

Aus der Klinik für Klautiere
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchungen zur Perfusion des Uterus im Zyklus
von Jungsauen mittels transabdominaler
Dopplersonographie**

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

eingereicht von
Catherine Herlt
(geb. Poser)
aus Zeitz

Leipzig, 2020

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thomas Vahlenkamp

Betreuer: Prof. Dr. Johannes Kauffold

Gutachter: Prof. Dr. Johannes Kauffold, Klinik für Klauentiere,
Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

Prof. Dr. Axel Wehrend, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und
Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz,
Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Verteidigung: 17. Dezember 2019

Für Sau Nr. 6

Wo ein Wille ist, da ist auch ein Weg.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| 1 Einleitung | 1 |
| 2 Literaturübersicht | 4 |
| 2.1 Sexualzyklus der Sau..... | 4 |
| 2.2 Gefäßversorgung des Uterus..... | 6 |
| 2.3 Dopplersonographie..... | 8 |
| 2.3.1 Physikalische Grundlagen..... | 8 |
| 2.3.2 Dopplermodi..... | 9 |
| 2.3.3 Insonationswinkel..... | 11 |
| 2.3.4 Artefakte..... | 12 |
| 2.3.5 Auswertung von Doppleruntersuchungen..... | 13 |
| 2.3.5.1 Qualitative Analyse..... | 13 |
| 2.3.5.2 Semiquantitative Analyse..... | 14 |
| 2.3.5.3 Quantitative Analyse..... | 15 |
| 2.3.5.4 Pixelanalytische Methode..... | 16 |
| 2.3.5.4.1 Vergleich pixelanalytischer Programme..... | 17 |
| 2.3.6 Dopplersonographie am ingraviden Uterus in der Humanmedizin..... | 18 |
| 2.3.7 Dopplersonographie am ingraviden Uterus in der Veterinärmedizin..... | 19 |
| 3 Publikation | 21 |
| 4 Diskussion | 22 |
| 4.1 Immobilisation der Jungsau..... | 23 |
| 4.2 Insonationswinkel..... | 24 |
| 4.3 Uterusgefäße..... | 25 |
| 4.4 Analysen von Einzelbildern bzw. Videos..... | 27 |
| 5 Zusammenfassung | 29 |
| 6 Summary | 31 |
| 7 Literaturverzeichnis | |

Inhaltsverzeichnis

Anhang.....

Danksagung.....

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------|---|
| α | Winkel zwischen Schallwelle und Bewegungsrichtung der Reflektoren |
| A | Gefäßquerschnittsfläche |
| A. | Arteria |
| Amix | perfundierte Fläche unabhängig von der Blutflussrichtung |
| A-Mode | Amplituden-Mode |
| B-Mode | Brightness-Mode |
| bzw. | beziehungsweise |
| c | Schallgeschwindigkeit im Gewebe |
| CH | Corpora haemorrhagica |
| CL | Corpora lutea |
| D | enddiastolische Geschwindigkeit |
| d_m | mittlerer Gefäßdurchmesser |
| eCG | equines Choriongonadotropin |
| e.g. | exempli gratia, zum Beispiel |
| Δf | Dopplershift |
| f_0 | Frequenz der ausgesendeten Ultraschallwelle |
| FSH | Follikelstimulierendes Hormon |
| GnRH | Gonadotropin-Releasing-Hormon |
| hCG | humanes Choriongonadotropin |
| i.e. | id est, das heißt |
| Imix | Blutflussintensität unabhängig von der Blutflussrichtung |
| LH | Luteinisierendes Hormon |
| MDV | minimale diastolische Geschwindigkeit |
| MPSV | maximale systolische Blutflussgeschwindigkeit |
| PGF 2α | Prostaglandin F 2α |
| PI | Pulsatilitätsindex |
| PIvmix | Pulsatilitätsindex bezogen auf die Blutflussgeschwindigkeit, unabhängig von der Blutflussrichtung |
| PRF | Pulsrepetitionsfrequenz |
| PSV | maximale systolische Blutflussgeschwindigkeit |
| RI | Resistenzindex |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------------|---|
| Rlvmix | Resistenzindex bezogen auf die Blutflussgeschwindigkeit, unabhängig von der Blutflussrichtung |
| ROI | Region of Interest |
| S | maximale systolische Blutflussgeschwindigkeit |
| SEM | standard error of the mean, Standardfehler |
| TAMP | die über einen Herzzyklus gemittelte maximale Geschwindigkeit |
| TAMV | die über einen Herzzyklus gemittelte maximale Geschwindigkeit |
| TAMX | die über einen Herzzyklus gemittelte maximale Geschwindigkeit |
| u.a. | unter anderem |
| V. | Vena |
| v | Geschwindigkeit der Reflektoren im Verhältnis zum Schallkopf |
| $v_{\text{mean mitt}}$ | über einen Herzzyklus gemittelte mittlere Blutflussgeschwindigkeit |
| vmix | Blutflussgeschwindigkeit unabhängig von der Blutflussrichtung |
| Vol | Blutflussvolumen |
| \bar{X} | Mittelwert |
| z.B. | zum Beispiel |

1 Einleitung

Fruchtbarkeitstörungen sind eine der häufigsten Abgangsursachen von Sauen (HEINONEN et al. 1998; FREITAG und WITTMANN 2008; KAUFFOLD und WEHREND 2014). Die Liste der Ursachen ist vielfältig und umfasst infektiöse und nicht-infektiöse Faktoren (WEHREND und KAUFFOLD 2008; KAUFFOLD und WEHREND 2014). Generell können alle Bereiche des weiblichen Genitale erkranken (KAUFFOLD und WEHREND 2014). Dazu gehören auch Erkrankungen des Uterus, die vergleichsweise häufig sind (KAUFFOLD und WEHREND 2014). Speziell nicht-puerperale Endometritiden stellen eine weit verbreitete Ursache für Sub- oder Infertilität der Sau dar (KAUFFOLD 2008). Die chronische Form ist im Unterschied zur akuten und subakuten mit klinischen Methoden nicht zu diagnostizieren (WEHREND und KAUFFOLD 2008; KAUFFOLD und WEHREND 2014) und deshalb sehr „tückisch“, da betreffende Sauen nur durch unspezifisches Umrauschen auffallen.

Die Brightness-(B-Mode)-Sonographie ist eine seit ca. 30 Jahren etablierte Methode zur intravitalen Darstellung des Genitaltraktes beim weiblichen Schwein (KAUFFOLD und ALTHOUSE 2007). Wesentlichstes Einsatzgebiet ist die Trächtigkeitsuntersuchung. Andere sind die Pubertätsdiagnose und Ovulationskontrolle. Seit Jahren wird die Ultrasonographie in der gynäkologischen Diagnostik bei verschiedensten Fertilitätsstörungen eingesetzt (MARTINEZ et al. 1992; KAUFFOLD et al. 2004; KAUFFOLD und ALTHOUSE 2007; KAUFFOLD und WEHREND 2014). Dabei stehen sowohl Ovar als auch Uterus im Fokus. Während das Ovar bzw. ovarielle Strukturen hinreichend ultrasonographisch charakterisiert werden können, ist die Erkennung uteriner Erkrankungen auf kongenitale und solche, die mit einer deutlichen Veränderung des uterinen Sonogramms einhergehen (z.B. akute bzw. sub-akute Endometritiden), reduziert. Chronische Endometritiden, die, wie oben erwähnt, sehr häufig beim Schwein vorkommen, sind auch mittels konventioneller B-Mode-Sonographie nicht zu diagnostizieren.

Dopplersonographische Untersuchungen zum Studium der uterinen Perfusion sind von der Frau (GOSWAMY und STEPTOE 1988; AMSO et al. 2001; KURJAK et al. 2001) sowie u.a. Stute, Kuh und Hündin bekannt (BOLLWEIN et al. 1997; BOLLWEIN et al. 2000; ALVAREZ-CLAU und LISTE 2005). Bei allen Studien wurde

Einleitung

festgestellt, dass sich die uterine Perfusion während des Sexualzyklus verändert (GOSWAMY und STEPTOE 1988; BOLLWEIN et al. 2000; KNEITZ 2010; FREEMAN et al. 2013). Andere Faktoren mit Einfluss auf die uterine Perfusion waren u.a. intrauterin eingebrachtes Sperma, Alter sowie Parität (HSIEH et al. 2000; BOLLWEIN et al. 2003; BOLLWEIN et al. 2008; RISSE 2011). Dopplersonographische Perfusionsmessungen scheinen im Rahmen der Diagnose uteriner Pathologien ebenfalls hilfreich zu sein. So fand diese Methode zur Charakterisierung von Endometritiden bei Kühen, Uteruszysten und endometrialer Fibrosierung bei Stuten, Unterscheidung von Endometriumskarzinomen und gutartigen endometrialen Veränderungen (Hyperplasie, Polypen, Atrophie) bei Frauen oder allgemein bei der Diagnose von Infertilität von Frauen erfolgreich Anwendung (KURJAK et al. 2001; NAKAI et al. 2002; RAINE-FENNING 2004; BOLLWEIN et al. 2005; BOLLWEIN et al. 2008; FERREIRA et al. 2008).

Beim Schwein erfolgten Untersuchungen zur uterinen Perfusion vor allem in den 70iger und 80iger Jahren. Diese Untersuchungen wurden ausschließlich invasiv (DICKSON et al. 1969; FORD und CHRISTENSON 1979; FORD et al. 1982) bzw. minimalinvasiv durchgeführt (BRÜSSOW et al. 2012). Für die invasiven Perfusionsmessungen wurden an der Arteria (A.) uterina operativ elektromagnetische Schallköpfe befestigt oder die Konzentration radioaktiv beschichteter Mikrosphären bzw. 4-Aminoantipyrine im Blut bzw. Gewebe bestimmt (DICKSON et al. 1969; FORD und CHRISTENSON 1979; FORD et al. 1982). WILIAMS et al. (2008) waren die Ersten die angaben, Sauen transabdominal dopplersonographisch untersucht zu haben. Ziel war es, den Erfolg der Trächtigkeitsfeststellung zwischen B-Mode-Sonographie und einer Kombination aus Amplituden-Mode-Sonographie (A-Mode) und Dopplersonographie zu vergleichen. Wurde bei der A-Mode-Sonographie Flüssigkeit detektiert, leuchtete ein grünes Licht auf. Da bei der kombinierten Methode aber vorrangig der A-Mode und nicht der „klassische“ Doppler verwendet wurde, also Blutfluss farblich oder graphisch nachgewiesen wurde, war die Verlässlichkeit bei der kombinierten Methode schlechter als bei der Untersuchung mit B-Mode (WILIAMS et al. 2008). Andere dopplersonographische Untersuchungen des Uterus beim Schwein insbesondere zur Zyklusabhängigkeit sind nicht bekannt, obschon oben erwähnte Studien bei Frauen, Stuten, Kühen und Hündinnen (GOSWAMY und STEPTOE 1988; BOLLWEIN et al. 2000; KNEITZ 2010; FREEMAN et al. 2013) eine Zyklusabhängigkeit nahelegen. Derartige Daten wären

Einleitung

die Grundlage für weiterführende Studien zur Charakterisierung uteriner Pathologien wie der oben erwähnten bisher konventionell nicht zu diagnostizierenden chronischen Endometritis beim Schwein.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, verschiedene Möglichkeiten zur nicht invasiven transabdominalen Dopplersonographie an Jungsauen zu testen. Dazu sollten verschiedene Doppler-Methoden (Color-, Power- und Pulse Wave-Doppler) zum Einsatz kommen und deren Eignung zur Charakterisierung der uterinen Perfusion evaluiert werden. Nach Auswahl der geeignetsten Methode sollte untersucht werden, ob sich die uterine Perfusion auch zyklusphasenabhängig beschreiben lässt.

2 Literaturübersicht

2.1 Sexualzyklus der Sau

Der Sexualzyklus bei der Sau wird in die vier Phasen Proöstrus, Östrus, Metöstrus und Diöstrus eingeteilt. Die genannten Phasen lassen sich aufgrund von Veränderungen der Hormonspiegel, der Duldungsbereitschaft, des Aussehens der Vulva sowie auch sonographisch an nachvollziehbaren zyklischen Veränderungen an Ovar und Uterus unterscheiden (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; KAUFFOLD und ALTHOUSE 2007). Insgesamt dauert der Sexualzyklus bei der Sau durchschnittlich 21 Tage (\pm 3 Tage) (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; KNOX und ALTHOUSE 1999; SOEDE 2011).

Im Proöstrus (Tage 18-21 des Sexualzyklus) werden durch den Anstieg des Follikelstimulierenden Hormons (FSH) viele kleine ($<$ 3 mm) bis mittelgroße (3-6 mm), kugelförmige, antrale Follikel rekrutiert (SOEDE 1992; KNOX und ALTHOUSE 1999; SOEDE 2011). Das Luteinisierende Hormon (LH) sorgt für das Wachstum der Follikel, die eine ausreichende Anzahl LH-Rezeptoren besitzen (Follikelselektion) (SOEDE 2011). Diese wachsen zu 7-8 mm großen präovulatorischen Graaf'schen Follikeln heran (KNOX 2005; SOEDE 2011). Die anderen kleinen und mittelgroßen Follikel gehen in Atresie, sobald der FSH-Spiegel sinkt (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; SOEDE 2011). Die wachsenden Graaf'schen Follikel produzieren Östrogene (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Diese führen durch einen positiven Feedback-Mechanismus zu einem weiteren Anstieg des LH-Spiegels, der letztlich im präovulatorischen LH-Peak gipfelt (siehe unten; SOEDE 2011). Die Östrogenkonzentration erreicht gegen Ende des Proöstrus ihr Maximum (KARLBOM 1981/1982; SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Östrogene bewirken eine zunehmende Ödematisierung und Durchblutung der Vulva, die dadurch gerötet und geschwollen erscheint (KARLBOM 1981/1982; SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Ähnliches vollzieht sich am Endometrium. Dadurch erscheint der Uterus im sonographischen Bild heterogen texturiert [scheinbar willkürlich verteilte Areale unterschiedlicher (d.h. „hellere“ bzw. „dunklere“) Graustufen] (KAUFFOLD et al. 2004). Die Sau zeigt noch keine Duldungsbereitschaft (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994).

Literaturübersicht

Der Beginn des Östrus (Tage 1-2 des Sexualzyklus) ist durch das erstmalige Auftreten der Duldungsbereitschaft gekennzeichnet, die zeitgleich mit dem durch Östrogene induzierten präovulatorischen LH-Peak zu beobachten ist. Enzymsysteme, die Vorläufersubstanzen in Östrogene konvertieren, werden blockiert. Dadurch sinken die Östrogenkonzentrationen (KARLBOM 1981/1982; SOEDE 2011). Der präovulatorische LH-Peak initiiert die Ovulation (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; SOEDE 1998; KNOX und ALTHOUSE 1999; KAUFFOLD et al. 2004). Die Ovulation ist ein pseudo-inflammatorischer Prozess, in dessen Folge u.a. die Follikelwand strukturellen Veränderungen unterliegt. Sonographisches Äquivalent sind Formveränderungen der Follikel *ante ovulationen*; aus ehemals kugelförmigen Follikeln werden ovale und später, unmittelbar vor der Ovulation, längliche oder polygonale Gebilde (SOEDE 1998; KAUFFOLD und ALTHOUSE 2007). Die Ovulation, in deren Folge die Eizellen freigesetzt und über das Infundibulum in die Ampulla des Eileiters gelangen, erfolgt im letzten Drittel der Brunst (SOEDE 1992; KNOX und ALTHOUSE 1999, SOEDE 2011). Die ovulierten Follikel füllen sich mit Blut und werden dann *Corpora haemorrhagica* (CH) genannt (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994, SOEDE 2011). Die Vulva ist noch gerötet und geschwollen, am Ende des Östrus jedoch verringert (KARLBOM 1981/1982; SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Gleiches gilt für die Ödematisierung und Hyperämie des Endometriums.

Dem Östrus schließt sich der Metöstrus (Tage 3-6 des Sexualzyklus) an. Durch Umwandlung ehemaliger Follikelzellen in Luteinzellen im Rahmen des Prozesses der Luteinisierung entstehen die *Corpora lutea* (CL) (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; KNOX und ALTHOUSE 1999; KAUFFOLD und ALTHOUSE 2007), die Progesteron sezernieren (KARLBOM 1981/1982, SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Durch den Abfall von Inhibin und Östrogen im Östrus wird zu Beginn des Metöstrus ein postovulatorischer FSH-Peak ausgelöst, der für erneutes Wachstum der Follikel des nachfolgenden Zyklus verantwortlich gemacht wird (SOEDE 2011). Anders als z.B. bei Wiederkäuern erfolgt beim Schwein kein wellenförmiges Follikelwachstum. Die durch FSH in ihrem Wachstum stimulierten Follikel bleiben während des Metöstrus und darauffolgenden Diöstrus klein bis mittelgroß und atresieren schließlich (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994, KNOX 2005; SOEDE 2011), da das von ihnen produzierte Inhibin die FSH-Verfügbarkeit limitiert (SOEDE 2011). Rötung und Schwellung der Vulva, die schon am Ende des Östrus abnehmen,

verschwinden im Metöstrus komplett (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994). Ähnlich verhält sich das Endometrium. Ödematisierung und Hyperämie nehmen ab, so dass die sonographische Echotextur des Uterus zunehmend homogener wird (KAUFFOLD et al. 2004). Die Sau duldet nicht mehr (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994).

Im Diöstrus (Tage 7-17 des Sexualzyklus) wachsen die CL auf eine Größe von 10-12 mm heran (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; KNOX und ALTHOUSE 1999). Der Progesteronspiegel erreicht 8 bis 9 Tage nach der Ovulation sein Maximum. Neben CL sind immer kleine bis mittelgroße Follikel präsent, die, wie oben beschrieben, in ihrem weiteren Wachstum gehemmt werden und atresieren (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994, KNOX 2005; SOEDE 2011). Verantwortlich dafür ist auch das im Diöstrus vorherrschende Progesteron, welches das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) und nachgeordnet FSH und LH hemmt (SCHNURRBUSCH und HÜHN 1994; SOEDE 2011). Ab Tag 12 bis 13 nach der Ovulation produziert der Uterus Prostaglandin (PGF₂ α). Zeitgleich werden die CL für dieses Hormon sensitiv und ihre Rückbildung (Luteolyse) setzt ein. Die CL werden kleiner und der Progesteronspiegel fällt ab (SOEDE 2011). Unmittelbar im Anschluss daran steigt die Anzahl und Größe kleiner antraler Follikel (von ca. 3 mm Größe) (KNOX 2005; SOEDE 2011). Das Progesteron ist ca. 6 Tage vor der nächsten Ovulation auf basale Konzentration abgefallen (SOEDE 2011).

2.2 Gefäßversorgung des Uterus

Kenntnisse über die den Uterus versorgenden Blutgefäße sind eine wichtige Voraussetzung für Perfusionsanalysen und sollen im Folgenden genauer erläutert werden. Die arterielle Versorgung des Uterus erfolgt durch die A. ovarica, die A. uterina, sowie die A. vaginalis (LANGE 1959) (Abbildung 0). Alle drei Gefäße sind bilateral angelegt. Nachfolgend soll die Gefäßaufzweigung einer Körperseite beschrieben werden:

Der Uterus wird einerseits über mehrere Rami uterini der A. ovarica, die sich mit dem kranialsten Ramus uterinus der A. uterina verbinden, versorgt (LANGE 1959; OXENREIDER et al. 1965).

Literaturübersicht

Die A. uterina, das zweite und für die Blutversorgung wichtigste Gefäß, entspringt aus der A. umbilicalis und diese wiederum aus der A. iliaca interna (BOYE 1956; LANGE 1959; OXENREIDER et al. 1965). Die A. uterina verläuft im Ligamentum latum uteri, seitlich von Cervix und Corpus, in Richtung Mitte des jeweiligen Uterushornes (BOYE 1956; LANGE 1959; OXENREIDER et al. 1965; PERRY und ROWELL 1969). Dabei verzweigt sie sich vielfach in Rami uterini (LANGE 1959). Diese Äste anastomosieren miteinander und bilden Gefäßarkaden (BOYE 1956; LANGE 1959). Hieraus entspringen zahlreiche Ramuli uterini, die beim juvenilen Tier geschlängelt verlaufen. Diese Ramuli uterini treten am mesometralen Rand in das Uterushorn ein und verlaufen im Myometrium zwingenartig um die laterale und mediale Uteruswand. Von den Gefäßen im Myometrium entspringen Gefäße, die das subepitheliale Kapillarnetz der Serosa und des Endometriums bilden (LANGE 1959).

Neben der A. uterina versorgt die A. vaginalis den Uterus (wie auch die Vagina). Sie entspringt aus der A. iliaca interna (LANGE 1959; OXENREIDER et al. 1965). Ihre Rami uterini (auch Rami cervicales genannt) verlaufen beidseitig dorsal, ventral und ventrolateral an der Cervix entlang nach kranial und verbinden sich mit dem kaudalsten Ramus uterinus der A. uterina (LANGE 1959).

Die venöse Versorgung des Uterus erfolgt durch die Vena (V.) ovarica, die V. uterina und die V. vaginalis, wobei die zuerst genannte Vene das Stärkste der drei Gefäße ist. Die V. ovarica mündet in die V. cava caudalis und anastomosiert mit der V. uterina, welche ihrerseits in die V. iliaca communis mündet. Sowohl die V. ovarica, als auch die V. uterina bezieht das Blut aus den Rami uterini proximales. Diese anastomosieren an zahlreichen Stellen und bilden damit, wie die Rami uterini der A. uterina, so genannte Arkadenbögen. Die Arkaden entlassen Rami uterini distales, die ebenfalls miteinander anastomosieren und aus dem mesometralen Rand des Uterushornes stammen. Sie verlaufen dabei neben den Ramuli uterini der A. uterina. Der kaudalste Ramus uterinus proximalis der V. uterina verbindet sich mit dem Ramus cervicalis ventrolateralis der V. vaginalis zum kaudalsten proximalen Arkadenbogen. Von hier ziehen ebenfalls wieder Rami uterini distales an den Uterus (LANGE 1959).

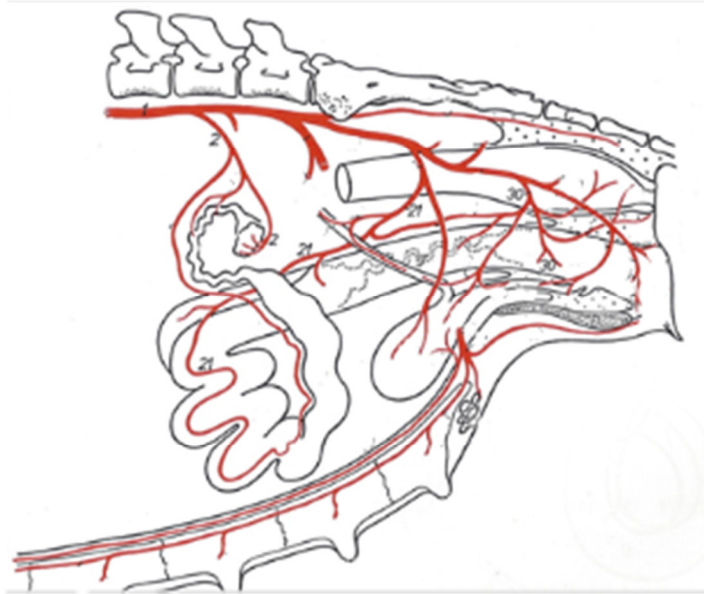


Abbildung 0: Aorta (1), Arterielle Gefäßversorgung des Uterus über die A. ovarica (2), A. uterina (21) und A. vaginalis (30) (modifiziert aus NICKEL et al. 1996)

2.3 Dopplersonographie

2.3.1 Physikalische Grundlagen

1842 legte Christian Doppler mit seiner Untersuchung „Über das farbige Licht der Dopplersterne“ den Grundstein für die Dopplersonographie (DOPPLER 1842). Bei der Dopplersonographie wird der Effekt einer Frequenzverschiebung zwischen einer gesendeten (f_0) und empfangenen Ultraschallwelle bei Reflexion an einem sich bewegenden Körper (Reflektor) genutzt (DICKY 1997; HERZOG und BOLLWEIN 2007). Diese Frequenzverschiebung nennt man Dopplershift (Δf) oder Dopplershiftfrequenz (HERZOG und BOLLWEIN 2007; STEINER und SCHNEIDER 2008). Sie ist abhängig von der Frequenz der ausgesendeten Ultraschallwelle (f_0), der Geschwindigkeit der Reflektoren im Verhältnis zum Schallkopf (v), dem Cosinus des Winkels (α) zwischen Schallwelle und Bewegungsrichtung der Reflektoren sowie der Schallgeschwindigkeit im Gewebe (c) (Formel 1). Bewegt sich der Reflektor auf den Empfänger zu, misst dieser eine höhere reflektierte Frequenz als die ausgesendete Frequenz (HERZOG und BOLLWEIN 2007; STEINER und SCHNEIDER 2008). Der Dopplershift ist demzufolge positiv. Entfernt sich der

Reflektor vom Empfänger, ist die Frequenz der reflektierten Welle niedriger als die der ausgesendeten; der Dopplershift ist negativ (Formel 1). In Blutgefäßen wird die Ultraschallwelle von den sich bewegenden Erythrozyten reflektiert. Da sich die Frequenzverschiebung (Dopplershifffrequenz) proportional zur Geschwindigkeit des Reflektors verhält, kann auf die Blutflussgeschwindigkeit zurückgeschlossen werden (STEINER und SCHNEIDER 2008) (Formel 1). Dabei muss allerdings beachtet werden, dass sich die Blutflussgeschwindigkeit innerhalb eines Herzzyklus verändert. Während der Systole steigt die Blutflussgeschwindigkeit aufgrund der kardialen Kontraktionskraft. In der Diastole fließt das Blut passiv ab. Die niedrige Blutflussgeschwindigkeit wird durch den peripheren Gefäßwiderstand bestimmt (SOHN et al. 1993).

Formel 1:
$$\Delta f = 2 \cdot f_0 \cdot v \cdot \frac{\cos \alpha}{c}$$

Δf : Dopplershift

f_0 : Frequenz der ausgesendeten Ultraschallwelle

v : Geschwindigkeit der Reflektoren im Verhältnis zum Schallkopf

α : Winkel zwischen Schallwelle und Bewegungsrichtung der Reflektoren

c : Schallgeschwindigkeit im Gewebe

Formel aus HERZOG und BOLLWEIN 2007

2.3.2 Dopplermodi

Es gibt verschiedene Dopplermodi, die in der Praxis Anwendung finden. Auf die wichtigsten Modi (Color-, Power- und Pulse Wave-Doppler) soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

Beim Color-Doppler werden die empfangenen Dopplershifffrequenzen farbcodiert. Strömt der Blutfluss auf den Schallkopf zu, kommt es zu einer Erhöhung der Dopplershifffrequenz; der perfundierte Bereich wird rot dargestellt. Fließt der Blutstrom vom Schallkopf weg, sinkt die Dopplershifffrequenz und die perfundierte Region wird blau abgebildet. Je heller die Pixel in rot oder blau angezeigt werden, desto höher ist die Blutflussgeschwindigkeit. Durch die Verwendung vieler

Literaturübersicht

Echofenster werden Blutflussgeschwindigkeiten im Messbereich flächenhaft dargestellt (STEINER und SCHNEIDER 2008). Die Visualisierung der Blutflussgeschwindigkeit ist dabei vom Winkel zwischen Schallwelle und Gefäßlängsachse (Insonationswinkel; siehe Kapitel 2.3.3 & Tabelle 1; YORK und KIM 1999) abhängig.

Für den Power-Doppler existieren mehrere Synonyme, wie z.B. Color-Angio-Mode, Ultraschall Angiographie oder Color Doppler Energy (SOHN et al. 1996; KNEITZ 2010; SCHÄBERLE 2010; RISSE 2011; BIERMANN 2013). Im Unterschied zum Color-Doppler wird die Farbe der perfundierten Fläche amplituden- und nicht frequenzabhängig farbcodiert (STEINER und SCHNEIDER 2008; SCHÄBERLE 2010). Das heißt, dass die perfundierte Fläche in Abhängigkeit von der Anzahl der Erythrozyten, die im Blutgefäß in einer bestimmten Zeit strömen (Blutflussintensität bzw. -amplitude), in gelb-orange dargestellt wird (HERZOG und BOLLWEIN 2007; SCHÄBERLE 2010). Je höher die Dichte der reflektierenden Erythrozyten ist, umso heller ist die farbliche Darstellung (SCHÄBERLE 2010). Die Amplitude ist dabei unabhängig von der Strömungsrichtung und vom Insonationswinkel (STEINER und SCHNEIDER 2008) (Tabelle 0).

Beim Pulse Wave-Doppler, auch als Spectral Mode oder Triplex Mode bezeichnet, wird eine Messstrecke (sample gate, Dopplerfenster) auf das zu untersuchende Blutgefäß gelegt. Es entspricht in seiner Größe dem Gefäßdurchmesser (GINTHER und UTT 2004; SCHÄBERLE 2010). Die aus diesem Bereich empfangenen Dopplerschiffrequenzen werden, wie beim Color-Doppler, farbcodiert als rote und blaue perfundierte Bereiche wiedergegeben (SCHÄBERLE 2010). Die Darstellbarkeit der Perfusion ist ebenso, wie beim Color-Doppler, abhängig vom Insonationswinkel (YORK und KIM 1999; GINTHER und UTT 2004). Beim Pulse Wave-Doppler können zusätzlich zu den auch durch Color-Doppler zu gewinnenden Parametern Dopplerschiffrequenzen nach Fourier Transformation graphisch im Dopplerfrequenzspektrum dargestellt werden (GINTHER und UTT 2004; SCHÄBERLE 2010). Fließt das Blut auf den Schallkopf zu, wird das Signal oberhalb der Nulllinie dargestellt. Fließt das Blut vom Schallkopf weg, wird das Signal unterhalb der Nulllinie abgebildet (GINTHER und UTT 2004). Die x-Achse entspricht dabei der Zeit und die y-Achse der Blutflussgeschwindigkeit (GINTHER und UTT

Literaturübersicht

2004; SCHÄBERLE 2010). Der Rückschluss von den Dopplerschiffrequenzen auf die Blutflussgeschwindigkeit ist dabei aufgrund der direkten Proportionalität beider Parameter möglich (GINTHER und UTT 2004). Aus dem Verhältnis der Blutflussgeschwindigkeiten in Systole und Diastole lassen sich zusätzliche Parameter, wie der Resistenz- und Pulsatilitätsindex berechnen (siehe Kapitel 2.3.5.2 & Tabelle 1; GINTHER und UTT 2004).

Tabelle 0: Vergleich der Charakteristika von Color-, Power- und Pulse Wave- Doppler

| | Color-Doppler | Power-Doppler | Pulse Wave-Doppler |
|---|--|---|--|
| messbare Parameter | Blutflussgeschwindigkeit, perfundierte Fläche, Blutflussrichtung | perfundierte Fläche, Blutflussintensität | Blutflussgeschwindigkeit, perfundierte Fläche, Blutflussrichtung, Resistenzindex, Pulsatilitätsindex |
| Codierung | farbcodiert (rot/blau) | amplitudencodiert (gelb/orange) | farbcodiert (rot/blau), graphisch |
| Darstellung der Blutflussgeschwindigkeit bzw. -intensität | Blutflussgeschwindigkeit über Farbhelligkeit definiert | Blutflussintensität über Farbhelligkeit definiert | Blutflussgeschwindigkeit über Farbhelligkeit und graphischen Verlauf definiert |
| Einfluss des Insonationswinkels | ja | nein | ja |

2.3.3 Insonationswinkel

Für die Berechnung der Blutflussgeschwindigkeit aus der Dopplerschiffrequenz muss der Winkel zwischen Schallwelle und Gefäßlängsachse (Insonationswinkel) bestimmt

werden. Damit dies möglich ist, muss das Gefäß über eine ausreichend lange Strecke longitudinal dargestellt werden (SCHÄBERLE 2010). Die Winkelbestimmung erfolgt bei manchen Geräten automatisch durch das Ultraschallgerät, nachdem eine Linie in Richtung der Gefäßlängsachse eingezeichnet wurde (SOHN et al. 1993; GINTHER und UTT 2004). Je kleiner der Insonationswinkel ist, umso sensitiver ist der Strömungsnachweis (SCHÄBERLE 2010) und umso größer die Dopplershiftfrequenz. Ein kleiner Insonationswinkel ist demzufolge anzustreben. Ein weiterer Vorteil eines kleinen Insonationswinkels besteht in einem geringeren Messfehler (SCHÄBERLE 2010). Anhand der genauen Winkelbestimmung kann die Größe des Messfehlers eingeschätzt werden (SOHN et al. 1993). Damit die aus dem Insonationswinkel berechnete Blutflussgeschwindigkeit möglichst nah an der realen Geschwindigkeit liegt, sollte der Insonationswinkel bei $\leq 60^\circ$ liegen (STEINER und SCHNEIDER 2008).

2.3.4 Artefakte

In der Dopplersonographie erzeugen nicht nur Erythrozytenbewegungen in den Blutgefäßen eine Frequenzverschiebung, sondern auch Organ- oder Tierbewegungen. Dadurch entstehen großflächige Farbsignale, die die Farbsignale der Gefäße überlagern. Diese stellen Bewegungsartefakte dar (GINTHER und UTT 2004). Organbewegungen treten beispielsweise durch den Darm im Rahmen der Verdauung auf: Sie sind durch Auswahl einer anderen Untersuchungsregion oder durch abdominale Massage zu umgehen (ALVAREZ-CLAU und LISTE 2005). Tierbewegungen können durch Atmung, Vokalisation, Futteraufnahme oder Lokomotion hervorgerufen werden. Sie lassen sich durch Immobilisation des Tieres, z.B. durch Untersuchung in einem Stand, wie bei Sauen und Stuten bereits durchgeführt, oder durch Sedation, wie bei Hündinnen bereits erprobt, reduzieren (ALVAREZ-CLAU und LISTE 2005; WILIAMS et al. 2008; BIERMANN 2013).

Eine weitere Ursache für Artefakte in der Dopplersonographie ist das Aliasing. Hierbei werden höchste Dopplershiftfrequenzen bezüglich Blutflussrichtung und Blutflussgeschwindigkeit aufgrund der Überschreitung der Nyquistgrenze nicht mehr richtig dargestellt. Die Nyquistgrenze markiert dabei die höchste korrekt mess- und darstellbare Dopplershiftfrequenz. Sie entspricht dabei der Hälfte der

Pulsrepetitionsfrequenz (PRF) (STEINER und SCHNEIDER 2008). Ist die tatsächliche Dopplershiftfrequenz (z.B. bei schnellen Blutflüssen) höher, kommt es zu einer zunehmenden Aufhellung, z.B. von Rot nach Gelb, und einem anschließenden Umschlag in die Gegenfarbe, welche in diesem Fall Blau wäre. Dieses Phänomen ist von einer wirklichen Strömungsumkehr abzugrenzen (SCHÄBERLE 2010). Um das Auftreten von Aliasing zu vermeiden, kann u.a. die PRF erhöht oder der Insonationswinkel vergrößert werden (STEINER und SCHNEIDER 2008). Die PRF ist die Frequenz, mit der Ultraschallimpulse ausgesendet werden. Bei einer Erhöhung der PRF steigt automatisch die maximal messbare Blutflussgeschwindigkeit, jedoch sinkt die Fähigkeit zur Detektion niedriger Blutflussgeschwindigkeiten (YORK und KIM 1999; GINTHER und UTT 2004).

2.3.5 Auswertung von Doppleruntersuchungen

Doppleruntersuchungen erlauben nach qualitativer, quantitativer, semiquantitativer oder pixelanalytischer Auswertung Rückschlüsse auf die Perfusion. Auf die einzelnen Auswertungsformen soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

2.3.5.1 Qualitative Analyse

Die qualitative Analyse ist für Messungen geeignet, die mittels Pulse Wave-Doppler erhoben wurden. Die im Dopplerfrequenzspektrum erzeugten Wellenformen werden deskriptiv beurteilt und klassifiziert. Anhand des Vorhandenseins und der Kontinuität des diastolischen Blutflusses werden die Wellenformtypen 0, A, B und C unterschieden (Beurteilungsschema nach GOSWAMY und STEPTOE 1988). DICKEY (1994) und TEKAY (1996) modifizierten dieses Beurteilungsschema. Sie benannten die vorhandenen Wellenformtypen um und führten zwei weitere ein, um diskontinuierlichen Blutfluss offensichtlicher darzustellen (DICKEY et al. 1994; TEKAY et al. 1996). Die Vorteile der qualitativen Analyse liegen in der schnellen, einfachen sowie winkelunabhängigen Einschätzung des Blutflusses, die völlig ohne mathematische Berechnungen auskommt (GOSWAMY und STEPTOE 1988; STEINER und SCHNEIDER 2008). Die qualitative Analyse ist für die Beurteilung der Perfusion bei diskontinuierlichem Blutfluss in der Diastole am besten geeignet (DICKEY 1997).

2.3.5.2 Semiquantitative Analyse

Für die semiquantitative Beurteilung werden vorrangig Pulse Wave- aber auch Color-Doppleruntersuchungen verwendet. Der Widerstand im distalen Gefäßbett kann anhand verschiedener Resistenzindices objektiv bewertet werden (SOHN et al. 1993; WEIN 2003). Die Resistenzindices ergeben sich aus dem Verhältnis von Blutflussgeschwindigkeiten, die beim Pulse Wave-Doppler aus dem Dopplerfrequenzspektrum entnommen (GINTHER und UTT 2004) oder beim Color-Doppler mittels speziellen pixelanalytischen Programmen wie z.B. PixelFlux® erhoben werden (THOIRS 2012). Somit ist die semiquantitative Analyse unabhängig vom Insonationswinkel und kann auch für Blutflussanalysen in kleinen und gewundenen Gefäßen, in denen keine genaue Winkelbestimmung möglich ist, angewendet werden (DICKY 1997; GINTHER und UTT 2004). Da der Messfehler dennoch mit größer werdendem Winkel steigt, sollte auch hier auf einen spitzen Insonationswinkel geachtet werden (SOHN et al. 1993). Der graphische Verlauf der Blutflussgeschwindigkeit (Wellenformtyp) wird bei diesem Verfahren nicht beachtet (SOHN et al. 1993).

Bei der semiquantitativen Analyse werden vorrangig zwei Resistenzindices erhoben. Der Resistenzindex (RI) wird aus dem Quotienten der Differenz zwischen maximaler systolischer Blutflussgeschwindigkeit (S) und enddiastolischer Geschwindigkeit (D) sowie der maximalen systolischen Blutflussgeschwindigkeit berechnet (siehe Formel 2; DICKY 1997). Der RI kann Werte zwischen null und eins annehmen (STEINER und SCHNEIDER 2008). Er ist ein direktes Maß für den peripheren Gefäßwiderstand. Je höher der Gefäßwiderstand ist, desto kleiner ist die enddiastolische Geschwindigkeit und umso größer ist RI (STEINER und SCHNEIDER 2008). RI ist besonders für Gefäße mit niedrigem Widerstand und kontinuierlichem Blutfluss geeignet (DICKY 1997).

Der zweite Index, der Pulsatilitätsindex (PI), berechnet sich aus dem Quotienten der Differenz zwischen maximaler systolischer Blutflussgeschwindigkeit und enddiastolischer Geschwindigkeit, und der über einen Herzzyklus gemittelten maximalen Geschwindigkeit (TAMV) (Formel 3). PI kann Werte zwischen null und unendlich annehmen und wird bei niedrigen oder ausbleibenden diastolischen Blutflüssen bzw. spätsystolischen Inzisuren angewandt (STEINER und SCHNEIDER 2008).

Formel 2: $RI = \frac{S-D}{S}$

Formel 3: $PI = \frac{S-D}{TAMV}$

RI: Resistenzindex

PI: Pulsatilitätsindex

S: maximale systolische Blutflussgeschwindigkeit

D: enddiastolische Geschwindigkeit

TAMV: die über einen Herzzyklus gemittelte maximale Geschwindigkeit

Formeln modifiziert aus DICKEY 1997

2.3.5.3 Quantitative Analyse

Mittels quantitativer Analyse können Blutflussuntersuchungen aus Color- oder Pulse Wave-Dopplermessungen ausgewertet werden (BOLLWEIN et al. 2008; ARAUJO und GINTHER 2009). Der Blutfluss wird nicht, wie bei der qualitativen Analyse, anhand seines Verlaufes klassifiziert, sondern exakt in Form von Blutflussgeschwindigkeiten in Systole und Diastole, der über einen Herzzyklus gemittelte maximale Blutflussgeschwindigkeit oder des Blutflussvolumens angegeben (DICKEY 1997). Die Richtigkeit der erhobenen Werte ist vom Insonationswinkel abhängig (DICKEY 1997).

Für die Blutflussgeschwindigkeiten in Systole und Diastole gibt es viele Synonyme. Die maximale Geschwindigkeit in der Systole wird als S (siehe Formel 2 und 3) oder alternativ als MPSV und PSV in der Literatur abgekürzt. Die minimale Geschwindigkeit in der Diastole wird als D (siehe Formel 2 und 3) oder MDV angegeben (DICKEY 1997). Anhand beider Geschwindigkeiten kann allerdings keine Aussage über die Blutflussgeschwindigkeit im gesamten Herzzyklus getroffen werden. Hierfür ist die über die Zeit gemittelte Maximalgeschwindigkeit (TAMV, TAMX bzw. TAMP) besser geeignet. Die TAMV ergibt sich aus dem Durchschnitt der Maximalgeschwindigkeit von mindestens drei Herzzyklen (DICKEY 1997). Dieser Parameter ist besonders gut für kleine Gefäße geeignet, bei denen der Gefäßdurchmesser nicht genau gemessen werden kann (DICKEY 1997).

Der Gefäßdurchmesser ist für die Bestimmung des Blutflussvolumens (Vol) essentiell. Das Blutflussvolumen wird aus dem Produkt der Gefäßquerschnittsfläche (A) und der über den Herzzyklus gemittelten Blutflussgeschwindigkeit ($v_{\text{mean mitt}}$) berechnet (Formel 4). Letztere ist von der TAMV zu unterscheiden (DICKY 1997). Die Gefäßquerschnittsfläche ergibt sich aus dem Produkt des Quadrates des halbierten Gefäßdurchmessers (d_m) und π (STEINER und SCHNEIDER 2008) (Formel 5). Für die Erzielung exakter Ergebnisse sollte der Insonationswinkel sorgfältig an mindestens 2 mm starken, nicht gewundenen Gefäßen bestimmt und die Geschwindigkeit an mehreren Herzzyklen gemessen werden. Weiterhin sollte der Gefäßdurchmesser an mehreren Stellen am angehaltenen B-Mode-Bild bestimmt und die Ergebnisse gemittelt werden (DICKY 1997). Die Bestimmung des Blutflussvolumens ist aus diesen Gründen am schwierigsten durchzuführen. Die quantitative Analyse ermöglicht beim Vergleich der bisher genannten Analyseformen die genaueste Beschreibung der Perfusion in einem Gefäß (DICKY 1997). Daraus kann dann auf die Perfusion im Gewebe geschlossen werden.

Formel 4: $\text{Vol} = v_{\text{mean mitt}} \cdot A$

Formel 5: $A = (d_m/2)^2 \cdot \pi$

Vol: Blutflussvolumen

$v_{\text{mean mitt}}$: über einen Herzzyklus gemittelte mittlere Blutflussgeschwindigkeit

A: Gefäßquerschnittsfläche

d_m : mittlerer Gefäßdurchmesser

Formel modifiziert aus STEINER und SCHNEIDER (2008)

2.3.5.4 Pixelanalytische Methode

Die pixelanalytische Methode ist für die Auswertung von Blutflussuntersuchungen geeignet, die mittels Color-, Power- und auch Pulse Wave-Doppler, durchgeführt wurden. Diese Methode ermöglicht eine direkte Perfusionsanalyse des Gewebes (z.B. des Uterus) und nicht, wie bei der qualitativen, semiquantitativen und quantitativen Analyse, einen indirekten Rückschluss von der Perfusion im einzelnen Gefäß (z.B. A. uterina) auf die Gewebepfusion (AMSO et al. 2001; ACOSTA et al.

2004). Für die Analyse wird der zu untersuchende Gewebeausschnitt (Region of Interest; ROI) manuell umfahren oder mit einer geometrischen Form (z.B. Parallelogramm) definiert. Innerhalb der ROI wird die Perfusion dann von einem Computerprogramm objektiv ausgewertet (AMSO et al. 2001). Die pixelanalytische Untersuchung von Gewebeausschnitten liefert im Vergleich zur Analyse von einzelnen Gefäßen ein realistischeres Bild der Perfusionssituation von Geweben bzw. Organen und ermöglicht somit Rückschlüsse auf deren Funktionalität (RISSE 2011; DZIECOL et al. 2014). Allerdings können die durch pixelanalytische Auswertung bestimmten Blutflussparameter nicht unmittelbar während der Doppleruntersuchung gewonnen werden, so dass ein nachträgliches Bearbeiten der Rohdaten mittels externer Computerprogramme notwendig ist (DZIECOL et al. 2014).

2.3.5.4.1 Vergleich pixelanalytischer Programme

In der Human- und Veterinärmedizin wurden bisher zahlreiche pixelanalytische Programme angewendet. Speziell für den Uterus wurden die Programme NIH Image 1.55, ANALYSIS PRO 1.1., Color Quantifier (Kinetic Imaging, Liverpool, UK) und Virtual Organ Computer-aided AnaLysis (VOCAL™)- imaging program (version 4.0) zur Perfusionsquantifizierung eingesetzt (AMSO et al. 2001; EPSTEIN et al. 2002; RAINE-FENNING et al. 2004; WÜNSCHMANN 2007). Wie oben erwähnt, können durch Programme mit pixelanalytischer Auswertung mehr Parameter als mit qualitativen, semiquantitativen und quantitativen Methoden analysiert werden. Zu solchen Parametern zählen die durchblutete Fläche, die Fläche der Untersuchungsregion, das Verhältnis der durchbluteten zur untersuchten Fläche (Vaskularisationsindex) sowie Signalintensitäten bzw. Farbenergien (AMSO et al. 2001; EPSTEIN et al. 2002; RAINE-FENNING et al. 2004; WÜNSCHMANN 2007). Ein weiteres Programm zur organunabhängigen Auswertung der Perfusion wurde von der Firma Chameleon Software GmbH (Münster) entwickelt und ist unter dem Namen PixelFlux® auf dem Markt. Obwohl diese Analysesoftware schon mehrfach für Perfusionsuntersuchungen an Darm, Niere oder Ovar genutzt wurde (SCHOLBACH et al. 2004a; SCHOLBACH et al. 2004b; SCHOLBACH et al. 2005b, KNEITZ 2010), gibt es nur wenige Studien, bei denen es zur Untersuchung des Uterus Verwendung fand (RISSE 2011, ARNEBERG et al. 2018). Mit diesem

Programme sind zahlreiche Blutflussparameter zu bestimmen, die in dieser Vielzahl bei keinem vergleichbaren Programm zu finden sind (SCHOLBACH et al. 2004b). Einerseits können, wie auch bei anderen pixelanalytischen Programmen, die durchblutete Fläche und die Fläche der Untersuchungsregion bestimmt werden. Andererseits können auch Parameter wie Blutflussgeschwindigkeit, RI, PI oder Vol erfasst werden, die ansonsten den quantitativen und semiquantitativen Methoden vorbehalten sind. Die Perfusionsmessungen sind jedoch aufgrund der Berücksichtigung der Blutflussrichtung detaillierter möglich. Anders als bei den letztgenannten Methoden ermöglicht PixelFlux® sogar die Messung der Blutflussgeschwindigkeit getrennt nach Blutflussrichtung oder gemittelt über einen oder mehrere Herzzyklen (THOIRS 2012). Ein weiterer Vorteil des Programms besteht darin, dass Perfusionsstudien an Geweben mit regelmäßigen als auch chaotischen Gefäßstrukturen ohne genaue Kenntnis des Gefäßdurchmessers oder Insonationswinkels durchzuführen sind (THOIRS 2012). Ferner ermöglicht PixelFlux® eine dynamische Messung der Gewebepfusion, da neben Einzelbildern auch Videos analysiert werden können (SCHOLBACH et al. 2005a; RISSE 2011). Letztlich können, anders als mit anderen pixelanalytischen Programmen, die zu analysierenden Gewebeausschnitte in ihrer Größe definiert und beliebig bezüglich ihrer geometrischen Struktur umschrieben werden. Dadurch ist eine Standardisierung möglich und eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleistet (DZIECOL et al. 2014).

2.3.6 Dopplersonographie am ingraviden Uterus in der Humanmedizin

GOSWAMY und STEPTOE (1988) waren die Ersten, die den Pulse Wave-Doppler bei einer Frau zur Untersuchung des uterinen Blutflusses während des Sexualzyklus anwendeten. Dabei wurden die Wellenform sowie verschiedene Resistenzindices erfasst, um Zusammenhänge zu zeitgleich erstellten Hormonprofilen (Östrogene, Progesteron und LH) zu definieren (GOSWAMY und STEPTOE 1988).

In nachfolgenden Studien wurde untersucht, ob verschiedenste Faktoren wie Alter, Tageszeit, Füllungsstand der Harnblase und die Untersuchungsposition der Probandin (stehend *versus* liegend) Einfluss auf die Perfusionsverhältnisse des Uterus hatten (BATTAGLIA et al. 1994; DICKEY et al. 1994; ZAIDI et al. 1995b; HSIEH et al. 2000). Andere dopplersonographischen Untersuchungen wurden im

Rahmen der Gynäkopathologie durchgeführt, z.B. zur Bestimmung der Blutflussverhältnisse in anovulatorischen Zyklen, bei Endometriose oder Fehlgeburten oder bei Subfertilität (TAYLOR et al. 1985; KURJAK et al. 1991; STEER et al. 1994; RAINE-FENNING et al. 2004; RAZIK et al. 2015). So konnte z.B. demonstriert werden, dass die endometriale Blutversorgung von Frauen mit Subfertilität geringer und die Resistenz uteriner Gefäße höher ist, als bei Frauen mit uneingeschränkter Empfängnisfähigkeit (RAINE-FENNING et al. 2004; RAZIK et al. 2015). Andere Indikationen zur Anwendung dopplersonographischer Untersuchungen des Uterus waren u.a. Untersuchungen zur Prognose des Implantationserfolgs nach Übertragung in vitro erzeugter Embryonen (FAVRE et al. 1993; COULAM et al. 1994; TEKAY et al. 1995; SCHWARTZ et al. 1997) und die Beurteilung der Malignität endometrialer Tumore (KURJAK et al. 2001; ALCÁZAR et al. 2003).

2.3.7 Dopplersonographie am ingraviden Uterus in der Veterinärmedizin

In der Veterinärmedizin wurde die Dopplersonographie am ingraviden Uterus erstmalig 1997 transrektal bei Stuten durchgeführt (BOLLWEIN et al. 1997). Später erfolgten Untersuchungen bei der Kuh, bei der sich die transrektale Untersuchungsmethode als ebenso geeignet zeigte (BAUMGARTNER 1998). Im Jahr 2005 folgten Untersuchungen bei Hündinnen, bei der sich die transabdominale Dopplersonographie als geeignet erwies (ALVAREZ-CLAU und LISTE 2005). Alle drei Spezies wiesen einen vom Sexualzyklus abhängigen Blutfluss auf, der sich proportional zu den Konzentrationen von Östrogenen und Progesteron verhielt (BOLLWEIN et al. 2000; KNEITZ 2010; FREEMAN et al. 2013). In Analogie zu humanmedizinischen Studien wurden darüber hinaus auch Faktoren mit etwaigem Einfluss auf die uterine Durchblutung untersucht (Alter, Parität, Sperma, Besamungsfrequenz und Uteruskontraktilität (BOLLWEIN et al. 2003; BOLLWEIN et al. 2008; RISSE 2011)). Interessant war dabei, dass bei Stuten die Blutflussgeschwindigkeit nach intrauteriner Applikation von Sperma oder Seminalplasma anstieg. Dieser Effekt war nach Applikation von Spermaverdünner nicht zu beobachten (BOLLWEIN et al. 2003). Ältere und mehrfach gebärende Stuten wie auch solche mit Uteropathien wiesen ein höheres Blutflussvolumen als die jeweils untersuchten Vergleichstiere auf (BOLLWEIN et al. 2008). Gerade

Literaturübersicht

Uteropathien, wie Endometritis, Endometrose, endometriale Angiopathien oder uterine Zysten, waren hinsichtlich Blutflussveränderungen auffällig (BLAICH et al. 1999; BOLLWEIN et al. 2005; FERREIRA et al. 2008). So wiesen Kühe nach induzierter Endometritis einen Anstieg der uterinen Blutflussgeschwindigkeit auf (BOLLWEIN et al. 2005). Stuten mit Endometrose oder Angiopathien hatten höhere Widerstandsindices der A. uterina. Es ist sehr wahrscheinlich, dass in Analogie zum Menschen auch Tiere inklusive solcher mit landwirtschaftlicher Nutzung bei einer Minderversorgung des Uterus mit Blut zu Fertilitätsproblemen neigen (BLAICH et al. 1999).

3 Publikation

Bei den in der folgenden Publikation dargestellten Versuchen war ich an der Planung, Durchführung und Auswertung beteiligt und verfasste die Publikation selbständig. Im Einzelnen hatte Herr Prof. Kauffold die Idee zu dieser Studie. Er, Herr Dr. Sigmarsson, Frau Stark und ich konzipierten die Versuche gemeinsam. Die Durchführung erfolgte in erster Linie durch Frau Stark und mich (Abbildung 1 und 2). Herr Dr. Sigmarsson, Frau Legler und Herr Dr. Hoops halfen uns dabei gelegentlich. Herr Dr. Sigmarsson unterstützte uns außerdem bei technischen Problemen. Die für die Auswertung wichtigen ovariellen Charakteristika der verschiedenen Zyklusphasen erarbeiteten Prof. Kauffold, Frau Stark und ich gemeinsam. Frau Hentschel stand mir bei der statistischen Auswertung beratend zur Seite. Den Vergleich der verschiedenen Dopplermethoden (Tabelle 1), sowie die Auswertung mit dem Perfusions- und Statistikprogramm wurde von mir durchgeführt (Abbildungen 3-8, Tabelle 2). Den Inhalt des Material- und Methodenteils der Publikation erarbeiteten Frau Stark und ich gemeinsam. Die Verfassung dieses Abschnittes erfolgte autonom von mir. Alle anderen Anteile der folgenden Publikation verfasste ich komplett selbständig. Prof. Kauffold lieferte wertvolle Hinweise bei der kritischen Durchsicht des Manuskripts.

Die bibliographischen Angaben der Publikation lauten:

Feasibility of transabdominal Doppler sonography for studying uterine blood flow characteristics in cycling gilts

Catherine Herlt; Rosa Stark; Haukur L. Sigmarsson; Johannes Kauffold

Tierärztl Prax Ausg G 2018; 46(03):154-163

DOI: 10.15653/TPG-180369

4 Diskussion

Fruchtbarkeitsstörungen zählen zu den häufigsten Abgangsursachen von Sauen (HEINONEN et al. 1998; FREITAG und WITTMANN 2008; KAUFFOLD und WEHREND 2014). Sie sind häufig multifaktorieller Genese. Alle Abschnitte des Genitaltrakts können betroffen sein. Nichtpuerperale Endometritiden sind eine der häufigsten Ursachen für Sub- und Infertilität der Sau (KAUFFOLD 2008). Subakute und akute Endometritiden sind entweder klinisch anhand deutlichen Ausflusses oder ultrasonographisch anhand flüssigkeitsgefüllter bzw. in ihrer Echogenität veränderter Uterusanschnitte erkennbar. Die chronische nichtpuerperale Endometritis als häufigste uterine Inflammation ist hingegen klinisch unspektakulär und weder standardgynäkologisch noch ultrasonographisch mit bisherigen (d.h. B-Mode) Verfahren zu diagnostizieren (KAUFFOLD und WEHREND 2014). Color-Doppler ultrasonographische Untersuchungen erlauben es, Blutflussverhältnisse von Geweben und Organen auch der des Genitaltrakts zu beurteilen. Sie können dabei helfen, pathologische vor allem subtile Veränderungen zu erkennen oder „sauberer“ zu diagnostizieren. Auch wenn im Vergleich zur Humanmedizin im Anwendungsspektrum nach wie vor „infantil“, findet die Dopplersonographie zunehmend in der Veterinärmedizin Anwendung. Ein Anwendungsgebiet ist die Gynäkologie inklusive Gynäkopathologie. So konnte bei Kühen und Stuten demonstriert werden, dass sich der Blutfluss des Uterus bei Vorliegen pathologischer Zustände verändert (BOLLWEIN et al. 2005; BOLLWEIN et al. 2008; FERREIRA et al. 2008). Vergleichbare Untersuchungen fehlen beim Schwein unter anderem auch deshalb, weil unbekannt ist, wie sich die „normale“ Durchblutung des Uterus verhält. Ziel dieser Forschungsvorhabens war deshalb, die Durchblutung des Uterus beim Schwein während des Sexualzyklus mittels transabdominaler Dopplersonographie zu charakterisieren. Als Zielspezies wurden geschlechtsreife Jungsauen gewählt. Um die Jungsauen sexuell „gleichzuschalten“ wurden diese zyklussynchronisiert und der darauffolgende spontane Zyklus zwischen Beginn Proöstrus und Ende Diöstrus für die Perfusionsmessungen genutzt.

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben, dass die transabdominale Dopplersonographie bei in einem Untersuchungsstand fixierten Jungsauen möglich ist. Da sich lediglich die Color-Dopplersonographie als geeignet zur Untersuchung der Perfusion des Uterus bei Jungsauen erwies, wurde nur diese Methode

verwendet, um Daten zum Blutfluss zu erhalten. Perfundierte uterine Areale konnten sowohl zwischen als auch innerhalb der Uterusschlingen nachgewiesen werden. Mit Hilfe der Software PixelFlux® wurde die Gewebepfusion innerhalb einer in ihrer Größe standardisierten Region of Interest (ROI) anhand der Pixelanzahl und Pixelhelligkeit in den Einzelbildern der Videos ausgewertet und daraufhin die Parameter perfundierte Fläche, Blutflussgeschwindigkeit und -intensität sowie Resistenz- und Pulsatilitätsindex bestimmt. Im Verlauf des Sexualzyklus zeigten alle fünf Blutflussparameter charakteristische Veränderungen. So war der Blutfluss im Proöstrus hoch, fiel im Östrus ab und blieb im Metöstrus und während der meisten Zeit des Diöstrus niedrig.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Forschungsarbeit übergreifend diskutiert.

4.1 Immobilisation der Jungsau

Während der dopplersonographischen Untersuchung können zahlreiche Bewegungen des Patienten (Lokomotion, Atmung, Vokalisation oder Futteraufnahme) auftreten und Bewegungsartefakte verursachen, welche die Perfusionssignale der Gefäße überlagern. Um Bewegungsartefakte zu minimieren, ist eine Immobilisation der Tiere notwendig, auf die nachfolgend eingegangen werden soll.

Anders als in der Humanmedizin verhalten sich Tiere „auf Bitten“ eher selten still (ROSENBAUM et al. 2013), so dass es zweckmäßig ist, sie durch Unterbringung in einem Stand „zwangszuimmobilisieren“. Dadurch werden sie in ihrer Bewegung zwar eingeschränkt, die Atmung und Bewegungen durch z.B. Lautäußerungen bleiben davon jedoch unbeeinflusst. Diese Form der Immobilisation wurde schon erfolgreich bei Stuten, Kühen und Sauen eingesetzt (WILIAMS et al. 2008; KRUEGER et al. 2009; KNEITZ 2010; RISSE 2011; BIERMANN 2013). Sie fand deshalb auch in dieser Studie Anwendung. Anders als eher gemütsausgeglichene Stuten und Kühe verhalten sich einige der derart immobilisierten Schweine gelegentlich jedoch paradox; solchen Schweinen wurde im Stand zusätzlich Futter angeboten, um sie abzulenken und ausreichend lange „physisch“ zu immobilisieren. Kaubewegungen waren hinnehmbar.

Natürlich können zu untersuchende Tiere auch anästhesiert und dadurch untersuchungstauglich immobilisiert werden, wie bereits bei Hündinnen, Kühen und Stuten gezeigt wurde (ALVAREZ-CLAU und LISTE 2005; ARAUJO und GINTHER 2009). Zwar werden dadurch Bewegung und Lautäußerung verhindert, die Atmung und das Herz-Kreislaufsystem, können jedoch gewissen anästhesie- bzw. medikamenten-bedingten Beeinträchtigungen unterliegen. So konnte KIEFER (2005) demonstrieren, dass sich die renalen Widerstandsindices und der Blutdruck beim Vergleich wacher und narkotisierter Hunde nach Gabe von I-Methadon und Medetomidin bzw. I-Methadon und Acepromazin unterschieden (KIEFER 2005). Andere Ergebnisse wurden von ARAUJO und GINTHER (2009) erhalten. Sie beobachteten keinen Effekt von Xylazin bzw. Detomidin auf die Perfusion der Reproduktionsorgane bei Färsen und Stuten (ARAUJO und GINTHER 2009). Um möglicherweise auftretende Anästhesieeffekte auf die Blutflussparameter des Uterus zu vermeiden, wurde auf diese Methode zur Immobilisation verzichtet und eine längere Untersuchungsdauer in Kauf genommen. Ein weiterer ebenso wichtiger Grund war, die transabdominale Ultrasonographie am nicht-anästhesierten Tier auf seine Praxistauglichkeit zu testen. Nachteilig war, dass der Pulse Wave-Doppler nicht durchgeführt werden konnte, da durch die Tierbewegungen keine konstante Platzierung des Messtores („gate“) auf den uterinen Gefäßen möglich war. Die Color und Power-Dopplersonographie waren hingegen mit dieser Immobilisationsmethode durchführbar. Dennoch fiel der Power-Doppler für die Zyklusstudie aus, da er eine höhere Empfindlichkeit für Artefakte aufwies, die zudem lange anhielten.

4.2 Insonationswinkel

Der Insonationswinkel (Winkel zwischen Schallwelle und Gefäßlängsachse) spielt für die genaue Berechnung der Blutflussgeschwindigkeit und Abschätzung des Messfehlers beim winkelabhängigen Color- und Pulse Wave-Doppler eine essentielle Rolle (SCHÄBERLE 2010). Je kleiner der Insonationswinkel ist, umso sensitiver ist der Strömungsnachweis und geringer ist der Messfehler (SCHÄBERLE 2010). Allgemein gilt, dass der Insonationswinkel $\leq 60^\circ$ sein sollte, damit die berechnete Blutflussgeschwindigkeit möglichst nah an der realen Geschwindigkeit liegt und der Messfehler akzeptabel klein ist (STEINER und SCHNEIDER 2008).

Obwohl an der A. uterina von Stuten eine exakte Winkelbestimmung durch Risse durchgeführt werden konnte (RISSE 2011), war dies bei der vorliegenden Untersuchung an Jungsaugen nicht möglich. Wesentliche Ursache dafür war, dass die zu untersuchenden Gefäße aufgrund ihres geschlängelten Verlaufes nur in einem Quer- oder kurzen Längsschnitt und damit nicht über die für eine Winkelbestimmung ausreichend lange Strecke dargestellt werden konnten (LANGE 1959; OXENREIDER et al. 1965; GINTHER und UTT 2004; STEINER und SCHNEIDER 2008). Hinzukommen mag, dass Gefäße des Endometriums zu klein waren, um den Insonationswinkel genau zu bestimmen (ZAIDI et al. 1995a). Ähnliches wird anderen Autorenkollektiven widerfahren sein, denen gleichfalls misslang, den Insonationswinkel genau zu bestimmen (A. uterina von Stuten und Hündinnen; Endometrium der Frauen; ovarielle Funktionskörper von Kühen; A. ovarica von Stuten (ZAIDI et al. 1995a; ACOSTA et al. 2003; WÜNSCHMANN 2007; RISSE 2011; BARBOSA et al. 2013)). In der vorliegenden Arbeit konnten Perfusionsverhältnisse des Uterus trotz fehlendem Insonationswinkels charakterisiert und verglichen werden, da das Perfusionsquantifizierungsprogramm PixelFlux® der Firma Chameleon Software GmbH zur Anwendung kam. PixelFlux® ist so konzipiert, dass Perfusionsverhältnisse auch in Geweben mit chaotischer Gefäßstruktur, wie der des Uterus des Schweines, und somit ungenauer oder fehlender Kenntnis des Insonationswinkels analysiert werden können, da es den Messfehler konstant hält (THOIRS 2012). PixelFlux® kam schon vormals mehrfach auch zur Beantwortung gynäkologischer Fragestellungen u.a. bei Frauen und Stuten am Ovar und Uterus erfolgreich zur Anwendung (KNEITZ 2010; RISSE 2011; BIERMANN 2013; ARNEBERG et al. 2018). Es ist für alle dopplersonographischen Analysen zu empfehlen, bei denen die Bestimmung des Insonationswinkels misslingt.

4.3 Uterusgefäße

Mittels Color-Doppler war es in dieser Studie möglich, Gefäße zwischen benachbarten und innerhalb von Uterusschlingen darzustellen und für Perfusionsanalysen zu nutzen. Bei Gefäßen zwischen Uterusschlingen handelte es sich sehr wahrscheinlich um solche des breiten Mutterbandes, während die innerhalb von Uterusschlingen myometriale und/oder endometriale Gefäße repräsentierten. Während die Darstellung der Gefäße des breiten Mutterbandes jederzeit gelang, war

Selbiges für die innerhalb der Uterusschlingen nur gelegentlich möglich. Dahingehend ähneln die Ergebnisse dieser Arbeit denen vorheriger Untersuchungen bei der Frau, in denen mittels Color- und Pulse Wave-Doppler zwar randständige myometriale Gefäße (LONG et al. 1989), nicht aber oder nur selten die des Endometriums darzustellen waren (LONG et al. 1989; ZAIDI et al. 1995a). Konträr dazu sind jüngere Ergebnisse, demzufolge Gefäße innerhalb des Uterus von Frau und Stute mittels Power-Doppler jederzeit abzubilden waren (YANG et al. 1999; AMSO et al. 2001; ALCÁZAR et al. 2003; WÜNSCHMANN 2007).

Wesentlichste Ursache für das Unvermögen zur kontinuierlichen Darstellbarkeit von Gefäßen innerhalb von Uterusschlingen wird der transabdominale „Zugang“ sein. Dabei musste die Sendefrequenz sehr niedrig eingestellt werden (3,5 MHz), um eine hohe Eindringtiefe zu gewährleisten. Diese war notwendig, da zum Teil viele Gewebsschichten von Ultraschallwellen zu durchdringen waren, bevor das „Objekt des Interesses“, d.h. uterine Gefäße, erreicht werden konnte. Dabei wurde viel Energie „verbraucht“, so dass davon bei Erreichen uteriner Gefäße nur unzureichend zur Verfügung stand, um langsame Blutfußgeschwindigkeiten zu erfassen (LONG et al. 1989). Anders in all den Studien, bei denen transvaginal (Frauen: YANG et al. 1999; AMSO et al. 2001; ALCÁZAR et al. 2003) oder transrektal untersucht wurde (Stuten: WÜNSCHMANN 2007). Dabei stand der Schallkopf in beinahe direktem Kontakt zum Uterus, so dass eine höhere Sendefrequenz (z.B. 5 MHz) aufgrund geringerer Eindringtiefe gewählt werden konnte (ALCÁZAR et al. 2003; WÜNSCHMANN 2007). Das Auflösungsvermögen war erhöht und Energieverluste geringer, so dass auch langsame Blutflüsse in endometrialem Gewebe detektiert werden konnten. Hinzuweisen ist ferner, dass es in dieser Arbeit nur mit dem Color-Doppler, wenn auch diskontinuierlich gelang, die Perfusion innerhalb von Uterusschlingen darzustellen. In bereits mehrfach erwähnten Studien bei Frau und Stute kam hingegen der Power-Doppler zur Anwendung (YANG et al. 1999; AMSO et al. 2001; ALCÁZAR et al. 2003; WÜNSCHMANN 2007). Der Power-Doppler, nicht aber Color-Doppler, ist für die Darstellung langsamer Blutflüsse besonders gut geeignet. Der Power-Doppler ist hoch empfindlich, arbeitet mit einer langsamen Bildaufbaurrate (erforderlich zur Detektion langsamer Blutflüsse), ist aber sehr anfällig für Bewegungsartefakte. Genau letztere traten häufig und zum Teil länger anhaltend bei den Probanden dieser Studie auf, so dass die Pulsrepetitionsfrequenz erhöht

werden musste. Allein dadurch wurde die Fähigkeit des Power-Dopplers, langsame Blutflüsse in dieser Arbeit zu detektieren, torpediert (SOHN et al. 1996; MURPHY und RUBIN 1997; SCHÄBERLE 2010). Nach LONG et al. (1989) sind es aber gerade langsame Blutflüsse (neben einer im Vergleich zum Myometrium geringen Gefäßdichte), welche die uterine Perfusion dominieren (FARRER-BROWN et al. 1970; LONG et al. 1989).

Leider misslang es in dieser Arbeit, Blutflüsse der A. uterina zu charakterisieren. Grund dafür war wiederum die Wahl des transabdominalen Zuganges, der verhinderte, dass die A. uterina klar zu identifizieren war. Bei Anwendung transrektalen Ultraschalls in Studien bei Stuten und Kühen war die A. uterina sicher darstellbar (BOLLWEIN et al. 1997; MAYER 1999; BOLLWEIN et al. 2000), wenn sie über A. iliaca externa bzw. interna nach Aufzweigung aus der Aorta nachverfolgt wurde (BOLLWEIN et al. 1997; BOLLWEIN et al. 2000). Gleiches trifft für Frauen zu, die transvaginal untersucht wurden (STEER et al. 1990). Zum Auffinden half hier die topographische Nähe von A. uterina und Zervix (STEER et al. 1990). Aufgrund dieser Resultate mag argumentiert werden, dass der transrektale Ultraschall auch in dieser Studie geeigneter gewesen wäre, um die uterine Perfusion bei Jungsauen so detailgetreu wie möglich zu charakterisieren. Dem ist zu entgegenen, dass diese Studie der Spagat zwischen genereller Machbarkeit dopplersonographischer Untersuchung des Uterus beim Schwein und Praktikabilität war. Praktikabel, das heißt praxistauglich, ist diese Methode nur dann, wenn sie transabdominal durchgeführt werden kann.

4.4 Analysen von Einzelbildern bzw. Videos

Bisher wurden perfusionsanalytische Untersuchungen sowohl in Human- als auch Veterinärmedizin überwiegend anhand von Einzelbildern mithilfe diverser pixelanalytischer Programme, wie NIH Image 1.55, Virtual Organ Computer-aided AnaLysis (VOCAL™)-imaging program version 4.0 oder Analysis Pro 1.1, analysiert (EPSTEIN et al. 2002; RAINE-FENNING et al. 2004; WÜNSCHMANN 2007). Auch wenn nicht generell in ihrer Validität zu hinterfragen haben derartige Einzelbilderanalysen einen Nachteil: der Herzzyklus (d.h. Systole versus Diastole), der Einfluss auf Perfusionseigenschaften nimmt, ist nicht bekannt, so dass die

Ergebnisse „Näherungscharakter“ haben (SCHOLBACH et al. 2004a). Deshalb wurde in dieser Arbeit entschieden, Videos mehrerer kompletter Herzzyklen mithilfe des Programms PixelFlux® zu analysieren, wie es schon vormals erfolgreich an Videos in einer Untersuchung zur Charakterisierung der ovariellen Perfusion bei der Stute zur Anwendung kam (RISSE 2011). Dabei werden rhythmische Blutflussveränderungen innerhalb des Herzzyklus berücksichtigt (RAGAVENDRA et al. 1997; SCHOLBACH et al. 2004a; THOIRS 2012; ROSENBAUM et al. 2013). PixelFlux® erkennt Herzzyklen automatisch und analysiert die Perfusion in jedem Einzelbild des entsprechenden Videos. Die ermittelten Werte pro Parameter werden dann über den analysierten Herzzyklus gemittelt (SCHOLBACH 2004a). Diese Ergebnisse sind dann realitätsnäher als bei der Analyse von Einzelbildern. Untersuchungen zur dynamischen Gewebperfusion wie in dieser Arbeit am Beispiel des Uterus des Schweins sollten idealerweise auf der Auswertung von Videos erfolgen. Das Analyseprogramm PixelFlux®, das sich schon für all die Studien ohne (genaue) Bestimmung des Insonationswinkel empfahl (siehe 4.2), ist auch dafür bestens geeignet.

Schlussfolgerungen/Ausblick

Die Ergebnisse der vorliegenden Forschungsarbeit zeigen, dass die nicht invasive, transabdominale Dopplersonographie am Uterus der immobilisierten Jungsau durchführbar ist. Der Color-Doppler eignete sich am besten. Der Power-Doppler war bedingt durchführbar, der Pulse Wave-Doppler nicht. Mittels Color-Dopplersonographie konnte demonstriert werden, dass sich der Blutfluss des Uterus beim Schwein charakteristisch während des Sexualzyklus verändert. Damit stehen erstmals Basiswerte zur uterinen Perfusion beim Schwein zur Verfügung, die zukünftig bei der Unterscheidung physiologischer von pathologischen Uteruszuständen Verwendung finden könnten. Zu letzteren zählen subtile wie chronische Endometritiden oder Ursachenforschung zu vor allem idiopathischen Aborten.

5 Zusammenfassung

Catherine Herlt, geb. Poser

Untersuchungen zur Perfusion des Uterus im Zyklus von Jungsauen mittels transabdominaler Dopplersonographie

Klinik für Klautiere der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Juli, 2019

32 Seiten, 1 Publikation, 9 Abbildungen, 2 Tabellen, 98 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: Dopplersonographie, uterine Perfusion, Jungsau, Zyklus

Einleitung: Reproduktionsstörungen sind die wichtigste Abgangsursache von Sauen. Nicht selten ist der Uterus erkrankt. Einige der Sauen mit Uteropathien sind klinisch auffällig, andere hingegen auch mittels konventioneller B-Mode-Ultrasonographie nicht zu erkennen. Bei solchen Sauen erscheint es sinnvoll, zusätzlich zum B-Mode dopplersonographisch zu untersuchen, um anhand der Uterusdurchblutung ergänzende diagnostische Informationen zu erhalten, wie es schon vormals bei Stuten und Kühen erfolgte. Zur Beurteilung pathologischer Perfusionsverhältnisse des Uterus beim Schwein bedarf es jedoch der Kenntnis des physiologischen Zustandes, die bisher fehlt.

Ziele der Untersuchungen: Ziel dieser Studie war es, die Durchblutung des Uterus von Jungsauen mittels transabdominaler Dopplersonographie während des Sexualzyklus zu charakterisieren. Dabei sollte auch getestet werden, ob sich diese Methode *intra vitam*, d.h. bei der lebenden Sau eignet.

Tiere, Material und Methoden: Insgesamt wurden 15 zyklussynchronisierte, gynäkologisch gesunde Jungsauen einbezogen und in dem darauffolgenden spontanen Sexualzyklus zwischen Proöstrus und Diöstrus in einem mobilen Kastenstand dopplersonographisch untersucht. Es fanden Color, Power und Pulse Wave Doppler Anwendung, um die uterine Perfusion anhand der Gefäßversorgung innerhalb und zwischen den Uterusschlingen zu charakterisieren. Durch Aufstallung der Jungsauen in einem mobilen eigens angefertigten Stand wurden Tierbewegungen soweit reduziert, dass Untersuchungen mit Color und Power, nicht aber Pulse Wave Doppler möglich waren. Zudem gelang es mittels Pulse Wave

Zusammenfassung

Doppler nicht, das Messtor (gate) aufgrund der geschlängelten Gefäßanatomie konstant auf uterinen Gefäßen zu platzieren. Im Vergleich zum Power Doppler überzeugte der Color Doppler durch geringere Empfindlichkeit für Bewegungsartefakte und höhere Bildaufbauzeiten. Er wurde deshalb zur Auswertung aufgezeichneter Einzelbilder und Videos genutzt. Dabei kam die Software PixelFlux® zur Anwendung, mit deren Hilfe eine in ihrer Größe standardisierte „Region of Interest“ (ROI) hinsichtlich Anzahl und Farbton der vorhandenen Pixel ausgewertet wurde, um Blutflussgeschwindigkeit, perfundierte Fläche, Blutflussintensität, sowie Resistenz- und Pulsatilitätsindex zu berechnen. Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte in SPSS. Da die Zyklusphasen der untersuchten Jungsaugen in ihrer Länge variierten, wurden diese normalisiert und an der Ovulation als Tag 2 ausgerichtet. Die danach für jeden Zyklustag vorhandenen Werte/Parameter wurden entsprechend der Zyklusphasen gemittelt und nach Bonferroni-Korrektur mit dem Friedman- und Wilcoxon-Test analysiert. Zusammenhänge zwischen den Parametern wurden mit der Korrelationsanalyse nach Spearman oder Pearson untersucht.

Ergebnisse: Uterine Durchblutung konnte jederzeit zwischen und gelegentlich auch innerhalb der Uterusschlingen dargestellt werden. Alle erhobenen Blutflussparameter zeigten im Verlauf des Zyklus einen charakteristischen Verlauf. Blutflussgeschwindigkeit, durchblutete Fläche und Blutflussintensität waren im Proöstrus hoch, sanken im Östrus, um im Met- und den meisten Teilen des Diöstrus niedrig zu bleiben und danach wieder anzusteigen. Alle drei Parameter korrelierten mittelstark bis stark positiv miteinander ($r: 0,63-0,95; p < 0,05$). Nahezu reziprok verhielten sich Resistenz- und Pulsatilitätsindex mit den vorherigen Parametern. Sie korrelierten mit der Blutflussgeschwindigkeit, der durchbluteten Fläche und der Blutflussintensität mittelstark bis stark negativ ($r: -0,52 - -0,88; p < 0,05$), miteinander jedoch mittelstark bis stark positiv ($r: 0,6-0,85; p < 0,05$).

Schlussfolgerungen: In dieser Arbeit konnte demonstriert werden, dass die Dopplersonographie zur Charakterisierung der Durchblutung des Uterus bei im Stand immobilisierten Jungsaugen prinzipiell möglich ist. Während Pulse Wave und Power Doppler nicht oder nur begrenzt anwendbar waren, konnten mittels Color Doppler charakteristische Blutflussveränderungen während des Sexualzyklus festgestellt werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit ermutigen zu weiterführenden Untersuchungen unter anderem im Rahmen der Abklärung von Ursachen uterin-bedingter Sub- bzw. Infertilität.

6 Summary

Catherine Herlt, geb. Poser

Investigation into transabdominal Doppler Sonography to study uterine perfusion during the estrous cycle in gilts

Clinic for Ruminants and Swine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in July, 2019

(32 pages, 1 publication, 9 figures, 2 tables, 98 references, 1 appendix)

Keywords: Doppler Sonography, uterine perfusion, gilts, estrous cycle

Introduction: Reproductive disorders are the most frequent cause for culling sows. Frequently, the uterus is diseased. Some of them are clinically apparent. Others cannot be detected even if conventional B-Mode ultrasonography is applied. In the latter case it seems meaningful to use Doppler sonography in addition to B-Mode ultrasonography to study uterine perfusion in order to obtain additional diagnostic information as has been previously done in mares and cows. To evaluate pathological conditions with respect to uterine perfusion in pigs it is, however, necessary to understand the physiological condition, which is yet not known.

Aims: The aim of this study was therefore to characterize the uterine perfusion of gilts by means of transabdominal Doppler sonography during the estrous cycle. It was also the aim to test if this method is feasible to be performed *intra vitam*, i.e. on the living sow.

Animals, materials and methods: A total of 15 synchronized, gynecologically healthy gilts were included and investigated in the subsequent spontaneous estrous cycle between proestrus and diestrus using Doppler sonography while being confined in a mobile crate. Color-, Power- and Pulse Wave-Doppler were applied to characterize uterine perfusion within and between uterine cross-sections. Due to confinement of the gilts in the purpose-designed mobile crate, animal movements were reduced as needed to successfully perform Color- and Power-, but not enough for Pulse Wave-Doppler. In addition, with Pulse Wave-Doppler, it was impossible to constantly place the sample gate onto uterine vessels which was due to the fact of the tortuous course of the vessels. In comparison to Power-Doppler, Color-Doppler convinced through a

Summary

lower susceptibility for flash artifacts and a higher frame rate. Hence, Color-Doppler was used for the evaluation of recorded single images as well as videos. For evaluation, the software PixelFlux® was employed to analyze the number and color hue of the colored pixels within a standardized region of interest (ROI) in order to calculate blood flow velocity, perfused area, blood flow intensity, resistance index and pulsatility index. Statistical analysis was done using SPSS. Since the stages of the estrous cycle of the gilts examined varied in length they were normalized with day of ovulation defined as day 2. The values that were then available per day were averaged/parameter respectively the stages of the estrous cycle and, after applying Bonferroni-correction analyzed using the Friedman and Wilcoxon test. In order to detect relationships between the parameters determined the Spearman and Pearson correlation was employed.

Results: Uterine perfusion was always detectable between uterine cross-sections and occasionally also within uterine tissue. All recorded blood flow parameters showed a characteristic pattern throughout the estrous cycle. Blood flow velocity, perfused area and blood flow intensity were high in proestrus, declined in estrus to remain low in metestrus and most parts of diestrus to increase again. All three parameters showed a medium to strong positive correlation ($r: 0.63-0.95$; $p < 0.05$). Almost inverse courses were observed for the resistance and pulsatility index, respectively. They displayed a medium or strong negative with blood flow velocity, perfused area and blood flow intensity ($r: -0.52 - -0.88$; $p < 0.05$), but between both, a medium to strong positive correlation was observed ($r: 0.6-0.85$; $p < 0.05$).

Conclusion: In conclusion, this study has proven that, Doppler Sonography is feasible in principle to characterize uterine perfusion in gilts that are immobilized in a crate. While Pulse Wave- and Power-Doppler were not or only limited feasible, Color-Doppler proved appropriate to determine characteristic perfusion patterns during the estrous cycle. The results of this study encourage for further investigations into e.g. reasons of uterus-related sub- and infertility.

7 Literaturverzeichnis

Acosta TJ, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA, Ginther OJ. Differential Blood Flow Changes Between the Future Dominant and Subordinate Follicles Precede Diameter Changes During Follicle Selection in Mares. *Biol Reprod.* 2004;71:502–7.

Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction.* 2003;125:759–67.

Alcázar JL, Castillo G, Mínguez JÁ, Galán MJ. Endometrial blood flow mapping using transvaginal power Doppler sonography in women with postmenopausal bleeding and thickened endometrium. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:583–8.

Alvarez-Clau A, Liste F. Ultrasonographic characterization of the uterine artery in the nonestrus bitch. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31(12):1583–7.

Amso NN, Watermeyer SR, Pugh N, O'Brien S, D'Angelo A. Quantification of power Doppler energy and its future potential. *Fertil Steril.* 2001;76(3):583–7.

Araujo RR, Ginther OJ. Vascular perfusion of reproductive organs in pony mares and heifers during sedation with detomidine or xylazine. *Am J Vet Res.* 2009;70(1):141–8.

Arneberg HC, Andersen TA, Lorås L, Torp H, Scholbach TM, Eggebø TM. Correlation Between Fetal Weight Gain and Birth Weight with Blood Flow in the Uterine Arteries Calculated with PixelFlux Technique. *Ultrasound Int Open.* 2018;4:E16-22.

Literaturverzeichnis

Barbosa CC, Souza MB, Scalercio SRRA, Silva TFP, Domingues SFS, Silva LDM. Ovarian and uterine periovulatory Doppler ultrasonography in bitches. *Pesqu Vet Bras.* 2013;33(9):1144–50.

Baumgartner UM. Farbdopplersonographische Untersuchung der Arteria uterina und des Corpus luteum beim Rind [Dissertation med. vet.]. München: LMU München; 1998.

Bhargava SK. Textbook of Color Doppler imaging. 2. Aufl. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2010.

Biermann JT. Dopplersonografische Untersuchungen zur Durchblutung des Corpus luteum, der Arteria ovarica und der Arteria uterina der Stute unter Einfluss einer postovulatorischen hCG-Behandlung [Dissertation med. vet.]. Hannover: TiHo Hannover; 2013.

Blaich U, Petzold S, Bartmann CP, Lorber K, Schoon H-A, Raila G, Bollwein H. Doppler sonographic studies of the uterine blood flow in mares. *Pferdeheilk.* 1999;15(6):547–50.

Bollwein H, Diaz L, Sieme H. Zusammenhänge zwischen Alter, Parität, endometrialer Fibrosierung, Frühgraviditätsrate und uteriner Durchblutung bei der Stute. *Tierärztl Prax.* 2008;36(G):204–8.

Bollwein H, Herzog K, Schmauder S, Baumgartner U, Rath D, Niemann H. Einsatz der Farbdopplersonographie in der Gynäkologie des Rindes. *Reproduktionsmedizin Magazin der Stiftung der TiHo Hannover, VMK Verlag für Marketing & Kommunikation GmbH & Co. KG.* 2005;39–41.

Literaturverzeichnis

Bollwein H, Maierl J, Mayer R, Stolla R. Transrectal Color Doppler Sonography of the A. uterina in cycling mares. *Theriogenology*. 1997;49:1483–8.

Bollwein H, Meyer HHD, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology*. 2000;53(8):1541–52.

Bollwein H, Sowade C, Stolla R. The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares. *Theriogenology*. 2003;60:607–16.

Bollwein H, Weber F, Kolberg B, Stolla R. Uterine and ovarian blood flow during the estrus cycle in mares. *Theriogenology*. 2002;65:2129–38.

Boye H. Vergleichende Untersuchungen über die arterielle Gefäßversorgung des Uterus von Wild- und Hausschweinen. *Z Tierzucht Zuchtungsbiol*. 1956;67(3):259–96.

Brüssow K-P, Kurth J, Vernunft A, Becker F, Tuchscherer A, Kanitz W. Laparoscopy Guided Doppler Ultrasound Measurement Of Fetal Blood Flow Indices During Early to Mid-Gestation in Pigs. *J Reprod Dev*. 2012;58(2):243–7.

Brüssow K-P, Schneider F, Kanitz W, Rátky J, Kauffold J, Wähner M. Studies on fixed-time ovulation induction in the pig. *Soc Reprod Fertil Suppl*. 2009;66:187–95.

Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, Britten S. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril*. 1994;62(5):1004–10.

Literaturverzeichnis

Dickey RP. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Hum Reprod Update*. 1997;3(5):467–503.

Dickey RP, Hower JF, Matulich EM, Brown GT. Effect of standing on non-pregnant uterine blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1994;4:480–7.

Dickson WM, Bosc MJ, Du Mesnil du Buisson F, Locatelli A. The Use of an Indicator Diffusion Procedure to Measure the Uterine Blood Flow in Sows During the Estrous Cycle and Pregnancy. *Biol Reprod*. 1969;1:295–301.

Doppler C. Über das farbige Licht der Doppelsterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. *Abh königl böhm Ges Wiss*. 1842;2:465–82.

Dzięcioł M, Scholbach T, Stańczyk E, Ostrowska J, Kinda W, Woźniak M, Atamaniuk W, Skrzypczak P, Niżański W, Wieczorek A, Scholbach J, Kiełbowicz Z. Dynamic tissue perfusion measurement in the reproductive organs of the female and male dogs. *B Vet I Pulawy*. 2014;58(1):149–55.

Epstein E, Skoog L, Isberg P-E, De Smet F, De Moor B, Olofsson P-A, Gudmundsson S, Valentin L. An algorithm including results of gray-scale and power Doppler ultrasound examination to predict endometrial malignancy in women with postmenopausal bleeding. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002;20:370–6.

Farrer-Brown G, Beilby JOW, Tarbit MH. The blood supply of the uterus. *J Obstet Gynaecol Br Commonw*. 1970;77:673–81.

Favre R, Bettahar K, Grange G, Ohl J, Arbogast E, Moreau L, Dellenbach P. Predictive value of transvaginal uterine Doppler assessment in an in vitro fertilization program. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1993;3:350–3.

Literaturverzeichnis

Ferreira JC, Gastal EL, Ginther OJ. Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts: effect of the size of the cystic area and age.

Reproduction. 2008;135:541–50.

Ford SP. Control of Uterine and Ovarian Blood Flow Throughout the Estrous Cycle and Pregnancy of Ewes, Sows and Cows. J Anim Sci. 1982;55:32–42.

Ford SP, Chenault JR, Echternkamp SE. Uterine blood flow of cows during the oestrous cycle and early pregnancy: effect of the conceptus on the uterine blood supply. J Reprod Fert. 1979;56:53–62.

Ford SP, Christenson RK. Blood Flow to Uteri of Sows during the Estrous Cycle and Early Pregnancy: Local Effect of the Conceptus on the Uterine Blood Supply.

Biol Reprod. 1979;21:617–24.

Ford SP, Reynolds LP, Magness RR. Blood flow to the uterine and ovarian vascular beds of gilts during the estrous cycle or early pregnancy.

Biol Reprod. 1982;27:878–85

Freeman SL, Russo M, England GCW. Uterine artery blood flow characteristics assessed during oestrus and the early luteal phase of pregnant and non-pregnant bitches. Vet J. 2013;197:205–10.

Freitag M, Wittmann M. Sauenabgänge genauer analysieren. SUS. 2008;6:32-5.

Ginther OJ, Utt MD. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. J Equine Vet Sci. 2004;24(12):516–26.

Goswamy RK, Steptoe PC. Doppler ultrasound studies of the uterine artery in spontaneous ovarian cycles. Hum Reprod. 1988;3(6):721–6.

Literaturverzeichnis

Heinonen M, Leppävuori A, Pyörälä S. Evaluation of reproductive failure of female pigs based on slaughterhouse material and herd record survey. *Anim Reprod Sci.* 1998;52(3):235-44.

Herzog K, Bollwein H. Application of Doppler Ultrasonography in Cattle Reproduction. *Reprod Dom Anim.* 2007;42(2):51–8.

Hsieh Y-Y, Chang FC-C, Tsai H-D. Doppler evaluation of the uterine and spiral arteries from different sampling sites and phases of the menstrual cycle during controlled ovarian hyperstimulation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2000;16:192–6.

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

Karlbom I, Einarsson S, Edqvist L-E. Attainment of puberty in female pigs: clinical appearance and patterns of progesterone, oestradiol-17 β and LH. *Anim Reprod Sci.* 1981/1982;4:301-12.

Kauffold. Nichtpuerperale Uterusentzündungen beim Schwein. *Tierärztl Prax.* 2008;36(G):189-99.

Kauffold J, Althouse GC. An update on the use of B-mode ultrasonography in female pig reproduction. *Theriogenology.* 2007;67:901-11.

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

Literaturverzeichnis

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

Kauffold J, Wehrend A. Fertilitätsstörungen beim weiblichen Schwein.

Tierärztl Prax. 2014;42(G):179-186.

Kiefer I. Sonographisch erfassbare Parameter der Nierendurchblutung beim Hund unter dem Einfluss ausgewählter Anästhesieprotokolle [Dissertation med. vet.]. Leipzig: VMF Leipzig; 2005.

Kneitz D. Spezielle ultrasonographische Untersuchungen zur uterinen, ovariellen und folliculären Durchblutung bei der Stute im periovulatorischen Zeitraum [Dissertation med. vet.]. Hannover: TiHo Hannover; 2010.

Knox RV. Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domest Anim Endocrinol.* 2005;29:385-97.

Knox RV, Althouse GC. Visualizing the reproductive tract of the female pig using real-time ultrasonography. *Swine Health Prod.* 1999;7(5):207–15.

Knox RV, Probst-Miller S. Evaluation of transrectal real-time ultrasound for use in identifying sources of reproductive failure in weaned sows.

Swine Health Prod. 2004;12(2):71–4.

Krueger L, Koerte J, Tsousis G, Herzog K, Flachowsky G, Bollwein H. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first 12 weeks after parturition in healthy dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2009;114:23-31.

Literaturverzeichnis

Kurjak A, Kupesic S, Sparac V, Bekavac I. Preoperative evaluation of pelvic tumors by Doppler and three-dimensional sonography. *J Ultrasound Med.* 2001;20: 829–40.

Kurjak A, Kupesic-Urec S, Schulman H, Zalud I. Transvaginal color flow Doppler in the assessment of ovarian and uterine blood flow in infertile women. *Fertil Steril.* 1991;56(5):870–3.

Lange H. Neue Untersuchungen zur Vaskularisation des Schweineuterus [Dissertation med. vet.]. Berlin: FU Berlin; 1959.

Long MG, Boulton JE, Hanson ME, Begent RHJ. Doppler time velocity waveform studies of the uterine artery and uterus. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989;96:588–93.

Magness RR, Christenson RK, Ford SP. Ovarian Blood Flow Throughout the Estrous Cycle and Early Pregnancy in Sows. *Biol Reprod* 1983;28:1090–6.

Martinez E, Vazquez JM, Roca J, Ruiz S. Use of real-time ultrasonic scanning for the detection of reproductive failure in pig herds. *Anim Reprod Sci.* 1992;29:53–9.

Mayer RC. Farbdopplersonographische Untersuchung der Arteria uterina und des Corpus luteum während des Zyklus und der Frühgravidität der Stute [Dissertation med. vet.]. München: LMU München; 1999.

Moriyoshi M, Sawamura T, Yasuda M, Nakao T, Kawata K. Using Ultrasound for Clinical Observation of the Porcine Ovary Through the Course of the Estrous Cycle and to Monitor Treatment of Ovarian Disease. *J Reprod Dev.* 1996;42(4):277-82.

Murphy KJ, Rubin JM. Power Doppler: It's a Good Thing. *Semin Ultrasound CT MR* 1997;18(1):13–21.

Literaturverzeichnis

Nakai A, Yokota A, Koshino T, Araki T. Assessment of endometrial perfusion with Doppler Ultrasound in spontaneous and stimulated menstrual cycles. *J Nippon Med Sch.* 2002;69(4):328–32.

Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Eingeweidearterien der A. iliaca interna. In: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.* 3. Aufl. Berlin: Parey;1996;185.

Oxenreider SL, McClure RC, Day BN. Arteries and veins of the internal genitalia of female swine. *J Reprod Fert.* 1965;9:19–27.

Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. *Hum Reprod.* 2004;19(11):2605–14.

Rathmacher RP. Relationship of blood flow and progesterin levels on uterine-ovarian function in pigs and rabbits. [Ph.D.]. Iowa: Iowa State University of Science and Technology; 1967.

Razik MA, Furag MAH, Sheta M. Uterine and ovarian arteries blood flow during the mid luteal phase in women with unexplained infertility. *J Middle East Fertil Soc.* 2015;20:209–12.

Risse J. Ultrasonografische Untersuchungen zur uterinen und ovariellen Hämodynamik sowie zur uterinen Kontraktionsaktivität bei der Stute unter besonderer Berücksichtigung der Besamungsfrequenz [Dissertation med. vet.]. Hannover: TiHo Hannover; 2011.

Rosenbaum C, Wach S, Kunath F, Wullich B, Scholbach T, Engehausen DG. Dynamic Tissue Perfusion Measurement: A New Tool for Characterizing Renal Perfusion in Renal Cell Carcinoma Patients. *Urol Int.* 2013;90:87–94.

Literaturverzeichnis

Schäberle W. Grundlagen. In: Ultraschall in der Gefäßdiagnostik. 3. Aufl. Heidelberg: Springer; 2010.

Schnurrbusch U, Bergfeld J, Brüssow K-P, Kaltofen U. Diagram for ovarian assessment in swine. *Mh VetMed*. 1981;36:811–5.

Schnurrbusch U, Hühn U. Sexualzyklus und Belegung. In: Fortpflanzungssteuerung beim weiblichen Schwein. Jena: Gustav Fischer; 1994.

Scholbach T, Dimos I, Scholbach J. A New Method of Color Doppler Perfusion Measurement via Dynamic Sonographic Signal Quantification in Renal Parenchyma. *Nephron Physiol*. 2004a;96:99–104.

Scholbach T, Girelli E, Scholbach J. Dynamic Tissue Perfusion Measurement: A Novel Tool in Follow-Up of Renal Transplants. *Transplantation*. 2005a;79:1711–6.

Scholbach T, Herrero I, Scholbach J. Dynamic Color Doppler Sonography of Intestinal Wall in Patients with Crohn Disease Compared with Healthy Subjects. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004b;39:524–8.

Scholbach T, Scholbach J, Krombach GA, Gagel B, Maneschi P, Di Martino E. New method of dynamic color doppler signal quantification in metastatic lymph nodes compared to direct polarographic measurements of tissue oxygenation. *Int J Cancer*. 2005b;114:957–62.

Soede NM, Hazeleger W, Kemp B. Follicle Size and the Process of Ovulation in Sows as Studied with Ultrasound. *Reprod Domest Anim*. 1998;33:239-44.

Soede NM, Langendijk P, Kemp B. Reproductive cycles in pigs. *Anim Reprod Sci*. 2011;124:251-8.

Literaturverzeichnis

Soede NM, Noordhuizen JPTM, Kemp B. The duration of ovulation in pigs, studied by transrectal ultrasonography, is not related to early embryonic diversity. *Theriogenolgy*. 1992;38:653-66.

Sohn C, Stolz W, Bastert G. *Dopplersonographie in der Gynäkologie und Geburtshilfe*. 1. Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 1993.

Sohn C, Weskott HP, Schießler M. Sensitivität neuer Farbsysteme: "Maximum Entropy Method" und Angio-Farbe. Vergleichende in-vitro-Flußmessungen. *Ultraschall Med*. 1996;17:138–42.

Steer CV, Campbell S, Pampiglione JS, Kingsland CR, Mason BA, Collins WPC. Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. *Hum Reprod*. 1990;5(4):391–5.

Steer CV, Tan SL, Mason BA, Campbell S. Midluteal-phase vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance in a subfertile population. *Fertil Steril*. 1994;61(1):53-8.

Steiner H, Schneider KTM. *Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie*. 2. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer; 2008.

Tan SL, Zaidi J, Campbell S, Doyle P, Collins W. Blood flow changes in the ovarian and uterine arteries during the normal menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;175:625–31.

Tekay A, Martikainen H, Jouppila P. Blood flow changes in uterine and ovarian vasculature, and predictive value of transvaginal pulsed colour Doppler sonography in an in-vivo-fertilization programme. *Hum Reprod*. 1995;10(3):688-93.

Literaturverzeichnis

Tekay A, Martikainen H, Jouppila P. Comparison of uterine blood flow characteristics between spontaneous and stimulated cycles before embryo transfer. *Hum Reprod.* 1996;11(2):364–8.

Thoirs K. *Sonography*. 3. Aufl. Rijeka:InTech; 2012. Chapter 17. Scholbach T. Dynamic tissue perfusion measurement - Basics and Applications: 293-324.

Wehrend A, Kauffold J. Endometritis bei der Zuchtsau. *Veterinär Spiegel.* 2008;03:159-160.

Wein S. Doppler-Sonographische Untersuchungen zur ovariellen Durchblutungsrate bei Stuten in Abhängigkeit vom Zyklus [Dissertation med. vet.]. Leipzig: VMF Leipzig; 2003.

Williams SI, Piñeyro P, Luzbel de la Sota R. Accuracy of pregnancy diagnosis in swine by ultrasonography. *Can Vet J.* 2008;49:269–73.

Wünschmann F. Dopplersonographische Untersuchungen zu den Perfusionsverhältnissen am Uterus von Stuten während des Zyklus [Dissertation med. vet.]. Leipzig: VMF Leipzig; 2007.

York G, Kim Y. Ultrasound Processing and Computing: Review and Future Directions. *Annu Rev Biomed Eng.* 1999;1:559–88.

Zaidi J, Campbell S, Pittrof R, Tan SL. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995a;6:191–8.

Literaturverzeichnis

Zaidi J, Jurkovic D, Campbell S, Pittrof R, McGregor A, Tan SL. Description of circadian rhythm in uterine artery blood flow during the peri-ovulatory period. Hum Reprod. 1995b;10(7):1642–6.

Anhang

Publikationen

Herlt C, Stark R, Sigmarsson H.L., Kauffold J. Feasibility of transabdominal Doppler sonography for studying uterine blood flow characteristics in cycling gilts. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 2018;46:154-163.

Stark R, Herlt C, Sigmarsson H.L., Kauffold J. Feasibility of transabdominal Doppler sonography for studying ovarian blood flow characteristics in cycling gilts. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere.2019;47:77-85.

Vorträge

Poser C, Stark R (2015): Untersuchung zur Perfusion von Ovar und Uterus von Jungsauen mittels Dopplersonographie. 4. Leipziger Doktorandenforum, 9.10.2015; Leipzig

Poser C (2016): Investigation into Color Doppler Sonography to study uterine blood flow during the estrous cycle in gilts. 49. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung und 41. Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, 10-12.02.2016, Leipzig

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Johannes Kauffold für die Überlassung des interessanten Themas, die Vermittlung umfangreicher Kenntnisse und der Liebe zur Sonographie, der zur Verfügung gestellten erstklassigen Technik, den Erkenntnissen über mich selbst sowie den konstruktiven Anregungen bei der gewissenhaften Korrektur des Manuskriptes.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. Haukur L. Sigmarsson für die sonographische Ausbildung, seine Hilfe bei der Versuchsdurchführung und die Unterstützung bei technischen Problemen.

Bei dem Team des Schweinestalls des Lehr- und Versuchsgutes Oberholz möchte ich mich ganz herzlich für die tägliche Versorgung der Versuchstiere und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Ich danke Frau Bettina Hentschel für Ihre geduldige Beratung bei der statistischen Auswertung der Arbeit.

Herrn Dr. Matthias Hoops und Frau Nadja Legler danke ich vielmals für ihre Hilfe bei der Versuchsdurchführung, die aufmunternden Worte, die lustigen Gespräche und die lehrreichen Ausflüge in den Kuhstall. Ich habe gute Freunde in euch gefunden.

Meinen Eltern danke ich für die Möglichkeit Veterinärmedizin zu studieren, sowie ihre stetige emotionale, mentale und finanzielle Unterstützung und Beratung.

Meinem Papa und Wenke Markgraf gilt ein großer Dank für die konstruktiven Ratschläge bei der kritischen Durchsicht dieser Arbeit.

Ein besonderer Dank gebührt meinem Ehemann, Martin Herlt, der mich in allen Etappen der Promotion geduldig und liebevoll unterstützt, mir den Rücken freigeht und mich zum Weitermachen angespornt hat.

Anhang

Ein überragendes Dankeschön geht an meine Kollegin, Rosa Stark. Sie hat mit mir gemeinsam tagtäglich die Versuche durchgeführt, mich bei 30°C im Schweinestall danach mit einem Eis aufgemuntert, sich über die Auswertung Gedanken gemacht, mich bei der Verfassung des Artikels mit ihren Englischkenntnissen unterstützt, mit mir alle Höhen und Tiefen geteilt und mir vor allem die Kraft gegeben, das Projekt Promotion durchzuziehen. Ich danke dir Rosa!