Aus dem Department für Kleintiere und Pferde
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Plattform für Besamung und Embryotransfer
(Leiterin: Ao.Univ.-Prof. Dr.med.vet Christine Aurich Dipl.ECAR)

B-mode Echostrukturanalyse der Plazenta von Hündinnen während der physiologischen Trächtigkeit

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Katharina Klaas

Wien, im November 2020

Betreuerin: Ao. Univ. Prof. Dr. med. vet. Sabine Schäfer-Somi

Gutachter: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Eberhard Ludewig

Danksagung

Ich danke meiner Betreuerin, Ao. Univ. Prof. Dr. med. vet. Sabine Schäfer-Somi für die Möglichkeit eine Diplomarbeit im Bereich der Gynäkologie zu schreiben und danke Ihr für die gute und nette Betreuung in dieser Zeit.

Ich danke meiner Familie dafür, dass sie immer für mich da sind und mich stets unterstützen, auch wenn es mal nicht ganz so rund läuft. Ich danke euch dafür, dass ich das alles machen durfte, ohne mir größere Sorgen machen zu müssen.

Meinen Freunden danke ich für die schönen gemeinsamen Abende, bei denen wir immer viel gelacht haben und für all die anderen schönen gemeinsamen Momente, die wir zusammen erleben durften. Ich danke euch, dass wir immer füreinander da sind, auch wenn wir nicht ständig voneinander hören oder nah beisammen sind.

Danke!

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG 1

EINLEITUNG 1

ZIEL 2

2. LITERATURÜBERSICHT 3

ENTSTEHUNG UND VERLAUF EINER TRÄCHTIGKEIT 3

AUFBAU DER PLAZENTA 4

METHODEN ZUR TRÄCHTIGKEITSÜBERWACHUNG 6

B-mode Ultraschall* *6

Doppler-Ultraschall* *9

Röntgenuntersuchung* *10

Kontrastmittelverfahren* *11

Elastografie* *12

Echostrukturanalyse* *13

3. MATERIAL UND METHODE 16

4. ERGEBNISSE 20

5. DISKUSSION 22

6. ZUSAMMENFASSUNG 27

7. SUMMARY 28

8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS 29

9. LITERATURVERZEICHNIS 30

10. ABBILDUNGS-/ TABELLENVERZEICHNIS 35

1. Einleitung und Fragestellung

Einleitung

Die Ultraschalluntersuchung ist in der Veterinärmedizin heute kaum mehr wegzudenken. Sie wird in vielen verschiedenen Bereichen zur Diagnostik eingesetzt. Dabei wird der Ultraschall sowohl in der Notfallmedizin als auch in der Internistik herangezogen. Aber auch für die Trächtigkeitsuntersuchung ist die Ultraschalluntersuchung ein wichtiges Hilfsmittel. In der Regel ist die Untersuchung ohne Narkose möglich, sodass die Ultraschalluntersuchung ein schonendes Verfahren für das Tier darstellt (Davidson und Baker 2009, Du Plessis 2013, Hecht 2012, Poulsen Nautrup und Tobias 2007, Sigrist 2017).

Neben der allgemein klinischen und gynäkologischen Untersuchung kann mittels Ultraschalluntersuchung eine Trächtigkeit nicht nur bestätigt oder ausgeschlossen werden, sondern bei positivem Befund auch die Vitalität der Welpen überprüft werden (Davidson und Baker 2009, Lopate 2018). Dabei kann die Ultraschalluntersuchung durch neuere Techniken ergänzt werden. Dazu zählen unter anderem das Dopplerverfahren, die Elastografie, die Echostrukturanalyse oder das Kontrastmittelverfahren.

In dieser Diplomarbeit geht es um das Verfahren der Echostrukturanalyse. Dabei werden digitalisierte B-mode Ultraschallbilder auf ihre Grauwerte, Homogenität, Kontrast und einige weitere Parameter hin analysiert. Dieses Verfahren wurde genutzt, um physiologische Parameter der Plazenta während der physiologischen Trächtigkeit zu generieren. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der postimplantatorischen Zeit (Tag 18 bis 25 der Trächtigkeit) und der Graviditätsmitte (Tag 26 bis 40 der Trächtigkeit).

Die Diplomarbeit beschäftigt sich zunächst mit der aktuellen Literatur zu den Themen Trächtigkeit, Aufbau der Plazenta und den verschiedenen Möglichkeiten für eine Trächtigkeitsüberwachung. Schließlich folgen die Ergebnisse und eine Diskussion.

Ziel

In der internationalen Literatur gibt es zu diesem Zeitpunkt keine Studien über die Echostrukturanalyse der Plazenta während einer physiologischen Trächtigkeit der Hündin. Ziel dieser Diplomarbeit ist es daher, mittels Echostrukturanalyse die physiologische Struktur der kaninen Plazenta in der Zeit der Postimplantation (Gestationstag 18-25) und der mittleren Gravidität (Gestationstag 26-40) zu untersuchen und zu beschreiben. Im Rahmen einer Pilotstudie sollen somit erste Daten erhoben werden. Später sollte es mit mehr Daten möglich sein, pathologische von physiologischen Trächtigkeiten möglichst früh abzugrenzen, wodurch eine schnelle und frühzeitige Behandlung möglich werden kann. Die Hypothese dieser Pilotstudie lautet, dass die Echostruktur-Analyse der Plazenta in der postimplantatorischen Zeit und in der Graviditätsmitte unterschiedliche Werte ergibt.

2. Literaturübersicht

Entstehung und Verlauf einer Trächtigkeit

Hündinnen haben einen monoöstrischen asaisonalen Zyklus. Dabei wird der Zyklus in Anöstrus, Proöstrus, Östrus und Metöstrus unterteilt. Im Östrus findet 48-60 h nach dem LH-Peak eine spontane Ovulation statt. Die Oozyste wandert den Eileiter hinab und wird dort 96-108 h nach dem LH-Peak befruchtet. Die Implantation beginnt am Tag 21 post LH-Peak. Die Trächtigkeit dauert 65 ± einen Tag nach dem LH-Peak (Concannon 2011).

Die frühe Trächtigkeit zeichnet sich durch die Kontaktaufnahme des Embryos mit dem maternalen Endometrium und der Implantation aus. Zu diesem Zeitpunkt, 10-14 Tage nach dem Deckakt, zeigt sich histologisch eine freischwimmende Blastozyste, die von der *Zona pellucida* umgeben ist. Die Blastozyste nähert sich dem Endometrium immer weiter an. Gleichzeitig bereitet sich letzteres auf die Invasion vor, indem die Uterindrüsen ein tubuläres Aussehen annehmen und reichlich Sekret produzieren. Zu diesem Zeitpunkt sind auch extraembryonale Strukturen wie Dottersack, Amnion und Allantois bereits vorhanden (Aralla et al. 2013). Die Implantation ist um den 17.-18. Tag der Trächtigkeit abgeschlossen (Kowalewski et al. 2020). Mit dem 18. Tag nach dem Deckakt ist das Plazentalabyrinth bestehend aus Plazenta fetalis und maternalis morphologisch vollständig entwickelt. Der C*ytotrophoblast* hat sich durch Zellteilung und –differenzierung zum *Syncytiotrophoblast* weiterentwickelt, der den C*ytotrophoblasten* umgibt. Im weiteren Verlauf der Trächtigkeit entwickeln sich alle bisher genannten Strukturen weiter, vor allem durch Proliferation. Aber auch die Versorgung mit Blutgefäßen wird weiter ausgebaut (Aralla et al. 2013). Die für Fleischfresser charakteristische Gürtelplazenta ist auch sonographisch deutlich erkennbar; in den Randbereichen kann das Randhämatom, das durch Extravasation von Blutflüssigkeit entsteht, gesehen werden. Der Fetus ist deutlich gewachsen und kann mitsamt seinen Fruchthüllen dargestellt werden. Wann welche Strukturen mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung darstellbar sind, wird im Kapitel „B-mode Ultraschall“ genauer erläutert.

Zwischen dem 25. und 30. Tag sind Verzweigungen der Blutgefäße erkennbar, welche, ausgehend vom Nabelstrang, den Dottersack und den Plazentagürtel versorgen. Amnion und Allantois liegen um den Embryo und sind mit feinen Gefäßen vaskularisiert. Dies gewährleistet die Versorgung des Amnions mit Nährstoffen (Miglino et al. 2006).

In den folgenden Tagen entwickelt sich der Embryo und seine Fruchthüllen weiter. Dabei bleibt der bisherige Aufbau weitestgehend gleich, jedoch wächst die Fruchtblase weiter und die Vaskularisation nimmt zu (Aralla et al. 2013, Miglino et al. 2006).

Aufgrund der bisher genannten Entwicklungsschritte der embryonalen und maternalen Strukturen kann die Trächtigkeit unter anderem in einen postimplantatorischen Abschnitt (Tag 18 bis 25 der Trächtigkeit) und in die Graviditätsmitte (Tag 26 bis 40 der Trächtigkeit) eingeteilt werden.
Ab dem 58. Tag nach dem LH-Peak ist der Fetus vollständig mineralisiert. Bereits einige Tage vorher sind erste knöcherne Strukturen radiologisch nachweisbar (Lopate 2008). Am 65. Tag ±1 nach dem LH-Peak kommt die Hündin in Geburt (Concannon 2011).

Aufbau der Plazenta

Der Implantation folgt die Entwicklung der Plazenta, die die Verbindung zwischen Fetus und Mutter darstellt. Dabei entwickelt sich die *Placenta fetalis* aus dem *Trophoblasten* und die *Placenta materna* aus dem Endometrium. Je nach Tierart sind die beiden Plazenten unterschiedlich stark miteinander verbunden (Schnorr und Kressin 2019).
Ab dem 24. Tag sind histologisch Extravasate als Randhämatome erkennbar, die zirkulär um den Embryo liegen. Es entsteht eine Gürtelplazenta. Dabei wächst fetales und maternales Gewebe in Form von Lamellen ineinander (Miglino et al. 2006). (Siehe Abb. 1)
Diese Lamellen sind Chorionprotrusionen, die in die Uterusschleimhaut vordringen (Schnorr und Kressin 2019). Diese Verzahnung der verschiedenen Gewebe wird als Plazentalabyrinth bezeichnet, welches beim Hund erstmalig bereits 18 Tage nach dem Deckakt histologisch erkennbar ist. Die Drüsenkammern sind zu diesem Zeitpunkt dilatiert und aktiv und die Drüsengänge ziehen bis ins Myometrium (Aralla et al. 2013).
Schaut man sich die Plazenta genauer an, so erkennt man verschiedene Schichten und Strukturen. Dabei liegt außen als erste Schicht die Uterusmuskulatur, gefolgt von der Uterusschleimhaut. In Letzterer befinden sich tiefgehende Drüsen. Geht man weiter ins Innere vor, so folgt eine Drüsendeckschicht, gefolgt von oberflächlichen Drüsen und großen Drüsenkammern.

Die nächste Schicht wird in zwei Bereiche unterteilt, die Gürtelplazenta und die Paraplazenta. Im Bereich der Gürtelplazenta liegt das bereits oben erwähnte Lamellensystem, wo Uterusschleimhaut bis auf die maternalen Gefäße abgebaut wird und ein inniger Kontakt zwischen mütterlichen Kapillaren und Chorionepithel entsteht. Aufgrund der Verzahnung von mütterlichem Endothel und fetalem Epithel wird diese Art der Plazenta auch *Placenta endotheliochorialis* genannt. Diese Art der Plazenta kommt auch bei der Katze vor, aber auch bei Kängurus und Elefanten. Im Bereich der Paraplazenta liegt das Randhämatom (Enders und Carter 2004, Schnorr und Kressin 2019). (Siehe Abb. 2)

Abbildung 1: Gestationssack eines Hundes am 45. Trächtigkeitstag.
Zu sehen sind die gelbliche Flüssigkeit im Allantois, der Fetus, und eine Substanz (Pfeile), welche durch das Allantochorion hindurch schimmert. Außerdem ist der Plazentagürtel mit seinen Randhämatomen erkennbar (Miglino et al. 2006).

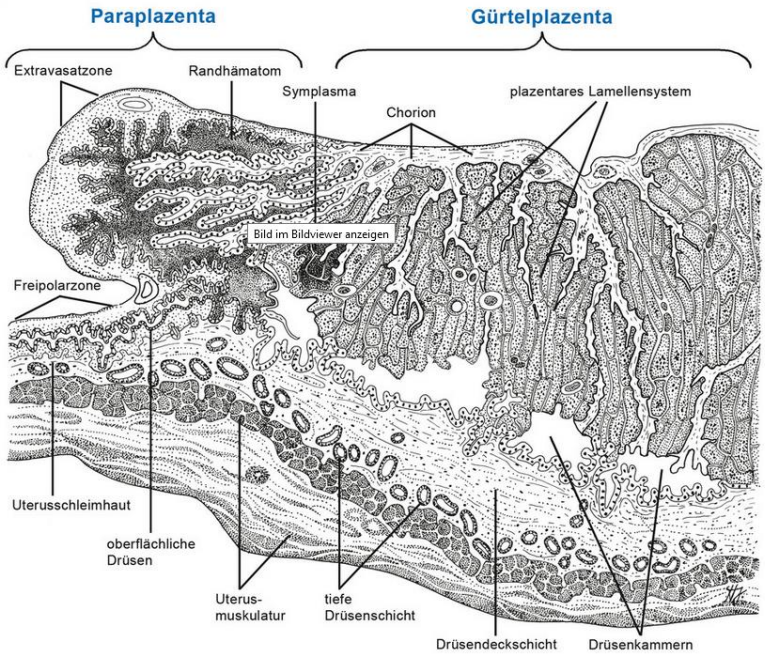

Abbildung 2: Aufbau der Plazenta eines Hundes im fortgeschrittenen Stadium.
Vergrößerung 15x (Schnorr und Kressin 2019).

Methoden zur Trächtigkeitsüberwachung

B-mode Ultraschall

Die Ultraschallmethode basiert auf der Aussendung und Reflexion von Schallwellen. Dabei werden von einem Schallkopf Schallwellen ausgesendet, die dann vom Gewebe in einer anderen Wellenlänge reflektiert werden. Daraus resultieren dann unterschiedliche Grauwerte. Flüssigkeiten reflektieren keine Schallwellen, weshalb sie auf dem Monitor schwarz dargestellt werden. Das andere Extrem sind knöcherne Strukturen. Sie reflektieren fast alle Schallwellen und werden deshalb weiß dargestellt (Du Plessis 2013, Pierson und Adams 1995).

Die Qualität des Ergebnisses einer Ultraschalluntersuchung hängt im Wesentlichen von drei Faktoren ab: Die Qualität des Ultraschallgerätes, die Erfahrung des Untersuchers und Patientenfaktoren wie Atemfrequenz, Haarlänge und -dichte oder Nervosität des Patienten (Lopate 2018). Aber auch die Einstellungen am Ultraschallgerät verändern das Bild und werden ja nach Größe und Kondition des Patienten, zu untersuchende Körperregion und Gewebe- und

Organeigenschaften variiert. Einige Einstellungsmöglichkeiten seien hier kurz erläutert. Der Tiefenausgleich dient dazu, die Schallschwächung in der Tiefe auszugleichen. Je nach dem aus welcher Tiefe das Echo zurückgeworfen wird, muss es mehr oder weniger stark verstärkt werden, um eine ausreichende Darstellung auf dem Bildschirm zu gewährleisten. Der Dynamikbereich ist eine Grauwertabstufung, die bei niedrigen Dezibelwerten zu einem weichen Bild und bei hohen Dezibelwerten zu einem kontrastreichen Bild führt. Eine weitere mögliche Einstellung ist die Eindringtiefe. Sie bestimmt die Bildtiefe und wird in cm angegeben. Sie sollte so eingestellt sein, dass der Untersuchungsbereich bildfüllend dargestellt wird. Die Gesamtverstärkung dient dazu, die Helligkeit der Grauwerte anzupassen. Dadurch wird das gesamte Ultraschallbild heller oder dunkler. Ein weiterer wichtiger Einstellungsparameter ist die Fokuszone. Das ist der Bereich im Bild, der die beste Ortsauflösung, also die höchste Bildschärfe hat (Bönhof 2012, Georg Thieme Verlag 2017).
Für die Untersuchung eigenen sich Linear-, Konvex- oder Sektor-Schallköpfe mit einer Frequenz von 5-7,5 MHz (Poulsen Nautrup und Tobias 2007).

Erste Anzeichen einer Trächtigkeit können schon früh dargestellt werden. So können mittels Ultraschalluntersuchung ab Tag 20 nach dem LH-Peak die ersten Fruchtblasen als echofreie, runde Strukturen dorsal der Harnblase dargestellt werden. Sie haben zu diesem Zeitpunkt einen Durchmesser von 2 mm und werden von der hyperechogenen Uteruswand umgeben. Innerhalb der Fruchtblase lässt sich ein Binnenecho darstellen, der Nabelstrang. Ab Tag 25-28 separiert sich der Embryo von der Uteruswand und wird von einer echogenen u-förmigen Membran, dem Dottersack, umgeben. Letzterer hat zunächst eine lineare, dann eine tubuläre Form. Außerdem ist eine weitere sehr dünne Membran um den Embryo und den Dottersack darstellbar, die Allantois (Poulsen Nautrup und Tobias 2007, Yeager et al. 1992).
Diese bisher genannten Strukturen konnten in Studien von (Aralla et al. 2013) und (Miglino et al. 2006) morphologisch und histologisch bestätigt werden.
Der Herzschlag eines Embryos kann ab dem 23. Tag dargestellt werden. Es folgen die Extremitätenstümpfe ab Tag 31 und fetale Bewegungen ab Tag 34 nach dem LH-Peak. Das Skelett und die Organe wachsen und reifen vor allem in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit, wobei der Darm am längsten für seine Entwicklung benötigt (Yeager et al. 1992).

Die *Plazenta zonaria* ist ab Tag 27-30 nach dem LH-Peak als echogener Zylinder darstellbar. Sie säumt den Uterus und wird ab dem 29.-31. Tag gürtelförmig (Lopate 2018, Yeager et al. 1992).

Wie bereits im Kapitel „Aufbau der Plazenta“ beschrieben, besteht die Plazenta aus mehreren unterschiedlichen Schichten. Diese Schichtung lässt sich auch mittels Ultraschall darstellen. Die äußere Schicht, welche dem Myometrium entspricht, ist eine echogene Schicht, gefolgt von einer anechogenen, mittleren Schicht, in der sich die Uterindrüsen befinden. Die innerste Schicht ist wieder eine echogenere Schicht, die vom Plazentalabyrinth gebildet wird. Die Plazenta ragt napf- oder schüsselförmig in die Fruchthöhle hinein (Poulsen Nautrup und Tobias 2007). (Siehe Abb. 3)

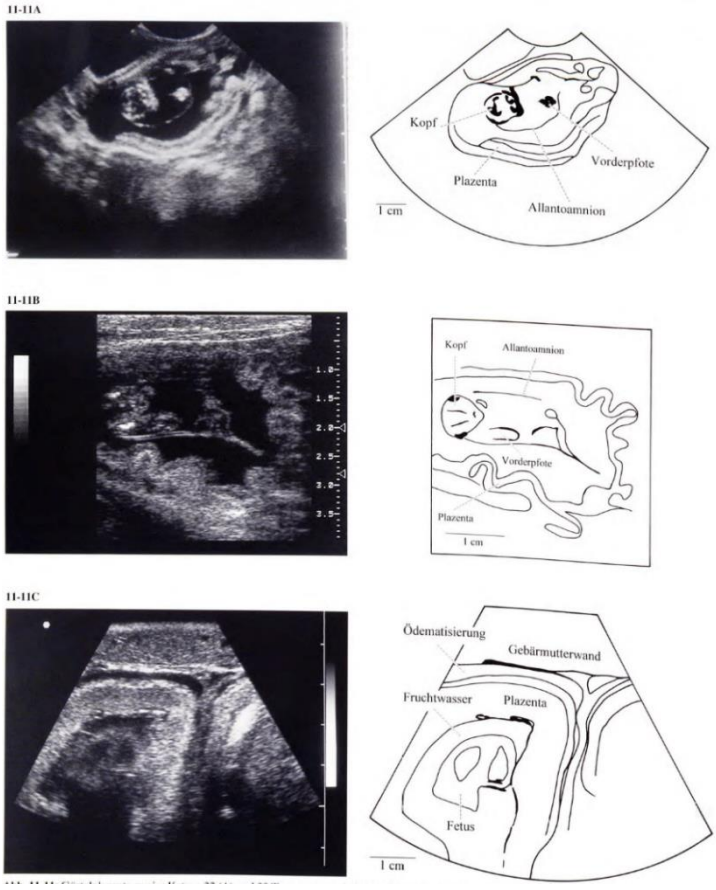

Abbildung 3: Ultraschallbilder.

Gürtelplazenta zweier Katzen 32 (A) und 33 (B) Tage post copulationem, sowie eines Hundes kurz vor der Geburt (C) (Poulsen Nautrup und Tobias 2007).

Doppler-Ultraschall

Die Doppler-Ultraschall Methodik kann Informationen bezüglich Geschwindigkeit, Richtung und Charakter des Blutflusses geben. Dabei sendet der Schallkopf Schallwellen aus, die dann vom Blut reflektiert werden und vom Schallkopf wieder empfangen werden. Mittels Doppler können Parameter wie Pulsationsindex, Widerstandsindex und Flussgeschwindigkeit des Blutes überwacht werden (Blanco et al. 2008, Miranda und Domingues 2010). (Siehe Abb. 4)

Da es für diese Parameter physiologische Werte gibt, können Veränderungen dieser Parameter auf Probleme während der Trächtigkeit hindeuten. So waren in der Studie von (Freeman et al. 2013) ältere Hündinnen signifikant öfter nicht tragend und hatten Dopplerwellen mit inkonstantem diastolischen Blutfluss zwei Tage vor und zwei Tage nach der Ovulation. Außerdem hatten sie eine niedrigere end-diastolische Blutflussgeschwindigkeit und einen höheren Widerstandsindex.

Während einer Trächtigkeit verändern sich die verschiedenen Doppler-Parameter auch physiologischerweise immer wieder, was vermutlich mit den deutlichen Umbauprozessen während einer Trächtigkeit zusammenhängt (Di Salvo et al. 2006).

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass der Widerstandsindex der Uterusarterien zur Geburt hin abfällt. Dies kann genutzt werden, um einen genaueren Geburtszeitraum festzulegen (Batista et al. 2018, Giannico et al. 2016, Miranda und Domingues 2010).

Abbildung 4: Doppler-Sonografie von Uterus und Umbilikalarterien einer Hündin 4 Tage vor der Geburt (Miranda und Domingues 2010).

Röntgenuntersuchung

Die Röntgenuntersuchung findet am besten zwischen dem 57. und 65. Tag nach dem LH-Peak statt. Dann kann man am besten die Feten erkennen und zählen. Wird das Röntgenbild zu früh gemacht, kann man Feten übersehen, da sie dann eventuell noch nicht vollständig mineralisiert sind. Eine hohe Anzahl an Feten und eine große Hündin können das Erkennen und Zählen der Feten erschweren. Je nach Trächtigkeitstag können einzelne knöcherne Strukturen erkannt werden. Die Zähne sind im Mittel ab Tag 61 und damit als letztes erkennbar.

Damit ist es zwar möglich, das Alter der Feten zu bestimmen, aber eine Aussage über die Vitalität ist mittels Röntgendiagnostik nicht möglich (Lopate 2018, Root Kustritz 2005).

Mittels Röntgendiagnostik kann man nicht nur die Anzahl der Feten bestimmen, sondern auch die Position und Größe der Feten erkennen, was für die Diagnostik von Dystokien hilfreich sein kann. Abb. 5 zeigt eine Röntgenaufnahme während einer normalen Trächtigkeit. Zu erkennen sind Schädel und Wirbelsäulen von drei Feten im Endstadium der Trächtigkeit (Hecht 2012).

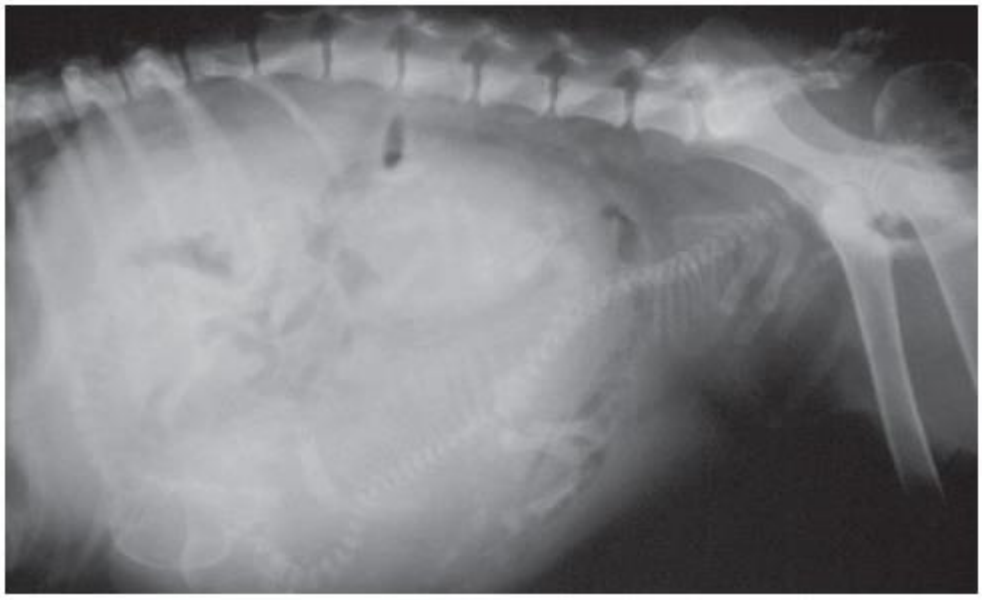

Abbildung 5: Röntgenaufnahme im Endstadium der Trächtigkeit.
Auf dieser Röntgenaufnahme im Endstadium der Trächtigkeit sind drei vollständig mineralisierte Feten zu erkennen (Hecht 2012).

Kontrastmittelverfahren

Mittels Kontrastmittelverfahren können maternale und fetale Gefäße in Echtzeit dargestellt werden. Dabei werden Luftbläschen intravenös appliziert, die dann mittels real-time Ultraschall sichtbar gemacht werden. (siehe Abb. 6)

Da es zum Kontrastmittelverfahren während der Gravidität des Hundes nur eine Studie gibt (Orlandi et al. 2019), muss sich in der Zukunft noch zeigen in wie weit das Verfahren diagnostisch verwertbar ist. Es konnte aber gezeigt werden, dass das Verfahren für Hündin und Embryo sicher ist. Weitere Studien müssen für eine bessere Aussagekraft noch folgen.

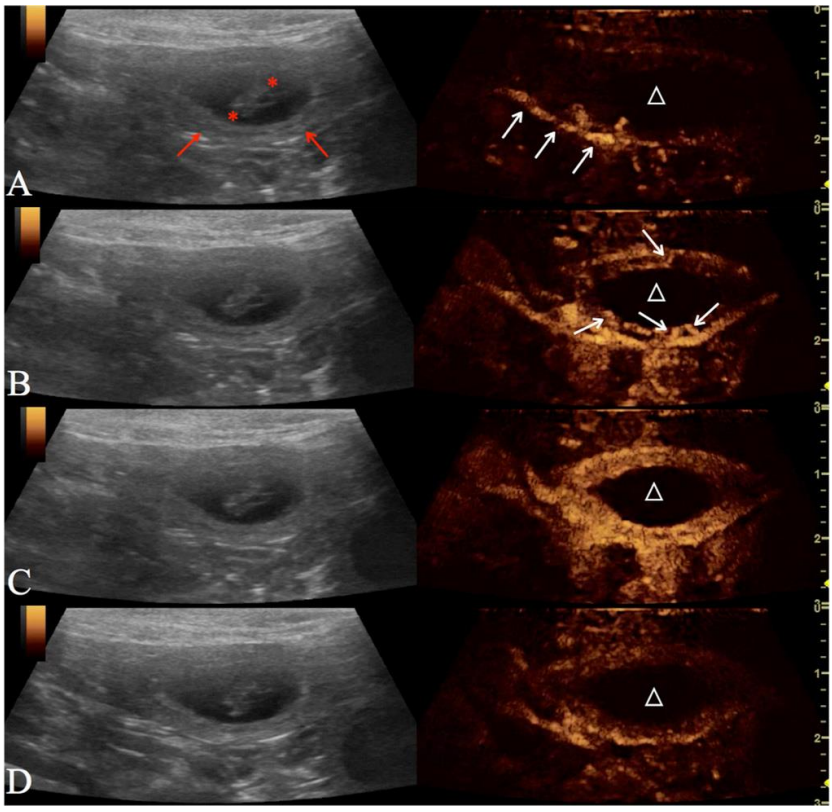

Abbildung 6: Kontrastmittelverfahren.

Die Abbildung zeigt eine Fruchtkammer (rote Pfeile im linken Bild A) einer Hündin am 23. Trächtigkeitstag. Dabei befinden sich in der linken Hälfte konventionelle B-mode Ultraschallbilder und in der rechten Hälfte die Bilder mit Kontrastmittel. Von A nach D wird das An- und Abfluten des Kontrastmittels gezeigt, welches nur wenige Sekunden dauert. Das Dreieck in der Mitte der Fruchtkammer stellt den Embryo dar, der keinen Kontakt mit Kontrastmittel hat. Die weißen Pfeile markieren Arterien und Venen (Orlandi et al. 2019).

Elastografie

Ein weiteres Verfahren in der Trächtigkeitsdiagnostik ist die Elastografie. Dabei werden die Qualität und die Quantität von Geweben bestimmt. Bei der qualitativen Elastografie wird die Geschwindigkeit einer Druckwelle, die von dem jeweiligen Gewebe reflektiert wird, gemessen. Wohingegen bei der quantitativen Elastografie zusätzlich die Pixelfarbe bewertet wird. Abweichungen könnten in Zukunft Rückschlüsse auf Organveränderungen geben. (Siehe Abb. 7)

Weitere Studien müssen aber noch folgen, da es wie das Kontrastmittelverfahren noch recht jung ist und es noch nicht viele aussagekräftige Werte gibt (Rodrigues Simões et al. 2018).

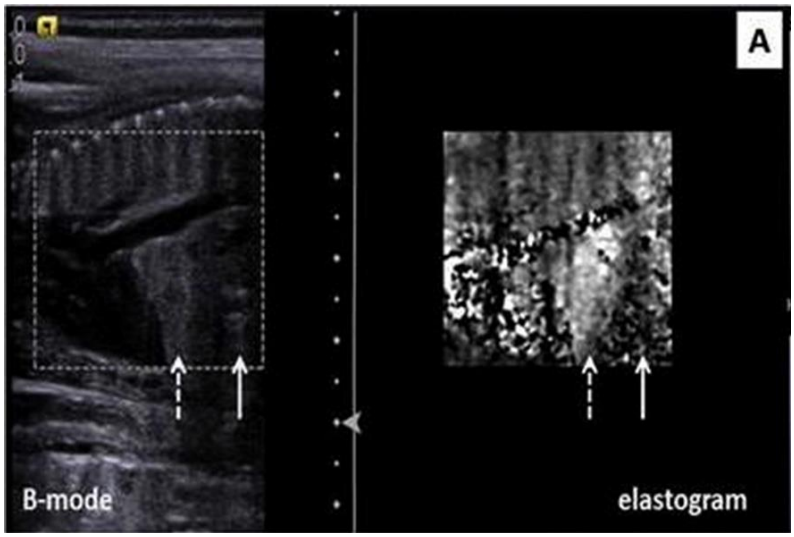

Abbildung 7: Elastografie.

Bei dieser Abbildung handelt es sich linksseitig um ein konventionelles B-mode Ultraschallbild und rechtsseitig um ein Elastogramm der Lunge (gestrichelter Pfeil) und der Leber (durchgezogener Pfeil) eines Feten (Rodrigues Simões et al. 2018).

Echostrukturanalyse

In dieser Diplomarbeit wurde mit der Echostrukturanalyse gearbeitet. Dies ist ein Verfahren, bei dem vorher ausgewählte Bereiche auf einem B-mode Ultraschallbild, die sogenannten *Regions of interest (ROI)*, mit Hilfe eines Computerprogrammes analysiert werden. Genaueres zu diesem Verfahren bzw. wie es für diese Diplomarbeit angewendet wurde folgt im Kapitel „Material und Methode".

Die Ultraschalluntersuchung ermöglicht es, das Gewebe in verschiedenen Graustufen darzustellen. Von der Darstellung her wäre eine enorme Spannbreite der Grauwerte möglich. Es könnten also sehr viele Abstufungen von Grauwerten dargestellt werden. Jedoch ist das menschliche Auge nicht in der Lage, so viele Abstufungen im Graubereich zu erkennen (Pierson und Adams 1995).
Die Echostrukturanalyse soll diesem Problem entgegenwirken, indem es die unterschiedlichen Grauwerte als Zahlenwerte darstellt bzw. die Auswertung nach Digitalisierung der Bilder objektiv mit Hilfe einer Software ermöglicht.

Wie bereits im Kapitel „B-mode Ultraschall" erwähnt, basiert die Ultraschallmethode auf Aussendung und Reflexion von Schallwellen. Daraus entsteht je nach Gewebeart und Einstellung des Ultraschallgerätes ein Muster mit verschiedenen hellen und dunklen Flecken, den sogenannten „speckles". Da die Grauwerte nicht nur von der Gewebeart und der Einstellung des Gerätes selbst abhängen, sondern auch von dem verwendeten Gerät selbst, der Nachbearbeitung der Bilder am Ultraschallgerät und der weiteren Bearbeitung durch einen Computer, ist es für eine aussagekräftige Echostrukturanalyse wichtig, stets mit standardisierten Einstellungen zu arbeiten (Huber et al. 2000, Jenderka und Delorme 2019). Das gelingt mit Voreinstellungen, sogenannten presets, für bestimmte Gewebe und betrifft vor allem die bereits erwähnten Parameter Dynamikbereich und Fokuszone.

Die Echostrukturanalyse wurde schon in mehreren Bereichen der Gynäkologie und Andrologie angewendet. Bei Hündinnen wurden Mammatumore auf ihre Malignität hin untersucht. Dabei wurden sowohl makroskopische Parameter als auch Parameter der Echostrukturanalyse erhoben.

Dabei kam heraus, dass sich im B-mode Ultraschall makroskopisch keine Unterschiede zwischen benignen und malignen Tumoren darstellen lassen. In der Echostrukturanalyse waren Homogenität, Helligkeit und mittlere Graustufe in malignen Mischtumoren signifikant höher als in benignen Mischtumoren (Mülazimoglu et al. 2016). In der Tumordiagnostik kann die Echostrukturanalyse also ein weiteres diagnostisches Hilfsmittel sein, um Tumore frühzeitig auf ihre Malignität hin zu beurteilen.

Bei Rüden wurde das Verfahren zur Kontrolle einer Behandlung bei benigner Prostatahyperplasie verwendet. Dabei wurde sowohl vor als auch nach der Behandlung der Prostatahyperplasie mittels dem Antiandrogen Cyproteronacetat eine Echostrukturanalyse durchgeführt. Dabei wurden signifikante Unterschiede vor und nach der Behandlung bei den Parametern Homogenität, Kontrast und Entropie nachgewiesen (Schäfer-Somi et al 2018).
Die Echostrukturanalyse kann auch ein geeignetes Verfahren sein, um die benigne Prostatahyperplasie von einer chronischen Entzündung zu unterscheiden, erste Ergebnisse weisen auf diese Möglichkeit hin (Schäfer-Somi et al. 2019).

Bei Kühen wurde das Verfahren zur Beurteilung von Uterus und Gelbkörper herangezogen. Allerdings wurden hier nur Homogenität und Kontrast bestimmt. Dabei kam heraus, dass es am Uterus zwar keine signifikanten Unterschiede zwischen trächtigen und nicht-trächtigen Tieren gab. Wohl aber saisonale und tageszeitliche Veränderungen (Scully et al. 2014).

In der Studie von Cengiz et al. (2014) wurden 40 Ziegen während des Östrus und während der frühen Trächtigkeit untersucht. Dabei wurde die Echostruktur des Endometriums, der Östradiolwert im Blut, der Progesteronwert im Blut und die Anzahl der Feten gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass die Homogenität den höchsten Wert am Decktag hatte und dann während der Trächtigkeit kontinuierlich abfiel. Der Progesteronwert korrelierte positiv mit dem Kontrast und dem mittleren Grauwert und negativ mit der Homogenität. Es gab allerdings keine Korrelation der Echostruktur mit der Anzahl der Feten und dem Östradiolwert. Dennoch zeigt sich, dass sich der Uterus aufgrund der Trächtigkeit und damit auch der Hormonlage verändert und dies mittels Echostrukturanalyse dargestellt werden kann. Die Echostrukturanalyse könnte also zur Verlaufskontrolle einer Trächtigkeit eingesetzt werden.

Es scheint, dass es bereits einige Bereiche für die Anwendung der Echostrukturanalyse gibt. Gleichzeitig bedarf es aber noch einiges an Forschung, da die Ergebnisse nach Tierart, Organ und Fragestellung sehr unterschiedlich sind. Diese Diplomarbeit soll eine weitere Möglichkeit für die Verwendung der Echostrukturanalyse aufweisen und Grundstein für weitere Arbeiten sein.

3. Material und Methode

Material

Für diese Diplomarbeit standen 26 gesunde Hündinnen zur Verfügung, die im Rahmen einer Trächtigkeitsuntersuchung mittels B-mode Ultraschall untersucht wurden. Für die Ultraschalluntersuchung wurde das Ultraschallgerät MyLab^{TM} 40 (MyLab^{TM} 40, Esaote Biomedica GmbH, Deutschland) mit einer 7,5 MHz Konvexsonde (Esaote Micro Convex CA 123, Esaote Biomedica GmbH, Deutschland) eingesetzt.

Bei den Hündinnen war eine Deckvorbereitung mit allgemein klinischer, speziell gynäkologischer inklusiver vaginalzytologischer Untersuchung und Progesteronmessung im Blut durchgeführt worden. Das durchschnittliche Alter der Hündinnen betrug 53,2 ± 23,8 Monate. Die 26 Hündinnen verteilten sich auf insgesamt 20 unterschiedliche Rassen. Dazu zählten der Cocker Spaniel (n=4), der Labrador Retriever (n=3), der American Staffordshire Terrier (n=2) und jeweils ein Berner Sennenhund, Malinois, English Springer Spaniel, Mischling, Golden Retriever, Chinese Crested, Australian Labradoodle, Staffordshire Bullterrier, Rottweiler, Landseer, Deutscher Schäferhund, Saarloos Wolfhond, Rhodesian Ridgeback, Hovawart, Lagotto Romagnolo, Tibet Terrier und ein Großer Schweizer Sennenhund. Die Hündinnen wurden zum Zweck des Trächtigkeitsnachweises an der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie vorstellig. Diese Untersuchung wird üblicherweise ab der dritten bzw. vierten Gestationswoche durchgeführt, mitunter auch später. Die Hündinnen hatten bis dahin keine pathologischen Auffälligkeiten während der Trächtigkeit gezeigt. Die Errechnung der Gestationszeit erfolgte vom Tag der vermutlichen Konzeption an (24 h nach Ende der Ovulationen, bei einem Progesteronwert von >25 nmol/l).

Die 26 Hündinnen wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Einteilung beruhte auf den Erkenntnissen der Literaturübersicht und Untersuchungen, für die ebenfalls ähnliche Einteilungen vorgenommen wurden (Graubner et al. 2018, Schäfer-Somi et al. 2015). Keine der Hündinnen kam in beiden Gruppen vor. Gruppe eins bestand aus neun Hündinnen, die sich am Tag 18-25 der Trächtigkeit und damit in der postimplantatorischen Zeit befanden. Gruppe zwei bestand aus 17 Hündinnen, die sich an Tag 26-40 der Trächtigkeit befanden. Letzteres stellt die Graviditätsmitte dar.

Methode

Die Trächtigkeitsuntersuchungen fanden an der Veterinärmedizinischen Universität Wien unter Beteiligung verschiedener AssistenzärztInnen statt. Dabei wurden die Ultraschallbilder unter möglichst standardisierten Einstellungen vorgenommen, dies betraf vor allem die Parameter Tiefenausgleich, Dynamikbereich und Enhancement. Die Eindringtiefe wurde je nach Trächtigkeitsstadium und Größe der Tiere angepasst. Die Fokuszone lag bei querangeschnittener Fruchtampulle auf dem ventralen oder dorsalen Bereich der Plazenta. Die Bilder, die während der Real-Time Sonografie entstanden sind, wurden anonymisiert, digitalisiert und retrospektiv ausgewertet.

Es wurden zunächst Bilder herausgesucht, die zum gewählten Zeitraum (Postimplantation /mittlere Gravidität) passten. Anschließend wurden die Bilder nach passender Größe (annähernd gleiche Größe der Fruchtampulle im Bild), passendem Schnitt (Querschnitt der Ampulle) und ähnlichen Einstellungen des Ultraschallgerätes selektiert, um eine möglichst standardisierte Auswertung zu gewährleisten.

Dann wurden in jedem Bild fünf sogenannte *Regions of interest* (ROIs) erstellt. Dies sind quadratische Bereiche einer bestimmten Größe (mindestens 100 Pixel), die digitalisiert und dann mittels Computerprogramm (ImageJ; Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) ausgewertet wurden. Alle ROIs hatten dieselbe Größe und wurden in den dorsalen oder ventralen Bereich der Plazenta gelegt.

Auf den Bildern der Abb. 8 und 9 sind Fruchtkammern und Früchte repräsentativ für beide Gruppen dargestellt. Die schwarzen bzw. weißen Kästchen sind die sogenannten ROIs, die dann von einem Computerprogramm ausgewertet werden können (Schäfer-Somi et al. 2018).

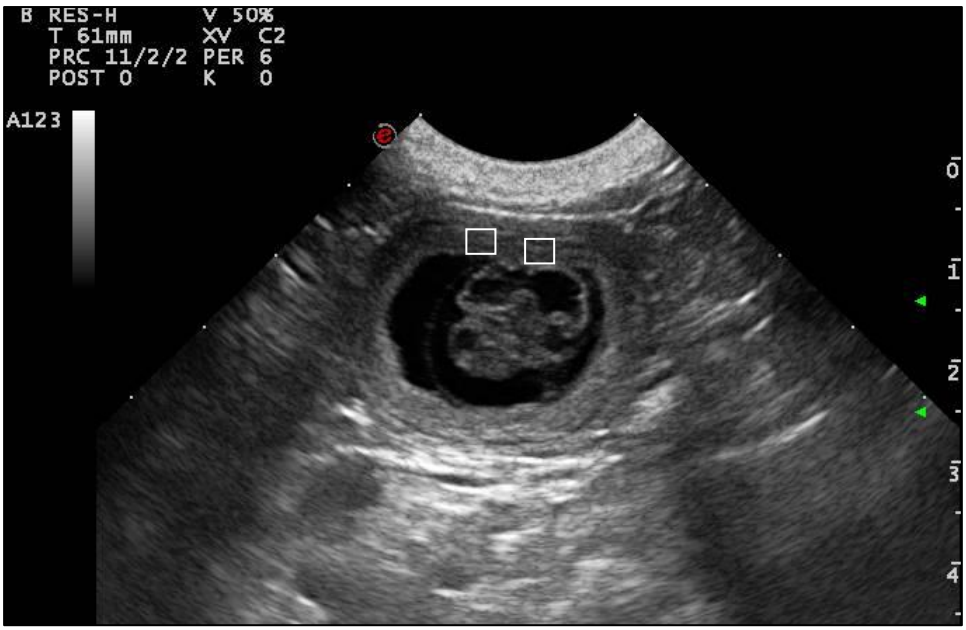

Abbildung 8: Ultraschallbild am 25. Tag der Trächtigkeit. Der Embryo ist von der Uteruswand separiert und von seinen Fruchthüllen umgeben. (Schäfer-Somi 2019).

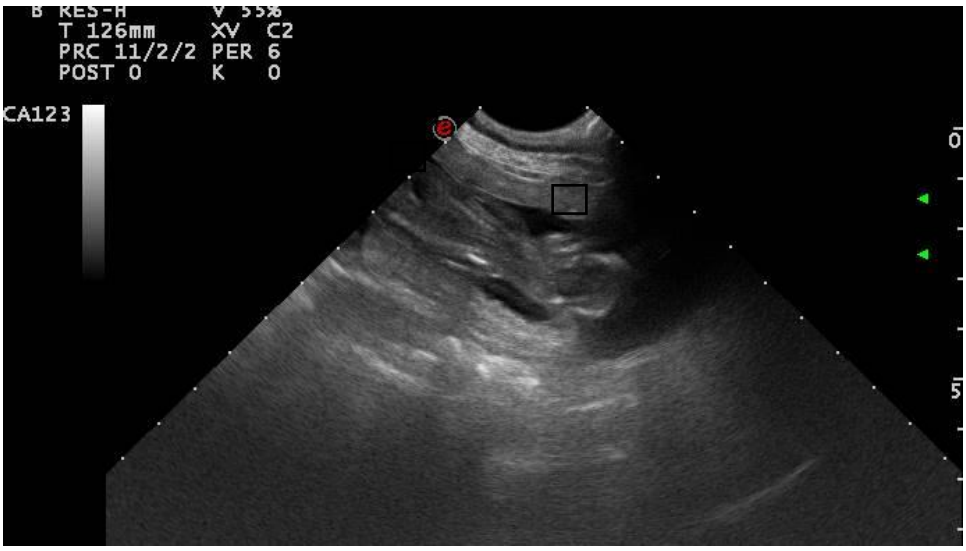

Abbildung 9:Ultraschallbild am 40. Tag der Trächtigkeit. Der Fetus hat an Größe zugenommen und die Plazenta zeigt ihre typische Schichtung. (Schäfer-Somi 2019).

Bei jeder Hündin wurden fünf ROIs pro Bild im Bereich der Plazenta erstellt und ausgewertet. Aufgrund der geringen Patientenzahl wurden möglichst viele Bilder pro Hündin ausgewertet. Es waren pro Hündin unterschiedlich viele Bilder vorhanden bzw. auswertbar und es kamen daher auch unterschiedlich viele ROIs zur Auswertung, aber immer fünf ROIs pro Bild. Die Hündinnen wurden nicht mehrfach untersucht und die Bilder nicht mehrfach ausgewertet.
Mit Hilfe folgender Parameter wurde das Gewebe beurteilt:
Mean Grey Value (Arithmetisches Mittel des Grautons aller Pixels in den ausgewählten ROIs, definiert die Helligkeit),
Mean Gradient (Variabilität des Grautons benachbarter Pixel, definiert die Mikrotextur des Gewebes),
Homogeneity (Uniformität aller Grautöne benachbarter Pixel in bestimmten Geweben, definiert Mikro- oder Makrotextur des Gewebes),
Entropy (ein Maß der Uniformität des Matrixwertes),
Contrast (ein Maß, wie stark die Differenz der Grautöne in einer ROI ist) (Mylazimoglu et al 2016).
In der vorliegenden Studie konnten keine Wiederholungsmessungen durchgeführt werden, wodurch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nicht überprüft werden kann, was jedoch für die Erstellung von Richtwerten notwendig wäre. Die Studie soll jedoch als Pilotstudie angesehen werden.

Statistik

Die Daten, die aus den ROIs generiert wurden, wurden mittels der Software IBM® SPSS Statistic (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) statistisch ausgewertet. Zum Vergleich der Gruppen eins und zwei bezogen auf die oben genannten verschiedenen Parameter wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet, da die Daten nach dem Kolmogorow-Smirnow-Test nicht normalverteilt waren. Dabei war die Gruppe eins bzw. Gruppe zwei die unabhängige Variabel, wohingegen die verschiedenen Parameter die abhängige Variabel darstellten. Alle Ergebnisse sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Die Differenz zwischen den Gruppen war statistisch signifikant, wenn $p<0,05$ war.

4. Ergebnisse

Insgesamt konnten die Ultraschallbilder von 26 untersuchten Hündinnen ausgewertet werden. Dabei wurden in der ersten Gruppe (Hündinnen zwischen Tag 18 und 25 der Trächtigkeit, n=9) insgesamt 33 Bilder mit 165 ROIs ausgewertet. In der zweiten Gruppe (Hündinnen zwischen Tag 26 und 40 der Trächtigkeit, n=17) konnten insgesamt 78 Bilder mit 390 ROIs ausgewertet werden. Dabei wurden die Parameter Mean Grey Value, Mean Gradient, Homogeneity, Entropy und Contrast zwischen den beiden Gruppen verglichen.

Sowohl der Parameter Contrast ($p<0,05$) als auch der Mean Grey Value ($p<0,01$) unterschieden sich signifikant zwischen den beiden Gruppen. Beide Werte stiegen zur mittleren Gravidität hin an. Bei allen anderen Parametern konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden. Tabelle 1 zeigt alle gemessenen Parameter mit Mittelwert (X), Standardabweichung (SD) und der Signifikanz (P).

Tabelle 1: Mittelwerte, Standabweichungen und Signifikanz der untersuchten Parameter

	Gruppe 1 Tag 18-25 (n=9) X ± SD	Gruppe 2 Tag 26-40 (n=17) X ± SD	Signifikanz (P)
Contrast	76102,08 ± 42269,4	85178,4 ± 46079,8	<0,05
Mean Grey Value	71096,9 ± 22558,3	91600,4 ± 33616,1	<0,01
Mean Gradient	4,88 ± 2,61	5,22 ± 2,63	>0,05
Homogenity	6,67 ± 0,8	6,41 ± 0,73	>0,05
Entropy	5115,6 ± 82,89	5119,92 ± 77,35	>0,05

Die Standardabweichung ist als akzeptabel anzusehen, sodass die beiden Gruppen in sich homogen verteilt sind und ein Vergleich der beiden Gruppen miteinander gut möglich ist. Abb. 10 zeigt die Parameter Contrast und Mean Grey Value beider Gruppen im Vergleich als Histogramm mit der einfachen Standardabweichung und der Signifikanz.

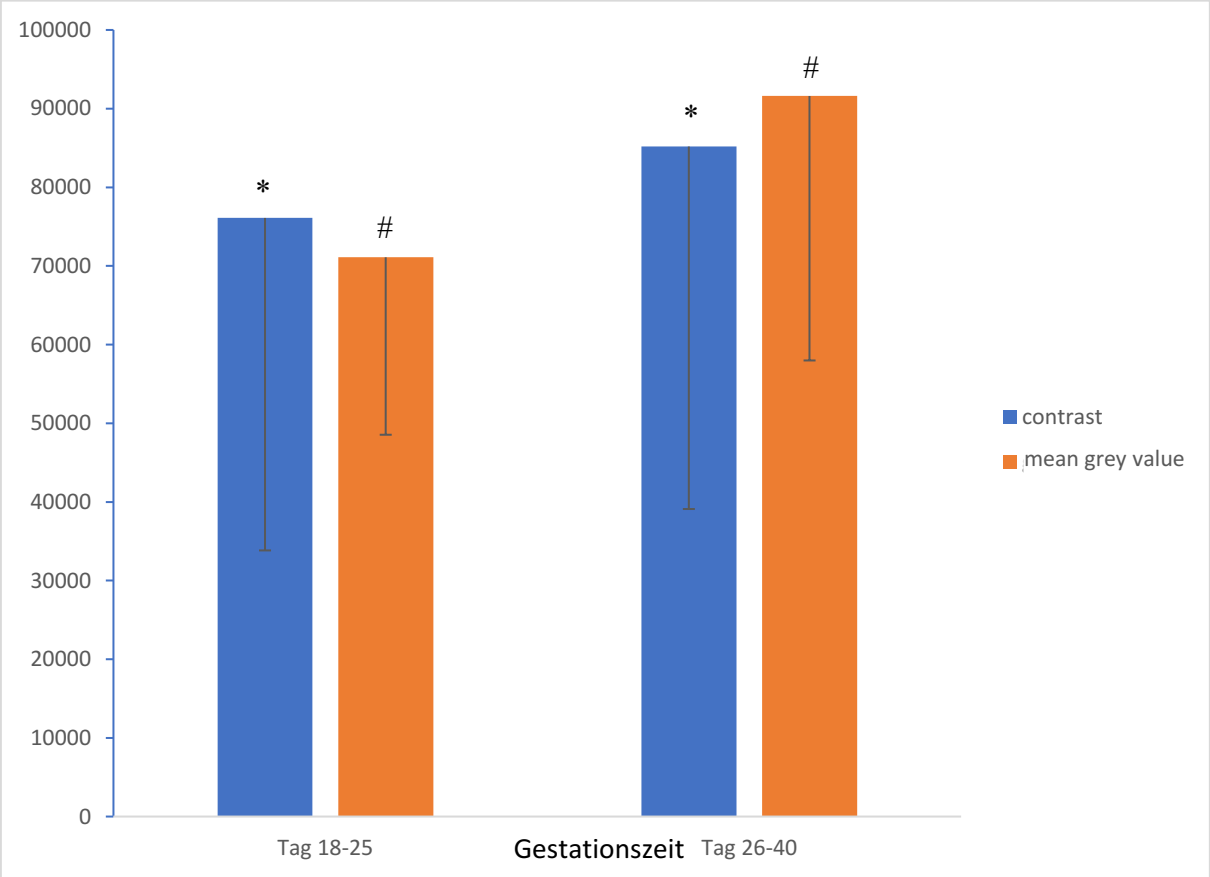

Abbildung 10: Vergleich von Contrast und Mean Grey Value zwischen der postimplantatorischen Zeit (Tag 18-25) und der Graviditätsmitte (Tag 26-40).

*,# = Säulen mit gleichen Indizes unterscheiden sich signifikant, *= $p<0,05$, #= $p<0,01$.

5. Diskussion

Ziel dieser Diplomarbeit war es, mittels Echostrukturanalyse die physiologische Struktur der Plazenta im postimplantatorischem Zeitfenster und in der Graviditätsmitte zu untersuchen und objektive Richtwerte zu erstellen. Dadurch soll es später möglich sein, pathologische Trächtigkeiten möglichst früh abzugrenzen, wodurch eine schnelle und frühzeitige Behandlung möglich werden kann. Die Hypothese lautet, dass die Echostruktur-Analyse der Plazenta in der postimplantatorischen Zeit, also zwischen Tag 18 und 25 der Trächtigkeit, und in der Graviditätsmitte, von Tag 26 bis Tag 40 der Trächtigkeit, unterschiedliche Werte ergibt.
Die Ergebnisse aus dem verfügbaren Bildmaterial zeigen, dass es bezüglich des Parameters Contrast und des Parameters Mean Grey Value einen signifikanten Unterschied zwischen der postimplantatorischen Zeit und der Graviditätsmitte gibt. So hatte die Gruppe zwischen Tag 18 und 25 der Trächtigkeit sowohl bei dem Parameter Contrast als auch bei dem Parameter Mean Grey Value signifikant niedrigere Werte als die Gruppe zwischen Tag 26 und 40 der Trächtigkeit.

Der untersuchte Trächtigkeitszeitraum in dieser Diplomarbeit ist ein Trächtigkeitsabschnitt mit vielen Umbauprozessen in der Plazenta und den umliegenden Geweben. Mit dem 18. Trächtigkeitstag ist das Plazentalabyrinth bereits als solches erkennbar, aber in den folgenden Wochen wird es immer ausgeprägter und deutlicher erkennbar und nimmt an Komplexität zu (Aralla et al. 2013). Die Hündinnen in der ersten Gruppe haben also bereits ein Plazentalabyrinth ausgebildet, welches sich aber noch im Anfangsstadium befindet. Auch die Randhämatome sind zu diesem Zeitpunkt schon erkennbar, aber eine tiefe Verzahnung der verschiedenen Plazentaschichten beginnt erst ab dem 22.-25. Tag und erreicht ihre maximale Ausgeprägtheit erst nach dem 35. Tag (Miglino et al. 2006).

Die Entwicklung der Plazenta, des Fetus und der Fruchthüllen ist auch in der Ultraschalluntersuchung erkennbar. Die Abbildungen acht und neun aus dem Methodik-Teil zeigen jeweils ein Ultraschallbild an Tag 25 und an Tag 40 der Trächtigkeit.

An Tag 25 sind die Fruchthüllen deutlich zu erkennen und abzugrenzen, wohingegen die typische Plazentaschichtung noch nicht zu erkennen ist. An Tag 40 ist die Schichtung der Plazenta mit unterschiedlicher Echogenität deutlich zu erkennen.
Die starke Verzahnung fetalen und mütterlichen Gewebes in Form von Lamellen ist charakteristisch für Hunde und Katzen. Dabei nimmt die Komplexität des Lamellensystems, die Invasion des *Trophoblasten*, der für die Einblutungen und damit für die Randhämatome verantwortlich ist, aber auch die Blutgefäßversorgung im Laufe der Trächtigkeit immer weiter zu (Schnorr und Kressin 2019). All diese Veränderungen könnten erklären, weshalb in der zweiten Gruppe die Parameter signifikant höher waren als in der ersten Gruppe. Die beiden Phasen der Trächtigkeit scheinen aufgrund der vielen und invasiven Veränderungen ein wichtiger Entwicklungsschritt zu sein. Gerade am Übergang von der postimplantatorischen Zeit zur Graviditätsmitte beginnen viele Umbauprozesse oder nehmen in ihrer Invasivität und Komplexität deutlich zu.

Mit insgesamt 26 Hündinnen konnten zwar viele Bilder und damit auch ROIs ausgewertet werden, dennoch sollten dieser Pilotstudie weitere Studien folgen, um die gemessenen Werte zu bestätigen und den Datenpool zu erweitern und damit die Grundlage für den Vergleich zu pathologischen Trächtigkeiten zu verbessern. Aufgrund der einfachen Messungen und der nicht vollständig standardisierten Geräteeinstellung liegt derzeit keine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse vor, was ebenfalls weitere Untersuchungen nötig macht. Dennoch geben die Ergebnisse einen ersten Eindruck der Echostruktur der Plazenten in den untersuchten Zeiträumen. Die signifikanten Differenzen spiegeln die massiven Gewebeveränderungen im Untersuchungszeitraum wider. Objektive Richtwerte müssen jedoch in nachfolgenden Studien erhoben werden.

Scully et al. (2014) untersuchten Kühe mittels Ultraschall auf das Vorhandensein einer Trächtigkeit und erhoben Kontrast und Homogenität von Uterus und Gelbkörper. Sie wollten zeigen, dass mittels Echostrukturanalyse eine frühzeitige Aussage über Trächtigkeitsdiagnose möglich ist. Jedoch konnte kein signifikanter Unterschied zwischen trächtigen und nicht trächtigen Tieren gezeigt werden. Wohl aber gab es einen Unterschied, ob sich die Kühe in der Herbstsaison oder der Frühjahrsaison befanden.

Im Vergleich zu den Fleischfressern haben Wiederkäuer einen anderen Aufbau der Plazenta. Hier finden weniger invasive Veränderungen statt. Das Chorionepithel grenzt an ein intaktes Endometrium und die Plazentombildung beginnt erst mit dem 30. Tag (Schnorr und Kressin 2019). Dies könnte ein Grund sein, weshalb hier keine signifikanten Unterschiede zwischen trächtigen und nicht-trächtigen Tieren gezeigt werden konnte.

Schäfer-Somi et al. (2018) konnten zeigen, dass es mittels Echostrukturanalyse möglich ist, die Therapie der benignen Prostatahyperplasie zu überprüfen. So kann man als Untersucher nicht nur seine eigenen, subjektiven, optischen Fähigkeiten nutzen, sondern hat mit Hilfe der Messwerte auch die Möglichkeit einer objektiven Aussage über den Therapieerfolg. Im Rahmen einer anderen Studie der Gruppe ergab sich, dass die Prostata von Hunden mit benigner Prostatahyperplasie signifikant differente Homogenitäts-Werte ergibt, als jene von Hunden mit chronischer Prostatitis (Schäfer-Somi et al 2019).
Auch die Unterscheidung zwischen benignen und malignen Tumoren der Milchleiste der Hündin scheinen mittels Echostrukturanalyse möglich zu sein. In der Studie konnte ein signifikanter Unterschied in der Homogenität und dem Grauwert gezeigt werden (Mülazimoglu et al. 2016).
Die letztgenannten Studien haben als Gemeinsamkeit, dass die Veränderungen auf Gewebeebene stattfinden, welche für das menschliche Auge kaum bis gar nicht erkennbar sind, wohl aber mittels Echostrukturanalyse als charakteristische Werte darstellbar sind und dadurch einen Informationsgewinn darstellen.
Cengiz et al. (2014) konnten zeigen, dass die Homogenität des Uterusgewebes zum Deckzeitpunkt bei Ziegen am höchsten ist und im Verlaufe einer Trächtigkeit immer mehr abnimmt. Im Vergleich dazu hatte die Homogenität in dieser Diplomarbeit im Bereich der Plazenta der Hündin wiederum keine signifikante Änderung im Verlaufe der hier beobachteten Trächtigkeit aufzuweisen. Cengiz et al. (2014) konnten aber zeigen, dass die Hormonveränderung während der Trächtigkeit mit den Echostrukturwerten korrelierte, was als möglicher Frühmarker für eine Trächtigkeit genutzt werden könnte.
Ebenfalls mögliche Frühmarker haben Rensis et al. (2000) in ihrer Studie an Schweinen gezeigt. Das Ziel der Studie war es, zwischen Tag 15 und 25 nach der Besamung mittels B-mode Ultraschall eine Trächtigkeit zu bestätigen oder auszuschließen. Zusätzlich wurde der Uterus

zu verschiedenen Zeitpunkten (Östrus und verschiedene Zeitpunkte während der Trächtigkeit) mittels B-mode Ultraschall auf seine Homogenität untersucht. Dabei zeigte sich während der Trächtigkeit die Abwesenheit eines Uterusödems und ein Verlust der Heterogenität, wohingegen im Östrus die Heterogenität am stärksten war. Bei Sauen sind die Chorionfalten, im Gegensatz zum Fleischfresser, nur wenig verzweigt und nur oberflächlich mit der Uterusschleimhaut verbunden und die endgültige Ausbildung erfolgt erst ab der 5. Woche (Schnorr und Kressin 2019).

Die Echostrukturanalyse ist im tiermedizinischen Bereich noch nicht weit verbreitet und bis jetzt wurden noch nicht viele Studien durchgeführt, die sich mit der Echostrukturanalyse im Bereich der Plazenta beschäftigt haben, sodass es nur wenige Möglichkeiten zum Vergleich der Ergebnisse dieser Diplomarbeit mit anderen Studien gibt. Dennoch scheint es bereits einige Möglichkeiten für die Echostrukturanalyse zu geben, da in den bisher genannten Studien immer wieder signifikante Ergebnisse erzielt werden konnten. Dabei hat sich aber gezeigt, dass je nach Tierart, Organ und Fragestellung die Ergebnisse sehr unterschiedlich ausfallen können. Während sich einige Parameter der Echostrukturanalyse kaum oder gar nicht ändern, können die gleichen Werte bei anderen Organen oder Tierarten sehr wohl signifikante Unterschiede aufweisen. Hier bedarf es weiterer Studien, um die jeweiligen Parameter der Echostrukturanalyse an die Fragestellung der Untersucher anzupassen und für jedes Organ und jede Tierart charakteristische Werte zu bekommen. Dazu sei auch noch mal erwähnt, dass es wichtig ist, vor der Untersuchung auf die Geräteeinstellung zu achten. Denn die Echostrukturanalyse setzt für eine aussagekräftige Analyse stets die gleichen Einstellungen für bestimmte Gewebe voraus. Gleichzeitig darf aber nicht außer Acht gelassen werden, dass für ein aussagekräftiges Ultraschallbild individuelle Einstellungen nötig sind, die je nach Patienten variieren können. Hier ist also stets ein Kompromiss nötig zwischen möglichst identischen Einstellungen und der Individualität der Patienten. Wie bereits im Kapitel „Material und Methode“ beschrieben, wurde bei dieser retrospektiven Untersuchung darauf geachtet, möglichst ähnliche Einstellungen und damit vergleichbare Bilder auszuwählen, sodass die Werte aussagekräftig sind.

Gerade im Bereich der Trächtigkeit sind weitere Studien nötig, da sich der Aufbau der Plazenta je nach Tierart stark unterscheidet und bisherige Studien darauf hindeuten, dass es dadurch auch in der Echostrukturanalyse zu unterschiedlichen Ergebnissen kommt. Da es bis zu diesem Zeitpunkt keine Studien zur Echostrukturanalyse von Plazenten bei der Hündin gibt, können die Ergebnisse dieser Diplomarbeit noch nicht verglichen werden. Sinnvoll erscheint in Zukunft die kombinierte Anwendung mehrerer Untersuchungsverfahren, um signifikante Änderungen während des Plazentawachstums und Abweichungen von der Norm frühzeitig zu erkennen. So könnte die Echostrukturanalyse das Dopplerverfahren gut ergänzen, da Letzteres nur Änderungen der Durchblutung erkennt.

Während also die Erstellung von Richtwerten in der vorliegenden Pilotstudie nicht erreicht werden konnte, konnten aber erste Hinweise auf eine signifikante Änderung der Echostruktur im Untersuchungszeitraum erbracht werden.

6. Zusammenfassung

Diese Diplomarbeit hat sich mit der B-mode Echostrukturanalyse der Plazenta von Hündinnen während der physiologischen Gravidität befasst. Die Hypothese lautete, dass die Echostrukturanalyse der Plazenta in der postimplantatorischen Zeit und in der Graviditätsmitte unterschiedliche Werte ergibt. Dafür wurden 26 Hündinnen mittels B-mode Ultraschall untersucht. Die dabei entstandenen Ultraschallbilder wurden digitalisiert und mittels einer speziellen Software analysiert und ausgewertet. Dazu wurden im Bereich der Plazenta fünf Regions of interest (ROI) gleicher Grösse bestimmt, die dann auf die Parameter Mean Grey Value, Mean Gradient, Homogeneity, Entropy und Contrast untersucht wurden. Ziel der Studie war es, zu untersuchen, ob sich diese Parameter in der physiologischen Gravidität signifikant ändern.

Die in dieser Diplomarbeit erhobenen Ergebnisse haben gezeigt, dass mit Hilfe der Echostrukturanalyse unterschiedliche Werte für die Plazenta der Hündin während der physiologischen Trächtigkeit ermittelt werden können. Es hat sich gezeigt, dass die Parameter Contrast und Mean Grey Value von der postimplantatorischen Zeit zur Graviditätsmitte signifikant anstiegen. Dies ist durch die physiologischen Umbauprozesse in der Plazenta zu dieser Zeit erklärbar. Das Plazentalabyrinth nimmt in dieser Zeit an Komplexität zu, die fetomaternale Verbindung wird invasiver und die Gefäßversorgung wird immer weiter ausgebaut. Gleichzeitig wächst und entwickelt sich auch der Fetus und seine umgebenden Strukturen in dieser Zeit immer weiter.

Die Echostrukturanalyse kann also ein weiteres Hilfsmittel für die Trächtigkeitsüberwachung darstellen. Es sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um charakteristische Basiswerte für die Plazenta während der physiologischen Trächtigkeit zu bestimmen und in der Folge auch für eine pathologische Trächtigkeit zu erbringen. Die Echostrukturanalyse könnte dann ein weiteres Hilfsmittel in der Trächtigkeitsüberwachung sein, um pathologische Trächtigkeiten frühzeitig zu erkennen.

Des Weiteren sind für die Echostrukturanalyse keine weiteren Untersuchungen am Tier nötig. Die bei einem zur Trächtigkeitdiagnostik durchgeführten Ultraschall entstandenen Bilder können im Anschluss an die Untersuchung ohne Stress für die Hündin ausgewertet werden.

7. Summary

"B-mode echotexture analysis of the placenta of bitches during the physiological pregnancy"

This diploma thesis deals with the B-mode echostructure analysis of the canine placenta during physiological pregnancies. Hypothesis was that the values obtained during the postimplantation and midgestation period reveal significant differences. For this purpose, 26 bitches were examined with B-mode ultrasound. The sonographic pictures were evaluated with computer-assisted echotexture analysis after digitalization of B-mode pictures. On each image of the placenta, five equal quadratic regions of interest (ROI) were chosen. In these ROIs, different parameters, like mean grey value, mean gradient, homogeneity, entropy and contrast were analysed with echotexture analysis. The aim of this study was to examine, whether the examined parameters change significantly during physiological pregnancies.

This diploma thesis has shown that the echotexture analysis of the placenta of dogs during physiological pregnancies reveals different values during different gestational stages. The parameters contrast and mean grey value increased significantly between the postimplantation and midgestation period of pregnancy. These differences can be explained by the modifications in the placenta during these pregnancy stages; the complexity of the placental labyrinth increases markedly, mostly due to the growth of maternal and fetal tissue, the development of the placental labyrinth and the ongoing vascularisation.

Therefore, the echotexture analysis may be a further possibility for the monitoring of bitches during pregnancy. However, further studies are necessary for establishment of a characteristic base of datas for the physiological canine pregnancy. In the future, comparison with data from pathological pregnancies would be desirable, for the early detection of disturbed pregnancies.

One more reason for choosing the echotexture analysis is that we do not need any further examinations of the dogs. The echotexture analysis is a method, which uses the images made during B-mode sonography to confirm pregnancy, no further manipulation of the patients is necessary.

8. Abkürzungsverzeichnis

P ..... *Signifikanz*
ROI ..... *Region of interest*
SD ..... *Standardabweichung*
X ..... *Mittelwert*

9. Literaturverzeichnis

Aralla M, Groppetti D, Caldarini L, Cremonesi F, Arrighi S. 2013. Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. Research in Veterinary Science, 95 (1): 15–22. DOI 10.1016/j.rvsc.2013.02.003.

Batista PR, Gobello C, Rube A, Barrena JP, Re NE, Blanco PG. 2018. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. Theriogenology, 114: 81–84. DOI 10.1016/j.theriogenology.2018.03.015.

Blanco PG, Arias DO, Gobello C. 2008. Doppler Ultrasound in Canine Pregnancy. Journal of Ultrasound Medicine, 27: 1745–1750. DOI 10.7863/jum.2008.27.12.1745.

Bönhof J. 2012. TGC reloaded – Grundlagen, Anwendungen und Möglichkeiten. Weshalb ein Untersucher den Bildparameter Tiefenausgleich genau kennen sollte. Ultraschall Med, 33 (S 02): A1110.

Cengiz M, Kanca H, Salar S, Bastan A, Kucukaslan I, Alkan H, Karakas K, Yuksel O, Hayirli A. 2014. Endometrial echotexture parameters in Turkish Saanen Goats (Akkeci) during oestrus and early pregnancy. Animal Reproduction Science, 146 (1-2): 27–33. DOI 10.1016/j.anireprosci.2014.02.004.

Concannon PW. 2011. Reproductive cycles of the domestic bitch. Animal Reproduction Science, 124 (3-4): 200–210. DOI 10.1016/j.anireprosci.2010.08.028.

Davidson AP, Baker TW. 2009. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. Topics in Companion Animal Medicine, 24 (2): 55–63. DOI 10.1053/j.tcam.2008.11.002.

Di Salvo P, Bocci F, Zelli R, Polisca A. 2006. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. Research in Veterinary Science, 81 (3): 382–388. DOI 10.1016/j.rvsc.2006.03.004.

Du Plessis WM. 2013. Sono-Grundkurs für Tiermediziner. Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze- verstehen, erkennen, interpretieren. Erste Aufl. Stuttgart: Schattauer GmbH.

Enders AC, Carter AM. 2004. What can comparative studies of placental structure tell us?--A review. Placenta, 25 Suppl A: S3–9. DOI 10.1016/j.placenta.2004.01.011.

Freeman SL, Russo M, England GCW. 2013. Uterine artery blood flow characteristics assessed during oestrus and the early luteal phase of pregnant and non-pregnant bitches. Veterinary Journal (London, England: 1997), 197 (2): 205–210. DOI 10.1016/j.tvjl.2013.02.015.

Georg Thieme Verlag. 2017. Merkblatt Wichtige Geräteeinstellungen. Ultraschall Med, 38 (01): 106–107. DOI 10.1055/s-0043-101383.

Giannico AT, Garcia DAA, Gil EMU, Sousa MG, Froes TR. 2016. Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches. Theriogenology, 86 (7): 1654–1661. DOI 10.1016/j.theriogenology.2016.03.042.

Graubner FR, Boos A, Aslan S, Kücükaslan I, Kowalewski MP. 2018. Uterine and placental distribution of selected extracellular matrix (ECM) components in the dog. Reproduction (Cambridge, England), 155 (5): 403–421. DOI 10.1530/REP-17-0761.

Hecht S. 2012. Röntgendiagnostik in der Kleintierpraxis. Zweite Aufl. Stuttgart: Schattauer GmbH.

Huber S, Danes J, Zuna I., Teubner J., Medl M., Delorme S. 2000. Relevance of sonographic B-mode criteria and computer-aided ultrasonic tissue characterization in differential/diagnosis of solid breast masses. Ultrasound in Medicine & Biology, 26 (8): 1243–1252.

Jenderka K-V, Delorme S. 2019. Quantitative Verfahren in der Sonographie. Der Radiologe, 59 (11): 1019–1034. DOI 10.1007/s00117-019-00602-3.

Kowalewski MP, Tavares Pereira M, Kazemian A. 2020. Canine conceptus-maternal communication during maintenance and termination of pregnancy, including the role of species-specific decidualization. Theriogenology, 150: 329–338. DOI 10.1016/j.theriogenology.2020.01.082.

Lopate C. 2008. Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. Theriogenology, 70 (3): 397–402. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.05.034.

Lopate C. 2018. Gestational Aging and Determination of Parturition Date in the Bitch and Queen Using Ultrasonography and Radiography. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, 48 (4): 617–638. DOI 10.1016/j.cvsm.2018.02.008.

Miglino MA, Ambrósio CE, dos Santos Martins D, Wenceslau CV, Pfarrer C, Leiser R. 2006. The carnivore pregnancy: the development of the embryo and fetal membranes. Theriogenology, 66 (6-7): 1699–1702. DOI 10.1016/j.theriogenology.2006.02.027.

Miranda SA, Domingues SFS. 2010. and triplex Doppler ultrasonography of uterine and umbilical arteries for assessment of fetal viability in dogs. Theriogenology, 74 (4): 608–617. DOI 10.1016/j.theriogenology.2010.03.008.

Mülazimoglu SB, Beceriklisoy HB, Schäfer-Somi S, Kaya M, Bumin A, Özenc E, Gültiken N, Kanca H, Günen MZ, Kutsal O, Emre B, Evangelos K, Aslan S. 2016. B-Mode Echotexture Analysis and Color Doppler Sonography in Canine Mammary Tumors. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 22 (6): 961–969. DOI 10.9775/kvfd.2016.15686.

Orlandi R, Vallesi E, Boiti C, Polisca A, Troisi A, Righi C, Bargellini P. 2019. Contrast-enhanced ultrasonography of maternal and fetal blood flows in pregnant bitches. Theriogenology, 125: 129–134. DOI 10.1016/j.theriogenology.2018.10.027.

Pierson RA, Adams GP. 1995. Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: strange bedfellows. Theriogenology, 43 (1): 105–112. DOI 10.1016/0093-691X(94)00014-L.

Poulsen Nautrup C, Tobias R. 2007. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. Vierte Aufl. Hannover: Schlütersche.

Rensis Fd, Bigliardi E, Parmigiani E, Peters AR. 2000. Early diagnosis of pregnancy in sows by ultrasound evaluation of embryo development and uterine echotexture. Veterinary Record, 147 (10): 267–270. DOI 10.1136/vr.147.10.267.

Rodrigues Simões AP, Rossi Feliciano MA, Maronezi MC, Uscategui RAR, Bartlewski PM, Almeida VT de, Oh D, do Espírito Santo Silva P, da Silva LCG, Russiano Vicente WR. 2018. Elastographic and echotextural characteristics of foetal lungs and liver during the final 5 days of intrauterine development in dogs. Animal Reproduction Science, 197: 170–176. DOI 10.1016/j.anireprosci.2018.08.025.

Root Kustritz MV. 2005. Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog. Theriogenology, 64 (3): 755–765. DOI 10.1016/j.theriogenology.2005.05.024.

Schäfer-Somi S, Kowalewski MP, Kanca H, Bozkurt MF, Gram A, Sabitzer S, Kucukaslan I, Ay SS, Aslan S. 2015. GnRH and its receptor (GnRH-R) are expressed in the canine placenta and uterus. Theriogenology, 84 (9): 1482–1489. DOI 10.1016/j.theriogenology.2015.07.034.

Schäfer-Somi S, Mülazimoglu B, Arlt S, Ergene O, Darbaz I, Aslan S. 2019. Echostructure analysis of canine benign prostate gland hyperplasia and chronical prostatitis reveals significant differences. Reproduction in Domestic Animals, (54): S2 60.

Schäfer-Somi S, Mülazımoğlu SB, Ergene O, Darbaz İ, Aslan S. 2018. B-mode Echotexture Analysis of Benign Prostate Gland Hyperplasia before and after treatment. 21st International EVSSAR Congress, Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats and Small Companion Animals, Venice (I), 22.-23.6.2018: S.225-226.

Schnorr B, Kressin M. 2019. Embryologie der Haustiere. Siebte Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Scully S, Butler ST, Kelly AK, Evans ACO, Lonergan P, Crowe MA. 2014. Early pregnancy diagnosis on days 18 to 21 postinsemination using high-resolution imaging in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 97 (6): 3542–3557. DOI 10.3168/jds.2013-7518.

Sigrist N. 2017. Notfallmedizin für Hund und Katze. Sofortmaßnahmen und sichere Aufarbeitung. Erste Aufl. Stuttgart: Enke.

Yeager AE, Mohammed HO, Meyers-Wallen V, Vannerson L, Concannon PW. 1992. Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in Beagles. American Journal of Veterinary Research, 53 (3): 342–351.

10. Abbildungs-/ Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Gestationssack eines Hundes am 45. Trächtigkeitstag. 5
Abbildung 2: Aufbau der Plazenta eines Hundes im fortgeschrittenen Stadium 6
Abbildung 3:Ultraschallbilder. 8
Abbildung 4: Doppler-Sonografie von Uterus und Umbilikalarterien einer Hündin 4 Tage vor der Geburt. 9
Abbildung 5: Röntgenaufnahme im Endstadium der Trächtigkeit. 10
Abbildung 6: Kontrastmittelverfahren. 11
Abbildung 7: Elastografie. 12
Abbildung 8: Ultraschallbild am 25. Tag der Trächtigkeit. Der Embryo ist von der Uteruswand separiert und von seinen Fruchthüllen umgeben. 18
Abbildung 9:Ultraschallbild am 40. Tag der Trächtigkeit. Der Fetus hat an Größe zugenommen und die Plazenta zeigt ihre typische Schichtung. 18
Abbildung 10: Vergleich von Contrast und Mean Grey Value zwischen der postimplantatorischen Zeit (Tag 18-25) und der Graviditätsmitte (Tag 26-40). 21

Tabelle 1: Mittelwerte, Standabweichungen und Signifikanz der untersuchten Parameter 20