

6. Summary

Ultrasonography as a tool for monitoring pregnancy in roe deer (*Capreolus capreolus*) and quantification of the endometrial echotexture during embryonic diapause (eD) using computer-assisted greyscale analysis

The aim of this study was to characterise eD in the roe deer using non invasive transrectal ultrasonography. Females were monitored continuously during their breeding season to identify morphological changes of the genital tract and to assess embryonic and foetal development following implantation. Postmortem examinations *ex situ* and *in situ* were performed prior to *in vivo* examinations in order to describe the sonomorphology of vagina, cervix, non gravid uterus and ovary. Ovarian and uterine changes visualised by Transrectal Adapter-Sonography (TAS) as monitored throughout the breeding season, eD and subsequent development of the conceptus after implantation, are summarised as follows:

1. Oestrus-associated changes in the ovary, uterus, cervix and vagina were detected. On the ovary, follicles were identified retrospectively to have ovulated based on the topographical positioning of their corpora lutea shortly after oestrous. The development of lutein tissue, followed up sonographically, was usually completed 10 days p.o. Sonograms of uterus, cervix and vagina showed oestrus-associated oedemas. In comparison to histomorphological changes of the endometrium as observed in cattle and small domestic ruminants the *Tunica propria* of the roe deer endometrium was oedemous and the uterine glands were highly coiled. In the early luteal phase a decreasing endometrial thickness was observed 8 - 10 days after mating, presumably a consequence of an increased progesterone stimulation. The end of luteal tissue proliferation coincided with the decrease of endometrial oedema and height. Sonographically observed ovarian and uterine changes during and shortly after breeding in roe deer including follicular growth, development of corpora lutea, oedema of the endometrium and changes of the endometrial epithelium resembled those observed in other ruminant species.

2. Development, prime and regression of single corpora lutea was followed sonographically during eD. Active corpora lutea in gravid and non gravid animals had, because of their plasma rich granulosa-lutein-cells, an anechogenic appearance similar to large antral follicles. Furthermore, the number of implanted embryos did not correlate with site or number of detected corpora lutea. In December, regression of corpora lutea was sonographically observed both in gravid and non gravid animals. This observation of corpus luteum regression independent of the animals' reproductive status explained results of morphological studies, which showed no correlation between C.I. number and number

of implanted embryos in roe deer. In none of the animals examined any development of accessory c.l. during eD was observed. This supports the hypothesis, that in roe deer, progesterone is also synthesised in the placenta and, therefore, is responsible for the rise in plasma progesterone following implantation. Concluding from variations in number and size of antral follicles during eD it is postulated that follicles undergo an undulating growth pattern and seems to be responsible for fluctuating oestrogen level during this period.

From the third month of eD onwards differences in gravid and non gravid animals in the sonomorphologic appearance of the endometrium were detected. The endometrium of gravid individuals was characterised by an increase in fluid associated grey levels. Long term ultrasound examinations revealed a continuous increase in endometrial fluid content over the last three month of eD, probably caused by a retention of secretory vesicles in cells of the uterine glands. During elongation of the trophoblast following eD the endometrium lost its dark echotexture and could hardly be distinguished from the adjacent, high echogenic embryonic membranes.

3. Since the human eye's ability to distinguish different grey levels is very limited, quantitative greyscale analysis was performed to assess endometrial echotexture during eD. Quantification of endometrial echotexture made differences obvious, which to the examiner were otherwise barely visible in sonographic images. The grey-scale analysis of the endometrium quantified the increase in fluid associated grey levels in the endometrium of pregnant animals starting in the third month of eD. Mean medians of grey-level histograms in pregnant roe deer were significantly lower than in non pregnant animals. Early pregnancies diagnosed by computer-assisted tissue characterisation were later on all confirmed to be pregnant by detection of embryos in early January. The analysis of grey-level distribution in addition to transrectal ultrasound was adequate to describe endometrial changes in the last three month of eD. Since embryonic structures cannot be detected before the 6th month of pregnancy in roe deer and progesterone-/ oestrogen-levels rise long after implantation in January, we evaluated a potential procedure to monitor pregnancy at a time pregnant and non pregnant individuals can not be distinguished endocrinologically.

4. Starting in January, rapid embryonic and foetal development was followed by the growth of the embryonic yolk sac (1 - 2 mm), of embryonic structures and a well-developed foetus. Integrity of foetal structures and foetal membranes, detection of heart beat and movements were obvious life signs, which were clearly distinguishable from the sonographical appearance of embryonic death. Out of 44 animals examined at the end of January in a free ranging population 75 % proved to be pregnant. The animals showed great variations in the conceptus size and stage of development. Comparing the mean crown-rump length and the biparietal diameter of animals from geographically different populations no significant difference in the stage of development between populations was observed. Differing stages

of development at this time were explained by varying (consecutive) mating dates within social age groups. In later stages of pregnancy transcutaneous ultrasound permitted better survey sonogram and better assessment of foetal structures, due to growing size and number of placentomes.

5. Embryonic death was visualised at different stages of early pregnancy in roe deer. Based on endometrial changes as observed in pregnant animals during eD, an embryonic resorption before implantation was observed. The endometrium of one animal changed from November to December from being low echogenic to high echogenic, different from what was observed in pregnant animals in November. Quantitative greyscale analysis of the endometrium in this animal in November and December showed a significant change in echotexture. It was concluded, that a complete embryonic resorption of one or all conceptuses before implantation had occurred. Of 44 free ranging animals examined in late January, 33,4 % (n = 11) showed signs of embryonic mortality. Embryonic death was detected in 12,1 % of all single pregnancies and in 6,1 % of all twin pregnancies, concurrent with another intact conceptus. In 15,2 % no intact conceptus could be visualised. Embryonic death was characterised sonographically by the absence of foetal vitality, lack of integrity of embryonic structures and membranes. Although in one roe deer endometrial changes had been detected and quantified during eD and embryonic and foetal structures had been visualised over the following months, a foetal abortion was documented in April.

8. Literaturverzeichnis

- ADAM, C.L.; MOIR, C.E.; ATKINSON, T. (1985):
Plasma concentrations of progesterone in female red deer (*Cervus elaphus*) during the breeding season, pregnancy and anoestrus.
J Reprod Fert 74, 631-636
- ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. (1995):
Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans.
Theriogen 43, 113-120
- AITKEN, R.J. (1981):
Aspects of delayed implantation in the roe deer (*Capreolus capreolus*).
J Reprod Fert, Suppl 29, 83-95
- AITKEN, R.J. (1977 b)
Changes in the protein content of mouse uterine flushings during normal pregnancy and delayed implantation, and after ovariectomy and oestradiol administration.
J Reprod Fert 50, 29-36
- AITKEN, R.J. (1974):
Delayed implantation in roe deer (*Capreolus capreolus*).
J Reprod Fert 39, 225-233
- AITKEN, R.J.; BURTON, J.; HAWKINS, J.; KERR-WILSON, R.; SHORT, R.V.; STEVEN, D.H. (1973):
Histological and ultrastructural changes in the blastocyst and reproductive tract of the roe deer, *Capreolus capreolus*, during delayed implantation.
J Reprod Fert 34, 481-493
- ANDRESEN, P., DEHNING, R., SCHNEIDEGGER, A. (1986):
Ein Beitrag zum Granulosazelltumor beim Rind.
Prakt Tierarzt 4, 307-309
- ASHER, G.W.; FISHER, M.W.; BERG, D.K.; VELDHUIZEN, F.A.; MORROW, C.J. (1995):
Luteolytic potency of a prostaglandin analogue at different stages of the oestrous cycle in the red deer (*Cervus elaphus*) hinds.
J Reprod Fert 103, 307-314
- ASHER, G.W.; KRAEMER, D.C.; MAGYAR, S.J.; BRUNNER, M.; MOERBE, R.; GIAQUINTO, M. (1990):
Intrauterine insemination of farmed fallow deer (*Dama dama*) with frozen-thawed semen via laparoscopy.
Theriogen 34, 569-577
- ASHER, G.W.; ADAM, J.L.; JAMES, R.W.; BARNES, D. (1988):
Artificial insemination of farmed fallow deer (*Dama dama*): Fixed time insemination at synchronized oestrus.
Anim Prod 47, 487-492
- AYLWARD, P.E.; KNOSP, B.N.; McPHERSON, D.D.; ELTOFT, D.A.; YURKONIS, C.E.; BEAN, J.A., SKORTON, D.J.; COLLINS, C.M. (1985):
Two-dimensional echocardiographic image texture analysis: Reduction of regional variability using polar coordinates.
Ultrason Imaging 7, 60-73
- 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

- BERNATSKII, V.G.; SNYTKO, E.G.; NOSOVA, H.G. (1976):
Natural and induced ovulation in the sable (*Martes zibellina* L).
Doklady Akademiinuk SSSR 230, 1238-1239
- BIANCHI, M.; LEBEL, S.; HURLIN, J.C.; CHARDONNET, P. (1994):
Ultrasonographic pregnancy diagnosis of rusa hinds (*Cervus timorensis rusa*) in New-Caledonia.
Congres international sur la Biologie des Cerfs, Edinburgh
- BIGG, M.A. (1981):
Harbour seal - *Phoca vitulina* and *P. largha*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 1-27
- BINGHAM, C.M.; WILSON, P.R.; DAVIES, A.S. (1990):
Real-time ultrasonography for pregnancy diagnosis and estimation of fetal age in farmed red deer.
Vet Rec 126, 102-106
- BINGHAM, C.M.; WILSON, P.R.; DAVIES, A.S.; WILSON, P.R., EDITOR; WALKER, I.H., EDITOR (1988):
Real-time ultrasonic scanning for estimation of foetal age in farmed red deer.
NZ Vet Assoc Meet Info: Proc deer course vet, 41-54
- BISCHOFF, T.L.W. (1854):
Entwicklungsgeschichte des Rehes.
Rickersche Buchhandlung Gießen
- BLAND, K.P. (1969):
Reproduction in the female Indian gerbil (*Tatera indica*).
J Zool 157, 47-61
- BLECK, J.S.; KLINDTWORD, C.; GEBEL, M.; WÜBBELT, P.; HECKER, H.; WESTHOFF-BLECK, M.;
STRASSBURG, C.; RADERMACHER, J.; WAGNER, S.; ATZPODIEN, J.; MANNS, M. (1997):
Noninvasive Evaluation of Splenic Texture in Splenomegaly.
J Ultrasound Med 16, S48
- BLOXAM, Q. (1977):
Breeding the spectacled bear *Tremarctos ornatus* at Jersey Zoo.
Int Zoo Yearb 17, 158-161
- BONNER, W.N. (1972):
The grey seal and the common seal in European waters.
Oceanogr Mari Biol An Annual Review 10, 461-507
- BORG, K. (1970):
On mortality and reproduction of roe deer in Sweden during the period 1948 - 1969.
Viltrevy 7, 121-149
- BORODULINA, T.L. (1951):
Latent period of embryonic development in the Siberian mole.
Doklady Akademiinuk SSSR 80, 689-692
- BRAUN, B.; GÜNTHER, R.; SCHWERK, W. (1983):
Ultraschalldiagnostik - Lehrbuch und Atlas.
In: Braun, B (Hrsg); ecomed, München
- BRINKLOW, B.R.; LOUDON, A.S.I. (1993):
Gestation periods in the Père David's Deer (*Elaphurus davidianus*): Evidence for embryonic diapause or delayed implantation.
J Reprod Fert 5, 567-575

BROSSEAU, C.; JOHNSON, M.L.; JOHNSON, A.M.; KENYON, K.W. (1975):
Breeding the sea otter *Enhydra lutris* at Tacoma Aquarium.
Int Zoo Yearb 15, 144-147

BUCKRELL, B.C. (1988):
Applications of ultrasonography in reproduction in sheep and goats.
Theriogen 29, 71-84

BUCKRELL, B.C.; BONNETT, B.N.; JOHNSON, W.H. (1986):
The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep.
Theriogen 25, 665-673

CALABY, J.H.; POOLE, W.E. (1971):
Keeping kangaroos in captivity.
Int Zoo Yearb 11, 115-12

CANIVENC, R.; BONNIN, M. (1981):
Experimental control of delayed implantation in the European badger (*Meles meles*).
J Reprod Fertil Suppl 29, 25-33

CANIVENC, R.; BONNIN-LAFFARGUE, M. (1963):
Inventory of problems raised by the delayed ova implantation in the European badger (*Meles meles* L.).
In: Enders, A C (Hrsg), Delayed Implantation, University of Chicago Press, Chicago, 115-125

CHANDLEY, A.C. ET AL. (1975):
Chromosome abnormalities as a cause of infertility in mares.
J Reprod Fert Suppl. 23, 377-383

COLE, H.H. UND MILLER, R:F. (1935):
Changes in the reproductive organs of the ewe with some data bearing on their control.
Am J Anat 57, 39-97

CRAIG, A.M. (1964):
Histology of reproduction and the estrus cycle in the female fur seal, *Callorhinus ursinus*.
J Fish Res Bd Can 21, 773-811

CRAIGHEAD, J.J.; HORNOCKER, M.G.; CRAIGHEAD, F.C.J. (1969):
Reproductive biology of young female grizzly bears.
J Reprod Fertil 6, 447-475

CURRAN, S. (1992):
Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography.
Theriogen 37, 17-21

DANIEL, J.C.J. (1981):
Delayed implantation in the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and other pinnipeds.
J Reprod Fertil 29, 35-50

DANIEL, J.C.J. (1974):
Conditions associated with embryonic diapause during reproduction in the black bear.
In: Second Eastern Workshop on Black Bear Management and Research, Progress Report - A contribution from Federal Aid to Wildlife Restoration, Great Smokey Mountain National Park, Tenn., 103-111

DANIEL, J.C.J. (1971):
Growth of the preimplantation embryo of the northern fur seal and its correlation with changes in uterine protein.
Devl Biol 26, 316-332

DATHE, H. (1970):

A second generation of captive sun bears.
Int Zoo Yearb 10, 79

DATHE, H. (1967):

Bemerkungen zur Aufzucht von Brillenbären, *Tremarctos ornatus* (Cuv.) im Tierpark Berlin.
Zoologischer Garten 34, 133

DATHE, H. (1963):

Beitrag zur Fortpflanzungsbiologie des Malaien Bären, *Helarctos m. malayanus* (Raffl.).
Z Säugetierkd 28, 155-162

DAVIDSON, A.P.; NYLAND, T.G.; TSUTSUI, T. (1986):

Pregnancy diagnosis with ultrasound in the domestic cat.
Vet Radiol 27, 109-114

DEGUM (1996):

Protokoll Mitgliedervollversammlung der Deutschen Gesellschaft für Ultraschall in der Medizin.

DEIPENBROCK, P.-H. (1985):

Morphologische Untersuchungen zu Wachstum und Kondition des Rehwildes (*Capreolus capreolus* Linné, 1758) in einer Hegegemeinschaft in der nördlichen Rheinland Pfalz.
Dissertation: Justus - Liebig - Universität, Gießen

DINES, K.A.; WEYMAN, A.E.; FRANKLIN, T.D.; CUDDEBACJ, J.K.; SANGHVI, N.T.; AVERY, K.S.; BAIRD, A.J.; FRY, F.J. (1979):

Quantitation of changes in myocardial fiber bundle spacing with acute infarction, using pulse-echo ultrasound signals.
Circulation 59, 17-

DITTRICH, L.; KRONBERGER, H. (1963):

Biologisch-anatomische Untersuchungen über die Fortpflanzungsbiologie des Braunbären (*Ursus arctos* L.) und anderen Ursiden in Gefangenschaft.
Z Säugetierkd 28, 129-155

DITTRICH, L. (1961):

Zur Werfzeit des Eisbären (*Ursus maritimus*).
Säugetier Mitt 9, 12-15

DU BOULAY, G.H.; WILSON, O.L. (1988):

Diagnosis of pregnancy and disease by ultrasound in exotic species.
Symp Zool Soc London 60, 135-150

DUPLAIX-HALL, N. (1975):

River otters in captivity: a review.
In: Martin (Hrsg.), Breeding in endangered species in captivity, Academic Press, London, 25, 315-327

ENDERS, A.C. (1963):

Fine structural studies of implantation in the armadillo.
In: Enders, A C (Hrsg), Delayed Implantation, University of Chicago Press, Chicago, 281-292

ENDERS, A.C. (1952):

Reproduction in the mink (*Mustela vison*).
Proc Am Philosoph Soc 96, 691-755

ENDERS, R.K.; ENDERS, A.C. (1963):

Morphology of the female reproductive tract during delayed implantation in the mink.

In: Enders, A C (Hrsg.), Delayed Implantation, University of Chicago Press, Chicago, 129-139

ENDERS, A.C.; GIVEN, R.L. (1977):

The endometrium of delayed and early implantation.

In: Wynn, R.M. (Hrsg.), Biology of the uterus, Plenum Press, New York, 203-243

FAY, F.H. (1982):

Ecology and biology of the Pacific walrus *Odobenus rosmarus divergens*, Illiger.

North American Fauna; U S Fish and Wildlife Service, Washington D C 74, 188-197

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.

J Clin Ultrasound 19, 263-270

FISCHER, P.; GOLOB, E.; KRATOCHWIL, A.; KUNZE-MÜHL, E. (1967):

Chromosomenuntersuchungen nach Ultraschalleinwirkung.

Klin Wschr 79, 436-

FLAX, S.W.; GLOVER, G.H.; PELC, N.J.; GUTMANN, F.D.; MCLACHLAN, M. (1982):

Spectral variations in tissues and phantoms.

In: Proceedings of the IIIrd meeting of the world federation for ultrasound in medicine and biology, Brighton, England, 127-131

FLAX, S.W.; GLOVER, G.H.; PELC, N.J. (1981):

Textural variations in tissues and phantoms.

Proc of the III.rd Meeting of the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology, 127-131

FLINT, A.P.F. (1995):

Interferon, the oxytocin receptor and the maternal recognition of pregnancy in ruminants and non-ruminants: a comparative approach.

Reprod Fertil Dev 7, 313-318

FLINT, A.P.F.; KRZYWINSKI, A.; SEMPÉRÉ, A.J.; MAUGET, R.; LACROIX, A. (1994):

Luteal oxytocin and monoestry in the roe deer (*Capreolus capreolus*).

J Reprod Fertil 101, 651-656

FLINT, A.P.F.; SHELDRIK, E.L.; MCCANN, T.J.; BRINKLOW, B.R.; LOUDON, A.S.I. (1991):

Prostaglandin-induced secretion of oxytocin and prolactin in red (*Cervus elaphus*) and Père David's (*Elaphurus davidianus*) deer hinds: evidence for oxytocin of luteal origin.

Gen Comp Endocrinol 83, 432-438

FLINT, A.P.F.; HEARN, J.P.; MICHAEL, A.E. (1990):

The maternal recognition of pregnancy in mammals.

J Zool 221, 327-341

FORESMAN, K.R., MEAD, R:A: (1974):

Pattern of luteinizing hormone secretion during delayed implantation in the spotted skunk (*Spilogale putorius latifrons*).

Biol Reprod 11, 475-480

FOWLER, D.G.; WILKINS, J.F. (1984):

Diagnosis of pregnancy and number of foetuses in sheep by real-time ultrasonic imaging. I. Effects of number of foetuses, stages of gestation, operator and breed of ewe on accuracy of diagnosis.

Livest Prod Sci 11, 437-450

FRAKER, T.D.; BINGLE, J.F.; WILKERSON, R.D.; KLINGLER, J.W.; WEAVER, M.T.; ANDREWS, L.T. (1988):

Acute myocardial ischemia detected in dogs by temporal variation in two-dimensional ultrasound grey level.
Am Heart J 116, 249-253

FRAUNHOLZ, J.; KÄHN, W.; LEIDL, W. (1989):

Ein Vergleich zwischen der transrektalen und transkutanen Sonographie zur Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein.

Mh Vet Med 44, 425-430

FRAUNHOLZ, J. (1988):

Zur transrektalen und transkutanen Sonography in der gynäkologischen Diagnostik beim Schwein.

Dissertation: Ludwig - Maximilians - Universität, München

FRITSCH, R.; GERWIN, M. (1993):

Sonographie bei Hund und Katze.

In: Fritsch,R , Gerwing,M (Hrsg), Sonographie bei Hund und Katze, Enke-Verlag, Stuttgart

FROST, K.J.; LOWRY, L.F. (1981):

Ringed, Baikal and Caspian seals - *Phoca hispida*, *Phoca sibirica* and *Phoca caspica*.

In: Ridgway,S H & Harrison,R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 29-53

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

GINTHER, O.J. (1986):

Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare.

Verlag Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; LEITH, G.S.; SCRABA, S.T. (1985):

Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology.

Theriogen 24, 73-86

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

Ultrasonic anatomy of equine ovaries.

Theriogen 21, 471-483

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

Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus.

Theriogen 21, 505-516

GOULD, E. (1965):

Evidence for echolocation in the Tenrecidae of Madagascar.

Proc Amer Philos 109, 352-360

GÖRITZ, F. (1996 a):

Sonographie bei Zoo- und Wildtieren.

Dissertation: Freie Universität, Berlin

GÖRITZ, F.; HILDEBRANDT, T.; JEWGENOW, K.; WAGNER, N.; HERMES, R.; STRAUß, G.; MEYER, H.H.D. (1996 b):

Transrectal ultrasonographic examination of the female urogenital tract in nonpregnant and pregnant captive bears (Ursidae).

J Reprod Fert, in press

GÖRITZ, F.; HILDEBRANDT, T.; LENGWINAT, T.; MEYER, H.H.D. (1995) :
Ultrasound guided artificial insemination in roe deer (*Capreolus capreolus*)
Reprod Domest Anim 30, 460

GÖRITZ, F.; HILDEBRANDT, T.; THIELEBEIN, J. (1994 a)
Transrektale Ultraschalluntersuchung beim Faultier.
Bildgebung Imaging 61, 98 V 1.2.

GÖRITZ, F.; HILDEBRANDT, T.; NÖTZOLD, G.; EULENBERGER, K.; GOTTSCHALK, J.; FRANK, S.;
CORREIA, H. (1994 b)
Untersuchungen zum reproduktiven Status und Zyklusgeschehen beim Anoa (*Bubalus depressicornis*) mittels
transrektaler Ultrasonographie.
Verh ber Erkr Zootiere 36, 107-119

HAMA, N. (1990):
Pregnancy diagnosis by ultrasonic scanning and measurement of serum progesterone levels in ezo sika does
(*Cervus nippon yesoensis* [Heuer]).
Jpn J Vet Res 38, 52

HAMILTON, W.J.; HARRISON, R.J.; YOUNG, B.A. (1960):
Aspects of placentation in certain cervidae.
J Anat 94, 1-33

HANSEL, W.; McENTEE, K. (1977):
Female reproductive processes
In: M.J. Swenson (Hrsg.): *Duke's physiology of domestic animals*. Cornell Univ. Press, New York. 9th Edition
778

HARDOUIN, I.; LIEBACK, E.; HETZER, R. (1994):
Klassifikationsverfahren zur Abstossungsdiagnostik in echokardiographischen Bildern.
Biomed Tech 39, 32-35

HARRISON, R.J. (1969):
Reproduction and reproductive organs.
In: Anderson, H T (Hrsg), *Biology of Marine Mammals*, Academic Press, New York, 253-348

HELLMANN, L.U.; DUFFUS, G.U.; DONALD, J.; SUNDEN, B. (1970):
Safety of diagnostic ultrasound in obstetrics.
Lancet I, 1133

HERMES, R.; HILDEBRANDT, TH; GÖRITZ, F.; WIESENTHAL, E.; HOFMANN, R.R. (1996)
Transrektale Adaptersonographie zur Darstellung des weiblichen Genitaltraktes bei Europäischen Hirscharten
(*Capreolus capreolus*, *Cervus elaphus*, *Dama dama*).
Ultraschall 17, 80

HILDEBRANDT, T.; GÖRITZ, F.; CAMBRE, R.; WALSH, T.; LUNG, N.; PITRA, C. (1996 a)
Transintestinale Geschlechtsbestimmung bei subadulten Komodovaranen.
Ultraschall 17, 80

HILDEBRANDT, T.; GÖRITZ, F.; QUANDT, S.; PRATT, N.C.; LEHNHARDT, J.; MONTALI, R.J.; PITRA,
C. (1996 b) :
Ultrasonography as a tool to evaluate the reproductive tract in female Asian and African elephants
J Ultrasound Med 15, S59

HILDEBRANDT, T.; PITRA, C.; GÖRITZ, F.; GÖLTENBOTH, R. (1996 c) :
Sonomorphologische Geschlechtsdiagnose bei der Typfelhyäne (*Crocuta crocuta* Erxleben)
Fertil 12, 46-50

HILDEBRANDT, T.; GÖRITZ, F. (1995 a)

Ultrasonography as a tool in zoo animal management

In: Gansloßer, U.; Hodges, J.K.; Kaumanns, W.: Research and captive Propagation, Filander Verlag Fürth, 1995, 51-58

HILDEBRANDT, T.; GÖRITZ, F.; HERMES, R.; LENGWINAT, T.; BAUGATZ, C.; PINKOWSKI, M.; MEYER, H.H.D. (1995 b)

Diagnosis of ovarian activity and pregnancy in roe deer (*Capreolus capreolus*) by transrectal sonography

Reprod Domest Anim 30, 341

HILDEBRANDT, T.; GÖRITZ, F.; QUANT, S.; RAATH, J. (1995 c)

Graviditätsdiagnose beim Breitmaulnashorn mit Hilfe der transrektalen Adaptersonographie

Ultrasch Med Suppl. 16, 68

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.

Europ J Radiol 9, 244-247

HODGES, J.K.; BEVAN, D.J.; CELMA, M.; HEARN, J.P.; JONES, D.M.; KLEIMAN, D.G.; KNIGHT, J.A.; MOORE, H.D.M. (1984):

Aspects of the reproductive endocrinology of the female Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*) in captivity with special reference to the detection of ovulation and pregnancy.

J Zool 203, 256-267

HOFFMANN, B.; BARTH, D.; KARG, H. (1978):

Progesterone and estrogen levels in peripheral plasma of the pregnant and the nonpregnant roe deer (*Capreolus capreolus*).

Biol Reprod 19, 931-935

HOFMANN, R.R. (1995) :

Zur Evolution der grossen Pflanzenfresser und ihre nahrungs-ökologische Einnischung in der heutigen Kulturlandschaft - eine neue Chance für europäische Grosssäuger nach 5000 Jahren?

Sber Ges Naturf Freunde Berlin 34, 167-196

HOFMANN, R.R.; STEWART, D.R.M. (1972):

Grazer or Browser: A classification based on the stomach structure and feeding habits of east african ruminants.

Mammalia 36, 226-240

HOFMANN, R.R. (1976):

Zur adaptiven Differenzierung der Wiederkäuer; Untersuchungsergebnisse auf der Basis der vergleichenden funktionellen Anatomie des Verdauungstraktes.

Prakt Tierarzt 6, 351-358

HORAK, A. (1989):

Histologische und histomorphometrische Untersuchungen am Ovarium des Rehs (*Capreolus capreolus*, L.) und der zyklischen Veränderungen seiner Funktionsstrukturen.

Dissertation: Justus - Liebig - Universität, Gießen

HOWRY, D.H.; BLISS, N.R. (1952):

Ultrasonic visualization of soft tissue structures of the body.

J Lab Clin Med 40, 579

INABA; MATSUI, T.N.; SHIMIZU, R.; IMORI, T. (1984):

Use of echography in bitches for detection of ovulation and pregnancy.

Vet Rec 115, 276-277

IPPEN, R.; NICKEL, S.; SCHRÖDER, H.-D. (1995):

Krankheiten des jagdbaren Wildes.

DLV Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin GmbH 1995

JABBOUR, H.N.; ARGO, C.M.; BRINKLOW, B.R.; LOUDON, A.S.I. (1993):

Conception rates following intrauterine insemination of European (*Dama dama dama*) fallow deer does with fresh or frozen-thawed Mesopotamian (*Dama dama mesopotamica*) fallow deer spermatozoa.

J Zool 230, 379-384

JAFFE, C.C.; TAYLOR, K.J.W. (1979):

The clinical impact of ultrasonic beam focusing patterns.

Radiol 131, 469-472

JAMES, A.E.; BUSH, M.; OSTERMAN, F.A.J.; HELLER, R.M.J.; NOVAK, G.R. (1976):

Radiologic imaging of human diseases 6.

JAMA 235, 184-188

JOHNSON, P.M. (1979):

Reproduction in the plain rock-wallaby *Petrogale penicillata inornata* Gould, in captivity, with age estimation of the young pouch.

Aust Wildlife Res 6, 1-4

JOHNSON, P.M. (1978):

Studies of Macropodidae in Queensland. 9. Reproduction of the rufous rat-kangaroo (*Aepyprymnus rufescens*, Gray) in captivity with age estimation of pouch young.

Queensland J Agric Anim Sci 35, 69-72

JOYNT, L.; MARTIN, R.; MARCOVSKI, A. (1982):

Techniques for in vivo tissue characterization.

In: Alais,P; Metherell,A F (Hrsg), Acoustical Imaging. Plenum Press, New York, 811-817

JUDIN, B.S. (1974):

Characteristics of the reproduction of the Siberian mole, *Asioscalops altaica*.

Acta Theriol 19, 355-366

KARESN, W.B.; FOWLER, M.E. (1983):

The use of diagnostic ultrasonography in zoo medicine.

AAZV Proc, 2-4

KAULFUSS, K.-H. (1996):

Gynäkologische Ultrasonographie beim Schaf.

Martin - Luther - Universität, Halle Wittenberg, Institut für Tierzucht und Tierhaltung

KEIBEL, F. (1902):

Die Entwicklung des Rehes bis zur Anlage des Mesoblast.

Arch Anat Physiol, Leipzig, Veit u Co Press 292

KEMPER, C.M. (1976):

Reproduction of *Pseudomys novaehollandiae* (Muridae) in the laboratory.

Aust J Zool 24, 159-167

KENYON, K.W. (1981):

Monk seals - *Monachus*.

In: Ridgway,S H & Harrison,R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 195-220

- KIMME-SMITH, C.; JONES, J.P. (1984):
The relative effects of system parameters on texture in gray-scale ultrasonograms.
Ultrasound Med Biol 10, 299-307
- KING, J.E. (1983):
Seals of the world.
British Museum of Natural History, 240
- KOOYMAN, G.L. (1981):
Weddell seal - *Leptonychotes weddelli*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 275-296
- KORANYI, G.; FALUS, M.; SOBEL, M.; PESTI, E.; VAN BAO, T. (1972):
Follow-up examination of children exposed to ultrasound in utero.
Acta paediat acad Scie hung 13, 231
- KÄHN, W. (1992):
Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction.
Anim Rerod Sci 28, 1-10
- KÄHN, W. (1991):
Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik: Gynäkologische Untersuchung und Reproduktion bei Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund, Katze.
Schlütersche Verlagsanstalt und Druckerei, Hannover 1991
- KÄHN, W. (1989 a):
Die Entwicklung von Follikeln beim Rind; Veränderungen ihrer Anzahl und Grösse während des Ovarialzyklus.
Berl Münch tierärztl Wschr 102, 44-49
- KÄHN, W. (1989 b):
Sonographic fetometry in the bovine.
Theriogen 31, 1105-1121
- KÄHN, W. (1987):
Die Ultraschall-Biometrie von Pferdefeten in utero und die sonographische Darstellung ihrer Organe.
Dtsch tierärztl Wschr 94, 509-515
- KÄHN, W. (1985):
Zur Trächtigkeitsdiagnose beim Rind mittels Ultraschall.
Tierärztl Umsch 40, 472-477
- Kastelic, J.P.S.; Curran R.A.; Ginther , O.J. (1989):
Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers.
Theriogen 31, 813-820
- LATASTE, M.F. (1891):
Des variations de dureé de la gestation chez les mammifières et de circonstances qui déterminent ces variations: théorie de la gestation retardée.
C R Seances Soc Biol Fil 9, 21-31
- LATTANZI, F.; PICANO, E.; MAZZARISI, A.; LANDINI, L.; BENASSI, A.; MASINI, M.; DISTANTE, A.; L'ABBATE, A. (1987):
In vitro identification of different degrees of mitral valve disease by online evaluation of radiofrequency ultrasound signal.
Cardiovasc Res 21, 841-848

LAYER, G.; ZUNA, I.; LORENZ, A.; ZERBAN, H.; HABERKORN, U.; BANNASCH, P.; VAN KAICK, G.; RÄTH, U. (1991):

Computerized ultrasound B-scan texture analysis of experimental diffuse parenchymal liver disease: correlation with histopathology and tissue composition.

J Clin Ultrasound 19, 193-201

LAYER, G.; ZUNA, I.; LORENZ, A.; ZERBAN, H.; HABERKORN, U.; BANNASCH, P.; VAN KAICK, G.; RÄTH, U. (1990):

Computerized ultrasound B-scan texture analysis of experimental fatty liver disease: influence of total lipid content and fat deposit distribution.

Ultrasonic Imaging 12, 171-188

LAYNE, J.N. (1968):

Ontogeny.

In: King (Hrsg.), Biology of *Peromyscus* (Rodentia) Am Soc Mam Spec Publ No.2 13 148-253

LEITH, G.S.; GINTHER, O.J. (1985):

Mobility of the conceptus and uterine contractions in the mare.

Theriogen 24, 701-711

LENGWINAT, T.; MEYER, H.H.D. (1996):

Investigations of BrdU incorporation in roe deer blastocysts in vitro.

Anim Reprod Sci 45, 103-107

LENZ, M.F.; ENGLISH, A.W.; DRADJAT, A. (1993):

Real-time ultrasonography for pregnancy diagnosis and foetal ageing in fallow deer.

Aust Vet J 70, 373-375

LIEBACK, E.; HARDOUIN, I.; MEYER, R.; BELLACH, J.; HETZER, R. (1996):

Clinical value of echocardiographic tissue characterization in the diagnosis of myocarditis.

Europ Heart J 17, 135-142

LIEBACK, E.; MEYER, R.; NAWROCKI, M.; BELLACH, J.; HETZER, R. (1994):

Noninvasive diagnosis of cardiac rejection through echocardiographic tissue characterization.

Ann Thorac Surg 57, 1164-1170

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

Erkennung einer Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation durch echokardiographische Gewebecharakterisierung.

Z Herz-, Thorax-, Gefäßchir 5, 207-214

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

Ultraschallsonographische Diagnostik der Myokarditis mittels quantitativer Texturanalyse von zweidimensionalen Echokardiographiebildern.

Z gesamte Inn Med 18, 484-487

LIEBACK-ZIMMERMANN, E. (1993):

Computergestützte sonographische Gewebedifferenzierung des Myokards.

In: Hetzer, R (Hrsg.), Fortschritte der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie, Steinkopff Verlag Darmstadt 1993

LINDAHL, I.V. (1966):

Detection of pregnancy in sheep by means of ultrasound.

Nature 212, 642-643

- LING, J.K.; BRYDEN, M.M. (1981):
Southern elephant seal - *Mirounga leonina*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 297-327
- MADRAZO, B.L.; GOLDSTEIN, A.; BEUTE, G. (1982):
The value of pre- and postprocessing of liver images in the detection of liver masses (abstr.).
In: Proceedings of the IIIrd meeting of the world federation for ultrasound in medicine and biology, Brighton, England, 149
- MADSEN, A.B.; RASMUSSEN, A.M. (1985):
Reproduction in the stone marten *Martes foina* in Denmark.
Natura Jutlandica Natural History Museum, 8000 Aarhus C Denmark 21, 1-41
- MARTIN, R.D.; MACLARNON, A.M. (1988):
Comparative quantitative studies of growth and reproduction.
In: G R Smith, J P Hearn (Hrsg), Reproduction and disease in captive and wild animals, The Zoological Society of London, Clarendon Press, Oxford, 44-69
- MAY, J.; KAULFUSS, K.-H.; ZIPPER, N.; STRITTMATTER, K. (1995):
Ovulation rate, embryonic and foetal mortality in german merino-mutton sheep - a study by means of real-time ultrasonography.
Reprod Dom Anim 30, 445
- MAYNES, G.M. (1973):
Reproduction in the parma wallaby, *Macropus parma* Waterhouse.
Aust J Zool 21, 331-351
- McCUSKER, J.S. (1974):
Breeding Malayan sun bears *Helarctos malayanus* at Fort Worth Zoo.
J Zool 14, 118-119
- McENTEE, K. (1990):
Reproductive pathology of domestic mammals.
Academic Press Limited, London 1990
- MEAD, R.A. (1993):
Embryonic Diapause in Vertebrates.
J Exp Zool 266, 629-641
- MEAD, R.A. (1989):
The physiology and evolution of delayed implantation in carnivores.
In: J L Gittleman (Hrsg), Carnivore Behaviour, Ecology, and Evolution, Cornell University Press, New York, 437-464
- MEAD, R.A. (1981):
Delayed implantation in mustelids with special reference to the spotted skunk.
J Reprod Fertil Suppl 29, 11-24
- MEAD, R.A. (1968):
Reproduction in western forms of the spotted skunk (Genus *Spilogale*).
J Mammal 49, 373-390
- MEAD, R.A.; EIK-NES, K.B. (1969):
Seasonal variation in plasma progesterone in western forms of the spotted skunk.
J Reprod Fert, Suppl. 6, 397-403

- MEDWAY, L. (1971):
Observations of social and reproductive biology of the bent-winged bat *Miniopterus australis* in northern Borneo.
J Zool 165, 261-273
- MENDELSSOHN, H.; BEN-DAVID, M.; HELLWING, S. (1988):
Reproduction and growth of the marbled polecat (*Vormela peregusna syriaca*) in Israel.
J Reprod Fertil Abstract Series No. 1, 20
- MERCHANT, J.C.; CALABY, J.H. (1981):
Reproductive biology of red-necked and Bennet's wallabies (*Macropus rufogriseus*) in captivity.
J Zool 194, 203-217
- MERCHANT, J.C. (1979):
The effect of pregnancy on the interval between one oestrous and the next in the tammar wallaby, *Macropus eugenii*.
J Reprod Fertil 56, 459-463
- MERCHANT, J.C. (1976):
Breeding biology of the agile wallaby, *Macropus agilis* (Gould) (Marsupialia: Macropodidae) in captivity.
Aust Wildlife Res 3, 93-103
- Meyer, H.; Bronsch, K.; Leibetseder, J. (1993):
Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung.
Verlag M.& H. Schaper, Hannover, 8. Auflage, 1993
- MORRIS, D.T. (1988):
An evaluation of the use of texture measurements for the tissue characterisation of ultrasonic images of *in vivo* human placentae.
Ultrasound Med Biol 14, 387-395
- MORROW, C.J.; ASHER, G.W.; MCMILLAN, K.L. (1995):
Oestrus synchronisation in farmed fallow deer (*Dama dama*): effects of session, treatment duration and the male on the efficacy of the intravaginal CIDR device.
Anim Reprod Sci 37, 159-174
- MULLEY, R.C.; ENGLISH, A.W.; RAWLINSON, R.J.; CHAPPLE, R.S. (1987):
Pregnancy diagnosis of fallow deer by ultrasonography.
Aust Vet J 64, 257-258
- MUTERE, F.A. (1968):
The breeding biology of equatorial vertebrates: reproduction in the fruit bat, *Eidolon helvum*, at latitude 0°20' N.
J Zool 153, 153-161
- NASSIRI, D.K.; NICHOLAS, D.; HILL, C.R. (1982):
B-scan texture classification: a study using physical and theoretical models.
In: Proceedings of the IIIrd meeting of the world federation for ultrasound in medicine and biology, Brighton, England, 133-139
- NORRIS, M.L.; ADAMS, C.E. (1971):
Delayed implantation in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*.
J Reprod Fertil 27, 486-487
- NOWAK, R.M. (1991):
Otariidea: Eared seals, Fur seals and Sea lions.
In: Walker's Mammals of the World, Volume I and II 5 Ausgabe, The Johns Hopkins University Press, 1222-1243

- NOWAK, R.M. (1991):
Phocidae: True, Earless or hair seals.
In: Walker's Mammals of the World, Volume I and II 5 Ausgabe, The Johns Hopkins University Press, 1247-1274
- NOWAK, R.M. (1991):
Macropodidae: Wallabies and Kangaroos.
In: Walker's Mammals of the World, Volume I and II 5 Ausgabe, The Johns Hopkins University Press, 85-110
- NYLAND, T.G.; MATTON, J.S. (1995):
Veterinary Diagnostic Ultrasound.
W B Saunders Comp., London 1995
- O'GRADY, J.P.; DAVIDSON, E.C.J.; THOMAS, W.D.; ESRA, G.N.; GLUCK, L.; KULOVICH, M.V. (1978):
Cesarean delivery in a gorilla.
J Am Vet Med Assoc 173, 1137-1140
- O'GRADY, J.P.; YEAGER, C.H.; THOMAS, W.; ESRA, G.; FINDLETON, L. (1978):
Practical applications of real-time ultrasound scanning to problems of zoo veterinary medicine.
J Zoo Anim Med 9, 52-56
- ODELL, D.K. (1981):
California sea lion - *Zalophus californianus*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 67-97
- OOSTERVELD, B.J.; THIJSEN, J.M.; HARTMAN, P.C.; ROSENBUSCH, G.J.E. (1993):
Detection of diffuse liver disease by quantitative echography: dependence on *a priori* choice of parameters.
Ultrasound Med Biol 19, 21-25
- ORTISLAND, T. (1970):
Sealing and seal research in the Southwest Atlantic pack ice, September - October 1964.
In: Holdgate, M. W. (Hrsg), Antarctic Ecology, Academic Press, London, 367-376
- PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. (1980):
Use of ultrasonic echography in equine gynecology.
Theriogen 13, 203-216
- PARKER, C. (1979):
Birth, care and development of of chinese hog badgers (*Arctonyx collaris albogularis*) at Metro Toronto Zoo.
Int Zoo Yearb 19, 182-185
- PARKER, P. (1977):
An ecological comparison of marsupial and placental patterns of reproduction.
In: Stonehouse, B , Glimore, D (Hrsg): The biology of marsupials, Macmillan, London, 273-286
- PETER, C. K.; MILLER, R.B. (1993):
The female genital system.
Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. (Hrsg.), Pathology of domestic animals. Volume III. Academic Press Limited, London 349-470
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1985 a):
Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare.
Theriogen 23, 795-806
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1985 b):
Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare.
Theriogen 24, 359-368

- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1984 a):
Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers.
Theriogen 22, 225-233
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1984 b):
Ultrasonography of the bovine ovary.
Theriogen 21, 495-504
- 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.
JACC 14, 666-671
- PINTER, A.J. (1970):
Reproduction and growth for two species of grasshopper mice (*Onychomys*) in the laboratory.
J Mamm 51, 236-243
- POOLE, W.E.; CATLING, P.C. (1974):
Reproduction in the two species of grey kangaroos, *Macropus giganteus* Shaw and *M. fuliginosus* (Desmarest).1. Sexual maturity and oestrus.
Aust J Zool 22, 277-302
- PUSCHMANN, W.; SCHUPPEL, K.F.; KRONBERGER, H. (1977):
Detection of blastocyst in uterine lumen of Indian bear *Melursus u. ursinus*.
In: Ippen,R & Schrader,H D (Hrsg): *Sickness in Zoos*, Berlin, East Germany: Akad Verlag, 389-391
- RAMAKRISHNA, P.A.; RAO, K.V.B. (1977):
Reproductive adaptations in the Indian rhinolophid bat, *Rhinolophus rouxi* (Temminck).
Cur Sci 41, 270-271
- RAND, R.W. (1955):
Reproduction in the female Cape fur seal, *Arctocephalus pusillus* (Schreber).
Proc Zool Soc Lond 124, 717-740
- RANTANEN, N.W. (1982):
Diagnostic ultrasound: Use in veterinary medicine.
Vet Radiol 23, 82-
- RANTANEN, N.W.; EWING, R.L. (1981):
Principles of ultrasound application in animals.
Vet Radiol 22, 196-203
- RAUSCH, R.A.; PEARSON, A.M. (1972):
Notes on the wolverine in Alaska and the Yukon Territory.
J Wildl Manage 36, 249-268
- REINBOTH, R. (1980):
Vergleichende Endokrinologie.
Thieme Verlag, Stuttgart 1980
- RENFREE, M.B. (1980):
Embryonic diapause in the honey possum *Tarsipes spencerae*.
Search 11, 81

- RENFREE, M.B. (1979):
Initiation of development of diapausing embryos by mammary denervation during lactation in a marsupial.
Nature 278, 549-551
- RENFREE, M.B. (1973):
Proteins in the uterine secretions of the marsupial, *macropus eugenii*.
Devl Biol 32, 41-49
- RENFREE, M.B.; CALABY, J.H. (1981):
Background to delayed implantation and embryonic diapause.
J Reprod Fert Suppl. 29, 1-9
- REVOL, B.; WILSON, P.R. (1991):
Ultrasonography of the reproductive tract and early pregnancy in red deer.
Vet Rec 128, 229-233
- RHIND, S.M.; MORRIS, B.A.; CLAYTON, J. (1986):
Effect of passive immunisation against testosterone on the reproductive performance of red deer hinds.
Publisher Hill: Biennial report, 60
- RICHARDSON, E. (1977):
The biology and evolution of the reproductive cycle of *Miniopterus schreibersii* and *M. australis* (Chiroptera: Vespertilionidae).
J Zool 183, 353-375
- RIDE, W.D.L.; TYNDALE-BISCOE, C.H. (1962):
Berniers and Dorre Islands: Mammals.
W A Fisheries Dept Fauna Bull 2, 54-97
- ROBERTS, C.M.; WEIR, B.J. (1973):
Implantation in the plains viscacha, *Lagostomus maximus*.
J Reprod Fert 33, 299-307
- ROBERTS, M.S.; GITTLEMAN, J.L. (1984):
Ailurus fulgens.
Mammalian Species (American Society of Mammalogists; Lawrence, Kansas) 222
- ROBERTS, T.J. (1977):
The Mammals of Pakistan
In: Ernest Benn (Hrsg.), *The Mammals of Pakistan*, London 26, 361 ff.
- RONALD, K.; HEALEY, P.J. (1981):
Harp seal - *Phoca groenlandica*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), *Handbook of Marine Mammals*, Academic Press, New York, 55-87
- ROSE, R.W. (1978):
Reproduction and evolution in female Macropodidae.
Aust Mammal 2, 65-72
- ROSEVEAR, D.R. (1974):
The Carnivores of West Africa.
British Museum of Natural History 723
- ROTT, H.D. (1989):
Ultraschall in der Medizin.
Ultraschall Med 10, 98

- ROWLANDS, I.W.; WEIR, B.J. (1984):
Mammals: Non-primate Eutherians.
In: Lamming, G E (Hrsg), Marshall's Physiology of reproduction, Volume 1: Reproductive cycles of vertebrates; Churchill Livingstone, New York, 455-659
- 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 Res 13, 199-204
- RÄTH, U.; SCHLAPS, D.; LIMBERG, B.; ZUNA, I.; LORENZ, A.; VAN KAICK, G.; LORENZ, W.J.; KOMMERELL, B. (1985):
Diagnostic accuracy of computerized B-scan texture analysis and conventional ultrasonography in diffuse parenchymal and malignant liver disease.
J Clin Ultrasound 13, 87-99
- RÄTH, U.; ZUNA, I.; SCHLAPS, D.; LORENZ, A.; VAN KAICK, G.; LORENZ, W.J.; KOMMERELL, B. (1984):
Der Beitrag der Grauerthistogramm-Analyse zur sonographischen Diagnostik des diffusen Leberparenchymschadens.
Ultraschall 5, 94-97
- SADLEIR, R.M.F.S.; CASPERSON, K.D.; HARLING, J. (1973):
Intake and requirements of energy and protein for the breeding of wild deermice, *Peromyscus maniculatus*.
J Reprod Fert 19, 237-252
- SCHAMS, D.; BARTH, D.; KARG, H. (1980):
LH, FSH and progesterone concentrations in peripheral plasma of the female roe deer (*Capreolus capreolus*) during the rutting season.
J Reprod Fert 60, 109-114
- SCHLAFKE, S.; ENDERS, A.C.; GIVEN, R.L. (1981):
Cytology of the endometrium of delayed and early implantation with special reference to mice and mustelids.
J Reprod Fert, Suppl. 29, 135-141
- SCHMIDT, G. (1994):
Ultraschall-Kursbuch.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1994
- SCHUSTER, E.; KNOFLACH, P.; GRABNER, G. (1988):
Local texture analysis: an approach to differentiating liver tissue objectively.
J Clin Ultrasound 16, 453-461
- SCHUSTERMAN, R.J. (1981):
Steller sea lion - *Eumetopias jubatus*.
In: Ridgway, S H & Harrison, R J (Hrsg), Handbook of Marine Mammals, Academic Press, New York, 119-141
- SEMPÉRE, A.J.; MAUGET, R.; CHEMINEAU, P. (1992):
Experimental induction of luteal cyclicity in roe deer (*Capreolus capreolus*).
J Reprod Fert 96, 379-384
- SEMPÉRE, A.J.; RENAUD, G.; BARITEAU, F. (1989):
Embryonic development measured by ultrasonography and plasma progesterone concentrations in roe deer (*Capreolus capreolus* L.).
Anim Reprod Sci 20, 155-164

- SEMPÉRE, A.J. (1977):
Plasma progesterone levels in roe deer, *Capreolus capreolus*.
J Reprod Fert 50, 365-366
- SHARMAN, G.B. (1973):
Adaptations of marsupial pouch young for extra-uterine existence.
In: Austin, C R (Hrsg), The mammalian fetus in vitro, Chapman & Hall, London, 67-90
- SHARMAN, G.B. (1963):
Delayed implantation in marsupials.
In: A C Enders (Hrsg), Delayed Implantation, University of Chicago Press, 3-14
- SHAW, G.; ROSE, R.W. (1979):
Delayed gestation in the tasmanian potoroo, *Potourus tridactylus apicalis* (Kerr).
Aust J Zool 27, 901-912
- SHERMAN, M.I.; BARLOW, P.W. (1972):
Desoxyribonucleic acid content in delayed mouse blastocysts.
J Reprod Fert 29, 123-126
- SHIELD, J. (1968):
Reproduction in the quokka, *Setonix brachyurus*, in captivity.
J Zool 155, 427-444
- SHORT, R.V.; HAY, M.F. (1966):
Delayed implantation in the roe deer *Capreolus capreolus*.
In: Rowlands, I W (Hrsg), Comparative Biology of Reproduction in Mammals, Acad Press, London, 173-194
- SILVIA, W.J.; LEWIS, G.S.; MCCRACKEN, J.S.; THATCHER, W.W.; WILSON, L.J. (1991):
Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F_{2α} in ruminants.
Biol Reprod 45, 655-663
- SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. (1988):
Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography.
Biol Reprod 39, 308-317
- SKORTON, D.J.; COLLINS, S.M.; WOSKOFF, S.D.; BEAN, J.A.; MELTON, H.E. (1983):
Range- and azimuth-dependent variability of image texture in two-dimensional echocardiograms.
Circulation 68, 834-840
- SOHN, C.; STOLZ, W.; BASTERT, G. (1992):
Erste Ergebnisse einer neuen Methode zur sonographischen Lungenreifediagnostik.
Ultraschall Med 13, 37-40
- SPENCER, T.E.; OTT, T.L.; BAZER, F.W. (1996):
τ- Interferon: Pregnancy recognition signal in ruminants.
Proc Soc Exper Biol Med 213, 215-229
- SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A.O.; SHIDELER, R.K. (1979):
Use of ultrasonography in reproductive management of mares.
Theriogen 29, 55-70
- STAUDACH, A. (1986):
Fetale Anatomie im Ultraschall.
Springer Verlag Berlin, 1986

STEMPFLE, H.U.; KRAML, P.; SCHÜTZ, A.; DREWELLO, R.; KEMKES, B.M.; THEISEN, K.; ANGERMANN, C.E. (1994):
Echokardiographische Texturanalyse zur Erkennung akuter kardialer Abstossungen.
Z Kardiologie 83, 562-570

STRANDGAARD, H. (1972):
An investigation of Corpora lutea, Embryonic Development and Time of Birth of Roe Deer (*Capreolus capreolus*) in Denmark.
Danish Review of ame Biology 6, 1-22

SURANI, M.A.H. (1975):
Hormonal regulation of proteins in the uterine secretion of ovariectomized rats and the implications for implantation and embryonic diapause.
J Reprod Fertil 43, 411-417

TAK, T.; RAHIMTOOLA, S.H.; KUMAR, A.; GAMAE, N.; CHANDRARATNA, P.A.N. (1988):
Value of digital image processing of two-dimensional echocardiograms in differentiating active from chronic vegetations of infective endocarditis.
Circulation 78, 116-123

THIELEBEIN, J.; HILDEBRANDT, TH.; GÖRITZ, F.; KÖHLER, D. (1994):
Die Sonographie – ein Hilfsmittel bei de Umsetzung von Zuchtstrategien am Beispiel des Zweifingerfaultieres (*Choloepus didactylus*).
Dt Gesell f Züchtg.-kunde in Zusammenarbeit mit Gesell f Tierzuchtwiss, Proc 57-58

TYNDALE-BISCOE, C.H. (1968):
Reproduction and post-natal development in the marsupial *Bettongia lesueur* (Quoy and Gaimard).
Aust J Zool 16, 577-602

VOGEL, P. (1981):
Ocurrence and interpretation of delayed implantation in insectivores.
J Reprod Fert 29, 51-60

VOGEL, P. (1972):
Beiträge zur Fortpflanzungsbiologie der Gattungen *Sorex*, *Neomys* und *Crocidura* (Soricidae).
Verhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft in Basel 82, 165-192

VOLF, J. (1963):
Bemerkungen zur Fortpflanzungsbiologie der Eisenbären, *Thalarctos maritimus* (Phipps) in Gefangenschaft.
Z Säugetierkd 28, 163-166

WALKER, M.T.; HUGHES, R.L. (1981):
Ultrastructural changes after diapause in the uterine glands, corpus luteum and blastocyst of the red-necked wallaby, *Macropus rufogriseus banksianus*.
J Reprod Fert 29, 151-158

WEICHERT, C.K. (1942):
The experimental control of prolonged pregnancy in the lactating rat by means of estrogen.
Anat Rec 83, 1-17

WEITZE, K.F.; HABECK, O.; WILLMEN, T.; RATH, D. (1989):
Detection of ovulation in the sow using transcutaneous sonography.
Zuchthygiene 24, 40-42

WHITE, I.R.; MCKELVEY, W.A.C.; BUSBY, S.; SNEDDON, A.; HAMILTON, W.J. (1989):
Diagnosis of pregnancy and prediction of fetal age in red deer by real-time ultrascanning.
Vet Rec 124, 395-397

WHITE, I.R.; RUSSEL, A.J.F.; WRIGHT, I.A.; WHYTE, T.K. (1985):

Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the estimation of gestational age in cattle.
Vet Rec 117, 8-

WHITE, R.A.S., ALLEN, W.R. (1985):

Use of ultrasound echography for the differential diagnosis of a granulosa cell tumor in a mare.
Equine Vet J 17, 401-402

WHITTEN, W.K. (1955):

Endocrine studies on delayed implantation in lactating mice.
J Endocrinol 13, 1-6

WILKER, C.; BALL, B.; REIMERS, T.; SASSER, G.; BRUNNER, M.; ALEXANDER, B.; GIAQUINTO, M. (1993):

Use of pregnancy-specific protein-B and estrone sulfate for determination of pregnancy on day 49 in fallow deer (*Dama dama*).
Theriogen 40, 307-312

WILLARD, S.T.; SASSER, R.G.; GILLESPIE, J.C.; JAQUES, J.T.; WELSH, J.T.H.; RANDEL, R.D. (1994):

Methods for pregnancy determination and the effects of body condition on pregnancy status in rocky mountain elk (*Cervus elephus nelsoni*).
Theriogen 42, 1095-1102

WILSON, P.R.; BINGHAM, C.M. (1990):

Accuracy of pregnancy diagnosis and prediction of calving date in red deer using real-time ultrasound scanning.
Vet Rec 126, 133-135

WRIGHT, P.L.; COULTER, M.W. (1967):

Reproduction and growth in Maine fishers.
J Wildlife Manage 31, 70-87

WRIGHT, P.L. (1966):

Observations on the reproductive cycle of the American badger (*Taxidea taxus*).
Symp Zool Soc, London 15, 27-45

WRIGHT, P.L. (1963):

Variations in reproductive cycles in North American mustelids.
In: Enders, A C (Hrsg), Delayed Implantation, University of Chicago Press, 77-97

ZIEGLER, L. (1843):

Beobachtungen über die Brunst und den Embryo der Rehe.
Hellweg'sche Hofbuchhandlung, Hannover

9. Verzeichnis der Abbildungen

	Seite
Abb. 1: Schematische Darstellung der Reproduktionsbiologie des Rehs und bisherige Methoden der Trächtigkeitsdiagnostik.	12
Abb.2: Verarbeitung des Ultraschallsignals im Ultraschallgerät und Möglichkeiten der Signalbeeinflussung durch den Untersucher.	18
Abb.3: Zwei eindimensionale Histogramme zweier unterschiedlicher Schwarzweiß-Bilder.	25
Abb.: 4: Postmortales Präparat des weiblichen Genitaltraktes eines Europäischen Rehs. Unter dem Rektum der widderhornartig aufgerollte Uterus. Man beachte die kleinen Größenverhältnisse der Ovarien und der Follikel. Unterhalb des linken Ovars ist der starkgeschlängelte Eileiter sichtbar.	30
Abb. 5: Ultraschallkopfadapter I – III (von unten nach oben) für die Transrektale Adaptersonographie mit Hilfe einer miniaturisierten 7,5 MHz Konvex – Sonde.	34
Abb.6: Transrektale Ultraschalluntersuchung beim Reh mit Hilfe eines Schallkopfadapters.	34
Abb. 7/8: Einfluß der Eingangskonfiguration auf eine Graustufenanalyse.	39
Abb. 9: Positionierung des Uterus innerhalb des ersten Fokusbereiches des Ultraschallbildes nahe der Mittellinie.	40
Abb. 10: Versuchsprotokoll der Graustufenanalyse des Endometriums beim Reh.	41
Abb. 11: Sonogramm des kaudalen Harnblaseanteils (Bl) und der Urethra (Ur) von Rehen kurz nach Harnabsatz. 1. <i>Sphincter urethrae</i> (Sp) erscheint als echogene kugelige Struktur am Ende des Blasenhalses. Die echogene Linie repräsentiert die aufeinanderliegende Schleimhaut der Urethra (SH). 2. Flüssigkeit (Fl) in der Urethra.	44
Abb. 12: 1. Sonogramm der Rehiniere. <i>Renculi</i> (Re), Nierenbecken (NB), Nierenkapsel (K) und <i>Recessus pelvis</i> (Rp) 2. Sonogramm der Einmündung des Ureters (↑) in die Harnblase.	44

	Seite
<p>Abb. 13: Sonogramme und postmortales Präparat der Vagina von Rehen: 1. Vagina (<) in der Lutealphase. Die aneinanderliegende Vaginalschleimhaut (SH) erzeugt ein starkes Echo. 2. im Östrus erscheint das Vaginalsekret im Lumen als anechogene Flüssigkeit (Fl). 3. Mit Entzündungsexsudat (Ex) gefüllte Vagina, deren Schleimhautfalten (SHF) sich ins Lumen vorwölben. 4. Vestibulum (Ve), Vagina (V), Zervix (C) und Blase (Bl) im postmortalen Präparat. Über der Vagina ist rektal der Schallkopfadapter II (AII) eingeführt.</p>	46
<p>Abb. 14: Postmortales Präparat und Sonogramme der <i>Cervix uteri</i> von Rehen: 1. Postmortales Präparat 2. Im Sonogramm erscheinen Zervikalfalten Innerhalb der Zervix (<) als kissenartige Struktur. 3. <i>Portio</i> (<) mit echogenem Zervikalkanal (CK) in der Lutealphase. 4. <i>Portio</i> (<) mit flüssigkeitsgefülltem Cervikalkanal (CK) während des Oestrus. Anechogene Bereiche sind Anschnitte der <i>Arteria iliaca externa</i> (Iex) und der Blase (Bl).</p>	47
<p>Abb. 14: Schematische Darstellung der sonographischen Differenzierung ovariellen und uterinen Gewebes.</p>	48
<p>Abb. 15: Sonogramme zweier Rehovarien (<) mit präovulatorischen Follikeln (Fo) welche ein deutliches distales und proximales Verstärkungsecho zeigen. Durch geringe Komprimierung durch den Schallkopf geht die runde Form der Follikel etwas verloren. 1. Das Ovar wird kranial vom gasgefüllten Darm (Da) begrenzt. 2. das kraniodorsal liegende Uterushorn (Uh) hat ähnliche Echogenität wie das Ovar. Kranial Anschnitte der <i>Arteria iliaca externa</i> (Aie) und <i>Vena iliaca externa</i> (Vie).</p>	50
<p>Abb. 16: Sonogramme unterschiedlicher Entwicklungsstadien des C.I.: 1. <i>Corpus haemorrhagicum</i> (<) mit der typischen hohen Echogenität unmittelbar nach der Ovulation (Nr.1). 2. C.I. in der Proliferationsphase mit echogener Randzone und anechogenem Zentrum (<) (Nr. 4, 1997). 3. Aktives C.I. während der eD. 4. Erscheinungsbild eines sich in Regression befindlichen C.I.</p>	52
<p>Abb. 17: Aktive C.I. eines graviden (1.) (Nr. 6) und eines nicht graviden Tieres (2.) (Nr. 4) im Zeitraum der Diapause. Die ähnliche Echotextur des Uterushornes (Uh) muß vom Ovarparenchym differenziert werden.</p>	53
<p>Abb. 18: Ultrasonographisch dargestellte Ovardynamik von Rehen während der Follikelphase und der Lutealphase im Zeitraum der embryonalen Diapause bei nicht tragenden Tieren. Die Plasmaprogesteronwerte nicht tragender Tiere sind für den entsprechenden Zeitraum nach Hoffmann abgebildet.</p>	56

	Seite
Abb. 19: Ultrasonographisch dargestellte Ovardynamik von Rehen während der Follikelphase und der Lutealphase im Zeitraum der embryonalen Diapause bei tragenden Tieren. Die Plasmaprogesteronwerte tragender Tiere sind für den entsprechenden Zeitraum nach Hoffmann abgebildet.	57
Abb. 20: Schematische Darstellung der optimalen Uterusschnittebene im Sonogramm ,Standard Schnittebene. Linie im Endometrium repräsentiert aufeinanderliegende Uterusschleimhaut.	59
Abb. 21: Sonographisches Aussehen des Uterus von Rehen während der Brunst 1. Brunstbeginn: Das Endometrium ist als einbandiges mittelechogenes Band (<) gekennzeichnet. 2. Hochbrunst: Das Endometrium (<) ist unterteilt eine stark- bis mittelechogene Zone, umgeben von einer schwachechogenen Zone.	60
Abb. 22: Änderung der Höhe des endometrialen Doppelblattes von Rehen während der Brunstperiode.	61
Abb. 23: 1. Uterussonogramm eines nicht graviden Rehs im Oktober (Nr. 4). 2. Uterussonogramm eines graviden Rehs (Nr.9) im Oktober. Das Endometrium des graviden Tieres stellt sich im Kontrast zur stark echogenen Linie des nicht graviden Tieres als dunkleres echoarmes Band dar.	62
Abb. 24: 1. Uterussonogramm eines graviden Rehs im November (Nr. 7). 2. Uterussonogramm eines graviden Rehs Dezember (Nr. 8) Das Endometrium (<) ist als dunkles echoarmes Band charakterisiert.	63
Abb. 25: Uterussonogramm eines Rehs am Ende der embryonalen Diapause. Anechogene Flüssigkeit (Fl), im Lumen des Uterus. Verstärkungsechos (VE) kennzeichnen den hohen Impedanzunterschied zwischen Uterusgewebe und freier Flüssigkeit.	64
Abb. 26: GSA des Endometriums eines nicht graviden (1.) und eines graviden (2.) Rehs im Dezember. Vom weiß umrahmten Analysefenster werden die Graustufenhistogramme erstellt. Beim tragenden Reh dominieren deutlich die dunklen flüssigkeitsassoziierten Graustufen im Gegensatz zu einer breiten, helleren Graustufenpalette beim nicht graviden Reh.	65

	Seite
Abb. 27: Quantifizierung der Umbauprozesse des Endometriums während der Diapause. Mittlere Mediane der Graustufenhistogramme des Endometriums gravider und nicht gravider Tiere (n = Anzahl durchgeführter Messungen).	65
Abb. 28: Sonogramme verschiedener Stadien der frühen Embryonalentwicklung von Rehen: 1. stark echogener, von Flüssigkeit umgebener Dottersack (↑). 2. Embryo mit klar konturiertem Kopf und Rumpf (<) und darüber (↑) ein sich entwickelndes Plazentom. 3. Zum Embryo hinziehender Nabelstrang (NS). 4. Zwillingsgravidität.	67
Abb. 29: 1. Querschnitt eines Rehfoetus im Kopf-Rumpf-Bereich. Oft war eine Vorderextremität (VE) in der Nähe des Maules zu finden, dicht benachbart ein Plazentom (Pl). 2. gekammerte foetale Magenblase (fM) umgeben von Leberparenchym und den umschließenden Rippen. 3. Eintritt des Umbilicus (Ub) in die foetale Leibeshöhle (<). 4. transkutanes Sonogramm mehrerer Plazentome. Die homogene Innenstruktur wird von einer Endometrium-Falte durchzogen (EF) Das Allantochorion (Al) als Begrenzung erscheint stark echogen.	69
Abb. 30: Mittels TAS ermittelte Trächtigkeiten in einer freilebenden französischen Rehpopulation Ende Januar (n = 44)	70
Abb. 31 Sonographisches Erscheinungsbild einer präimplantativen Resorption eines Rehs während der eD. 1. Typisches trächtigkeitsassoziiertes Endometrium (<) mit geringer Echogenität im November. 2. Die Echogenität des Endometriums (<) nahm im Dezember entgegen der Erwartung wieder zu.	74
Abb. 32: Mittlere Mediane des Endometriums von nicht graviden und graviden Rehen sowie des Tieres Nr. 11 in den Monaten November und Dezember. Entgegen der erwarteten Entwicklung bei graviden Tieren ist die Echotextur des Endometriums des Tieres Nr. 11 im Dezember wesentlich heller als im Vormonat.	74
Abb. 33: Sonographisches Erscheinungsbild embryonalen Früh-todes: 1. strukturlose, von Fruchthüllen umgebene Zellmassen (ZM). 2. diskontinuierliche frei flotierende Fruchthüllen mit teils starken internen Echos.	75
Abb. 34: Vorkommen embryonaler Fruchtresorption in einer freilebenden französischen Rehpopulation (n = 33).	76

Abb. 35: Abort beim Reh: 1. intakter Foetus im Januar: Längsschnitt durch Hintergliedmaße (HG), Lendenwirbelsäule (LW). Das Amnion ist als feine weiße Linie gekennzeichnet. 2. mit Exsudat (Ex) gefüllter Uterus desselben Tieres mit schneegestöberähnlichen Reflektionen. 77

Abb. 36: Schematische Darstellung der Methoden der Trächtigkeitsdiagnostik beim Reh. 87

Danksagung

Für die ursprüngliche Idee zu dieser Arbeit und die Überlassung dieses interessanten Themas möchte ich mich zu aller erst bei Herrn Univ.-Prof. Dr. R. R. Hofmann bedanken. Seine stets positive Unterstützung bildete die Grundlage für ein sehr angenehmes Arbeiten am IZW.

Besonders herzlich möchte ich meinen beiden Kollegen Herrn Dr. Thomas Hildebrandt und Herrn Dr. Frank Göritz danken für die kritischen fachlichen Auseinandersetzungen und die intensive Betreuung, die die praktische Durchführung und die Präsentation der Untersuchungen möglich gemacht haben. Hervorheben möchte ich den Teamgeist der Forschungsgruppe Reproduktionsmanagement, der bei mir einen bleibenden Eindruck hinterlassen wird.

Herrn Thomas Lengwinat möchte ich neben seiner tatkräftigen Hilfe insbesondere danken für die vielen Informationen die in diese Arbeit Eingang gefunden haben. Frau Dr. Katarina Jewgenow schulde ich Dank für die Hilfe bei der Lösung manch kniffliger Probleme bei der Etablierung der Graustufenanalyse am IZW. Im Rahmen der praktischen Durchführung der sonographischen Untersuchungen gilt mein besonderer Dank für die gute Zusammenarbeit den Mitarbeitern der Feldforschungsstation Niederfinow Frau Dr. Christina Baugatz und Herrn Peter Baumann.

Bei Herrn Prof. Dr. Patrick Duncan und den übrigen Mitarbeitern des CNRS – CEBC, Chize, Frankreich sowie bei Frau Isabell Hardouin und Herrn Ronald Armbruster vom Deutschen Herzzentrum, Berlin möchte ich mich für die wissenschaftliche Zusammenarbeit und für ihre Unterstützung bedanken.

Für die Hilfe bei der umfangreichen Literaturrecherche der Beschaffung von Originalarbeiten und deren Bearbeitung möchte ich Frau Cornelia Witte, Frau Ulrike Oßwald, Frau Beate Peters, Frau Alexandra Broich herzlichst danken. Abschließend noch ein herzliches Dankeschön für die technische Zusammenarbeit an Frau Regina Müller, Frau Sigrid Holz, Herrn Wolfgang Tauche und die Firma Arno Schnorrenberg.