

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

Julia Kretzschmar

München 2004

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. U. Matis  
Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. R. Stolla

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

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig – Maximilians – Universität München

von  
Julia Kretzschmar  
aus München

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Korreferent	Univ.-Prof. Dr. H. Gerhards

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Meinen Eltern

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	S. 1
<b>2</b>	<b>Literatur</b>	S. 2
2.1	Der Uterus des Pferdes unter physiologischen Bedingungen	S. 2
2.1.1	Die makroskopische Anatomie des Uterus	S. 2
2.1.2	Der mikroskopische Bau des Endometriums	S. 2
2.2	Der Zyklus der Stute unter physiologischen Bedingungen	S. 3
2.3	Grundlagen der computergestützten Echostrukturanalyse	S. 5
2.3.1	Prinzip der Ultrasonographie	S. 5
2.3.2	Möglichkeiten der Bildbearbeitung (Processing)	S. 6
2.3.3	Echostrukturanalyse sonographischer Bilder	S. 7
2.3.4	Echostrukturparameter	S. 8
2.3.5	Grauwertstatistiken erster Ordnung	S. 10
2.3.6	Gradientenstatistiken erster Ordnung	S. 11
2.3.7	Statistiken aus der Grauwertabhängigkeitsmatrix	S. 11
2.3.8	Verlaufslängenstatistiken	S. 12
2.4	Einsatz der computergestützten Echostrukturanalyse in der Gynäkologie der Humanmedizin	S. 13
2.5	Einsatz der computergestützten Echostrukturanalyse in der Tiermedizin	S. 14
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	
3.1	Tiere	S. 16
3.2	Geräte	S. 16
3.3	Versuchsanordnung	S. 16
3.3.1	Rektale gynäkologische Ultraschalluntersuchung	S. 17
3.3.2	Auswertung der Ultraschallbilder mittels computergestützter Echotexturanalyse	S. 17
3.3.3	Auswertung der ROIs	S. 19
3.3.4	Statistische Auswertung	S. 19
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	
4.1	Reproduzierbarkeit ausgewählter Parameter der Echostrukturanalyse	S. 20
4.1.1	Gewichtung der Variablen bei der Echostrukturanalyse	S. 20

4.1.2	Unterschiede zwischen linkem und rechtem Uterushorn	S. 21
4.1.3	Abhängigkeit der Ergebnisse der Echostrukturanalyse von der Platzierung der ROIs	S. 26
4.1.4	Abhängigkeit der Ergebnisse der Echostrukturanalyse von der Größe der ROIs	S. 28
4.1.5	Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Stuten	S. 30
4.2	Ergebnisse im Verlauf des Zyklus	S. 31
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	
5.1	Eignung des Untersuchungsverfahrens	S. 37
5.1.1	Einfluss der Variablen	S. 38
5.1.2	Wiederholbarkeit der Untersuchungen	S. 39
5.2	Korrelation der Ergebnisse mit dem Zyklusverlauf	S. 42
5.3	Schlussfolgerungen	S. 43
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	S. 45
<b>7</b>	<b>Summary</b>	S. 47
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	S. 49

# 1 Einleitung

Zum Thema Echostrukturanalyse am Endometrium der Stute sind bereits etliche Arbeiten erschienen. Auffällig ist jedoch, dass die zur Auswertung angewandten Methoden teilweise sehr unterschiedlich sind. Da auch die Ergebnisse dieser Publikationen in manchen Teilen abweichen, stellte sich die Frage, ob dies eventuell durch die Methodik bedingt sein könnte. Tatsächlich gibt es noch keine grundlegende Arbeit, die sich ausschließlich damit beschäftigt, die Methoden und deren Reproduzierbarkeit zu überprüfen. Das Gebiet der Echostrukturanalyse ist nicht nur zur Zyklusdiagnostik, sondern vor allem für die Untersuchung pathologischer Zustände am Endometrium der Stute äußerst reizvoll. Um pathologische Zustände untersuchen zu können, ist es wichtig, zunächst zu überprüfen, welche Faktoren die Ergebnisse der Echostrukturanalyse im physiologischen Zyklus beeinflussen. Anzustreben ist eine Untersuchungsmethode, bei der die Schwankungen in den Ergebnissen, die nicht den untersuchten Variablen zuzuordnen sind, möglichst gering werden. Letztendlich soll diese Arbeit zu einer Standardisierung des Untersuchungsverfahrens beitragen, um die Ergebnisse unterschiedlicher Studien vergleichen zu können. Deshalb erschien es interessant und notwendig, einen Schritt zurück zu gehen und zunächst die Methode zu überprüfen.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit entstand zudem ein Computerlernprogramm mit dem Titel „Gynäkologische Ultraschalluntersuchung der Stute“, das den Studierenden der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München auf dem Server der Fakultät zur Verfügung steht. Die zahlreichen Bilder und Videos in dem Lernprogramm sollen dabei helfen, sich in diese, für viele schwierige Materie einzuarbeiten, bevor das Untersuchen selbst geübt wird.

## 2 Literatur

### 2.1 Der Uterus des Pferdes unter physiologischen Bedingungen

#### 2.1.1 Die makroskopische Anatomie des Uterus

Die Gebärmutter wird auch als Metra oder Hystra bezeichnet. Auf ihre Anatomie soll hier nur insoweit eingegangen werden, als es zum Verständnis der vorliegenden Arbeit nötig. Die Uterusform wird als Uterus bicornis bezeichnet; folgende Abschnitte sind, von kaudal betrachtet, zu unterscheiden:

- Gebärmutterhals, Cervix uteri
- Gebärmutterkörper, Corpus uteri
- Gebärmutterhörner, Cornua uteri

Der Uteruskörper ist etwa 2,5 cm lang und ragt von der Beckenhöhle in die Bauchhöhle. Seine dorsale Fläche steht teilweise in Kontakt mit dem Rektum, die ventrale Fläche liegt der Blase auf.

Die in etwa ebenso langen, divergierenden Cornua uteri liegen dorsal von Dick- und Dünndarmteilen und ventral der Lendenmuskulatur. Das flächig ausgedehnte Gekröse des Uterus, das Mesometrium, entspringt aus dem dorsalen Bereich des peritonealen Teils der Seitenwand der Beckenhöhle und, am Übergang zum Gekröse des Eileiters und des Eierstocks, aus der Serosa der Lendengegend, etwa auf der Höhe des 3. bis 4. Lendenwirbels bis zum 4. Kreuzbeinwirbel (ÜBERMUTH et al. 1998; SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1987).

#### 2.1.2 Der mikroskopische Bau des Endometriums

Die Wand der Gebärmutter setzt sich mikroskopisch–anatomisch, vom Lumen nach außen, aus folgenden Schichten zusammen:

- Uterusschleimhaut, Endometrium, mit
  - Oberflächenepithel, Lamina epithelialis
  - Stroma endometrialis, Lamina propria mucosae

- Stratum compactum
- Stratum spongiosum
- Muskelschicht, Myometrium
  - innere, zirkuläre Muskelschicht, Stratum musculare circulare
  - Gefäßschicht, Stratum vasculosum
  - äußere, longitudinale Muskelschicht, Stratum musculare longitudinale
- Bauchfellüberzug, Perimetrium (ÜBERMUTH et al. 1998).

Da in dieser Arbeit das Endometrium, die Uterusschleimhaut, untersucht wurde, soll auf dessen histologischen Bau und seine zyklischen Veränderungen näher eingegangen werden:

Das Oberflächenepithel des Endometriums ist einschichtig und hochprismatisch. Die Zellen können, in Abhängigkeit vom Zyklusstand, Kinozilien tragen (ÜBERMUTH et al. 1998).

Die darunter liegende Bindegewebsschicht, Lamina propria mucosae, enthält in einer großen Zahl Uterusdrüsen, Gll. uterinae, die bei der Stute besonders stark tubulär verzweigt sind (LIEBICH 1993). Diese bilden unter Progesteroneinfluss während der Sekretionsphase im Metöstrus ein eiweißreiches Sekret, das ein Teil der Histiotrophe ist, die dem Keimling bis zur Anlage des embryonalen Gefäßsystems als Nahrung dient (ÜBERMUTH et al. 1998). Sie sind in dieser Zyklusphase stärker geschlängelt; die Wand der Drüsen ist von einem einschichtigen hochprismatischen Epithel ausgekleidet.

Unter Östrogeneinfluss, in der Proliferationsphase, also in Proöstrus und Östrus, sind die Schlauchdrüsen gestreckt, die Lumina sind verengt und die Anzahl der Epithelzellen ist vermehrt. Die interzellulären Spalträume erweitern sich und sind dicht vaskularisiert. Die Zellen des spinozellulären Bindegewebes bilden vermehrt Kollagenfasern. Das Gewebe schwillt insgesamt durch Aufnahme von Interzellularflüssigkeit an, das Endometrium wird dicker (LIEBICH 1993).

## 2.2 Der Zyklus der Stute unter physiologischen Bedingungen

Der Zyklus der Stute ist ein regelmäßig wiederkehrendes Muster physiologischer Ereignisse und des Verhaltens (ROSSDALE und RICKETTS 1980). Stuten

sind saisonal polyöstrisch, manche Stuten zeigen das ganze Jahr über einen Sexualzyklus, viele Stuten sind im Winter anöstrisch.

Der Zyklus gliedert sich in den durchschnittlich 14,9 (12,1 bis 16,3) Tage andauernden Diöstrus und den durchschnittlich 6,5 (4,5 bis 8,9) Tage währenden Östrus (GINTHER 1979). Während des Östrus zeigt die Stute Rosseanzeichen und duldet den Hengst: Es werden ein bis mehrere Follikel angebildet, die Ovulation erfolgt gegen Ende des Östrus. Der Tag der Ovulation wird üblicherweise als Tag 0 bezeichnet. Die Ovulation kündigt sich durch Erhöhung der Wandstärke des Follikels sowie durch dessen Entrundung an (GASTAL et al. 1998). Einen Tag vor der Ovulation zeigen 96% der Follikel einen Durchmesser von 36 mm bis 50 mm (PIERSON und GINTHER 1985). Die Ovulation erfolgt aufgrund der besonderen anatomischen Verhältnisse des equinen Ovars, bei dem die Zona parenchymatosa innen und die Zona vasculosa außen liegt, auf der begrenzten Fläche der Ovulationsgrube (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1987).

Im Östrus zeigen Stuten im Ultraschallbild deutliche Endometriumsfalten („Radspeichenmuster“, Abb. 2.1) oder ein Übergangsstadium, im Diöstrus (Abb.2.2) ist hingegen kein „Radspeichenmuster“ erkennbar (GINTHER und PIERSON 1984).



Abb. 2.1: Uterus im Östrus, deutliche Ödematisierung („Radspeichenmuster“)



Abb. 2.2: Uterus im Diöstrus, kein „Radspeichenmuster“ erkennbar

Auch die Durchmesser der Uterushörner variieren im Verlauf des Zyklus: von Tag 16 bis 22 ist der mittlere Durchmesser höher als von Tag 1 bis 14 (GRIFFIN und GINTHER 1991).

## 2.3 Grundlagen der computergestützten Echostrukturanalyse

### 2.3.1 Prinzip der Ultrasonographie

Die erste Anwendung von Ultraschall zur transrektalen Untersuchung beim Großtier wurde 1980 beschrieben (PALMER und DRIANCOURT 1980). Seither ist die transrektale Ultraschalluntersuchung zum Standarddiagnostikum in der Pferdegynäkologie avanciert (LEIDL 1993). Auf die physikalischen Grundlagen der Ultrasonographie soll hier nur kurz eingegangen werden.

Ultraschall ist definiert als Schallwelle mit einer Frequenz von mehr als 20 000 Hz. Diagnostischer Ultraschall bedient sich Frequenzen von 1 bis 10 MHz. Er entsteht durch Anlegen von Wechselstrom an einen piezoelektrischen Kristall. Dessen spezielle Eigenschaft ist es, sich bei Einwirkung von Spannung zu komprimieren und bei Spannungsabfall wieder auszudehnen. Es werden kurze Ultraschallpulse erzeugt, in der Ruhephase zwischen den Pulsen dient die Ultraschallsonde auch als Empfänger für Ultraschallwellen: Die Kraft der vom Gewebe reflektierten Wellen lässt den Kristall schwingen, dadurch entstehen elektrische Signale, die benutzt werden, um das Gewebe bildlich darzustellen. Die Verzögerung zwischen Aussenden und Eintreffen der Signale dient dazu, die Entfernung des reflektierenden Materials von der Ultraschallsonde zu berechnen. Luft und sehr dichtes Gewebe, wie z.B. Knochen, leiten Ultraschallwellen nicht, sie werden im hohen Maß reflektiert. Dies stellt sich im Ultraschallbild weiß dar. Flüssigkeiten hingegen reflektieren die Schallwellen nicht oder kaum, sie erscheinen schwarz.

Es werden der B-mode („B“ von brightness), in dem das Ultraschallbild durch die zweidimensionale Anordnung von Punkten entsteht, und der M-mode („M“ von motion) unterschieden, der zur Darstellung von Bewegungen dient: Im M-mode werden die Veränderungen (sprich Bewegungen) von Strukturen einer Fokusebene an einer Zeitachse aufgetragen.

Zudem gibt es die Dopplersonographie, die ermöglicht, Strömungen von z.B. Blut in Gefäßen darzustellen und zu messen (GINTHER 1995).

### 2.3.2 Möglichkeiten der Bildbearbeitung (processing)

Ultraschallbilder können durch den Untersucher über unterschiedliche Geräteeinstellungen modifiziert werden. Es wird zwischen der Signalvorbereitung, dem Preprocessing und der Signalnachbearbeitung, dem Postprocessing, unterschieden (GINTHER 1979, EBERSPÄCHER 1991).

Die Beeinflussung der Signalverarbeitung vor dem Digitalisieren und Speichern eines Bildes wird als Preprocessing bezeichnet. Dazu zählt die Tiefenausgleichsverstärkung, die dazu dient, dass das Gewebe im gesamten Schallbereich ohne Dämpfungsverlust in gleichmäßig hoher Qualität dargestellt wird. Hierbei wird die Echoamplitude in Abhängigkeit zur Eindringtiefe verstärkt.

Weitere Arten der Signalvorbereitung sind die Dynamikbereicheinstellung und die Enhancement-Einstellung, die eine Kantenanhebung im Ultraschallbild ermöglicht. Dies führt zu einer Kontrastverstärkung im Ultraschallbild. Dadurch werden Bilddetails deutlicher. Dies beeinflusst naturgemäß die Ergebnisse der Echostrukturanalyse, so dass auf immer gleiche Gerätevoreinstellungen geachtet werden muss (LIEBACK 1991). Auch die physikalische Schallkopfcharakteristik beeinflusst die Ergebnisse. Die Korrelation bei der Untersuchung desselben Patienten mit unterschiedlichen Geräten am gleichen Tag ist niedriger (zwischen 0,56 und 0,74) als bei der Nachuntersuchung mit demselben Gerät eine Woche später, bei der die Korrelation zwischen 0,72 und 0,80 liegt. Daraus folgt, dass zurzeit noch für jedes Gerät eigene Referenzwerte erarbeitet werden müssen (DELORME und ZUNA 1995).

Die Fokussierung der Schallkeule, die eine Optimierung des Bildes in einer vom Untersucher gewählten Tiefe ermöglicht, ist bei der Echotexturanalyse nicht zulässig. Gerade bei sehr hochwertigen Ultraschallgeräten kann dies aber zu einer starken Streuung der Ergebnisse führen, weil diese stärker fokussieren. Geräte mit homogen „mittelmäßiger“ Qualität weisen hier geringere Probleme auf.

Als Postprocessing werden Veränderungen bezeichnet, die durch die Signalverarbeitung nach dem Digitalisieren entstehen. So ermöglicht eine bestimmte

Einstellung kleinste Echosignale zu unterdrücken und somit ein ständiges Hintergrundrauschen zu verhindern. Allerdings werden mit der „Reject“- Einstellung auch schwache Signale der tatsächlichen Schallechos herausgefiltert (DELORME und ZUNA 1995). Ebenfalls zum Postprocessing gehört die Gammakorrektur, mit deren Hilfe der nichtlineare Zusammenhang zwischen Eingangsspannung und Helligkeitswiedergabe auf dem Bildschirm ausgeglichen werden kann (HERMES 1997).

### 2.3.3 Echostrukturanalyse sonographischer Bilder

Unter der Textur eines B-Bildes sollen in diesem Zusammenhang seine lokalen Eigenschaften verstanden werden, die kaum oder nicht mehr durch auflösbare anatomische Details bedingt sind. Helligkeit der Bildpunkte, ihre Kontraste und Homogenität machen die Textur in bestimmten Bildbereichen aus. Diese Texturinformation wird als zu komplex angesehen, als dass ein Untersucher allein visuell in der Lage wäre, sie aufgrund des Bildeindrucks zu erfahren (DELORME und ZUNA 1995). Das menschliche Auge vermag bis zu 25 Grautöne zu unterscheiden, nur unter den Bedingungen des Dämmerungs- und Nachtsehens nach Adaption bis 60 (GEBEL 2000). Ein B-Bild kann aber maximal 256 Grautöne enthalten. Ein Ultraschallbild setzt sich aus zahlreichen, irregulär angeordneten hellen oder dunklen Flecken zusammen. Diese Flecken werden „Speckles“ genannt und bestehen aus einzelnen Pixeln, den kleinsten Bildelementen, deren Größe vom Auflösungsvermögen des Bildschirms abhängt. Der Untersucher kann die Speckles im Gegensatz zum Computer als zusammengehörende Struktur erkennen, die Analyse der Pixel bleibt hingegen dem Computer vorbehalten.

In dem Ultraschallbild wird eine bestimmte Region ausgewählt, die analysiert wird. Diese wird als ROI (region of interest) bezeichnet. Je nach Echotexturanalyseprogramm sind Größe und Form dieser Fläche frei wählbar.

Der Vorteil der computergestützten Analyse liegt im besseren „Gedächtnis“, der Objektivität und Schnelligkeit. Diese Systeme benötigen aber streng standardisierte Aufnahmebedingungen, was zu mangelnder Flexibilität führt; sie sind nicht in der Lage, Artefakte oder anatomische Strukturen zu differenzieren (DELORME und ZUNA 1995).

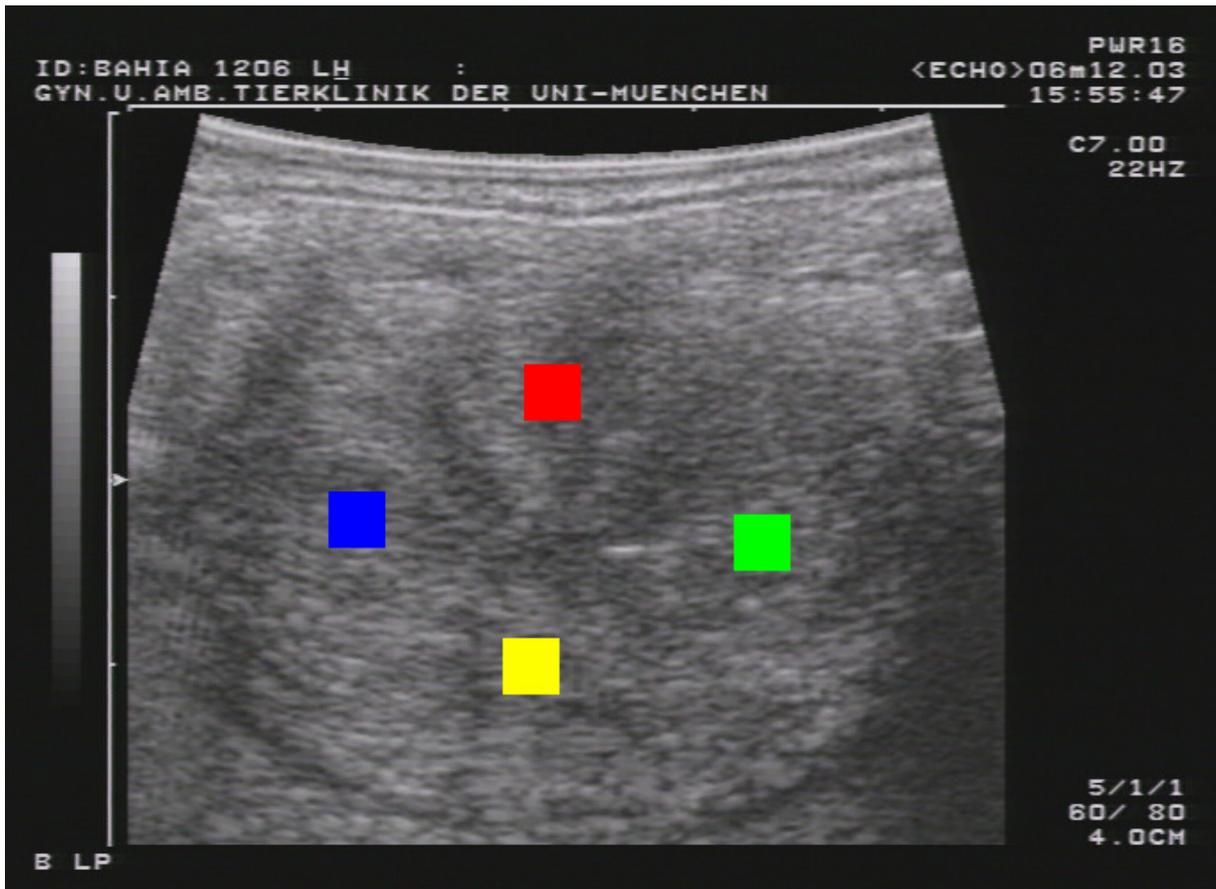


Abb. 2.3: Ultraschallbild eines Uterusquerschnitts mit 4 ROIs à 32x 32 Pixel

#### 2.3.4 Echostrukturparameter

Bei der Beschreibung der Textur werden üblicherweise folgende visuelle Kriterien verwendet:

- Bildhelligkeit: wie hell oder dunkel sind die Speckles (mittlerer Grauwert)? (Abb. 2.4)
- Kontrast: wie groß sind die Helligkeitsunterschiede direkt benachbarter Speckles? (Abb. 2.4)
- Körnigkeit oder Grobheit: welche Größe haben die Speckles? (Abb. 2.5)
- Homogenität: sind die drei vorstehend genannten Kriterien in verschiedenen Abschnitten des untersuchten Bildes ähnlich oder verschieden ausgeprägt? (Abb. 2.6)

Der mittlere Grauwert wird berechnet, indem jeder Graustufe eine Zahl von 0 bis 255 zugeordnet wird und die Summe dieser Zahlen durch die Anzahl der ausgewerteten

Pixel geteilt wird. In Untersuchungen über den Zusammenhang von visuellen und statistischen Echostrukturparametern korrelierten der – statistisch berechnete – mittlere Grauwert (Kap. 2.3.5) mit dem visuellen Kriterium Echogenität. Zudem korrelierte der mittlere Gradient (statistisch, Kap. 2.3.6) mit Körnigkeit (visuell), die Abschnittszuteilung (statistisch, Kap. 2.3.8) mit Homogenität (visuell) und Entropie (statistisch, Kap. 2.3.7) mit dem visuellen Eindruck Kontrast (DELORME und ZUNA 1995).

Die statistischen Texturparameter sollen anhand dieser Begriffe nachfolgend erläutert werden.

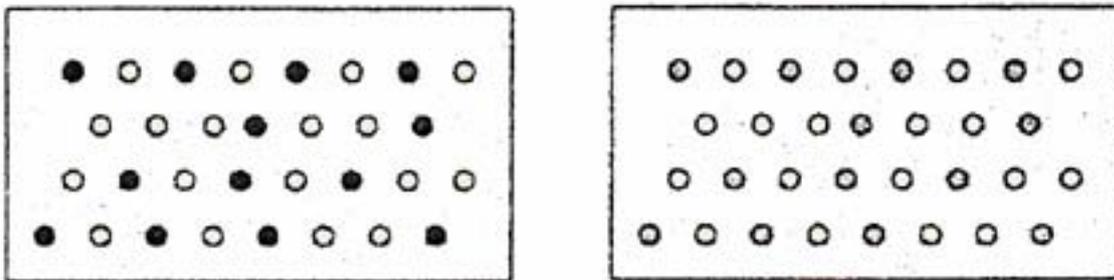


Abb. 2.4: Bildhelligkeit und Kontrast: Beispiel für hohen Kontrast (linkes Bild, schwarz – weiß) und niedrigen Kontrast (rechtes Bild, grau – weiß). Zudem ist das rechte Bild insgesamt heller. (nach DELORME und ZUNA 1995)

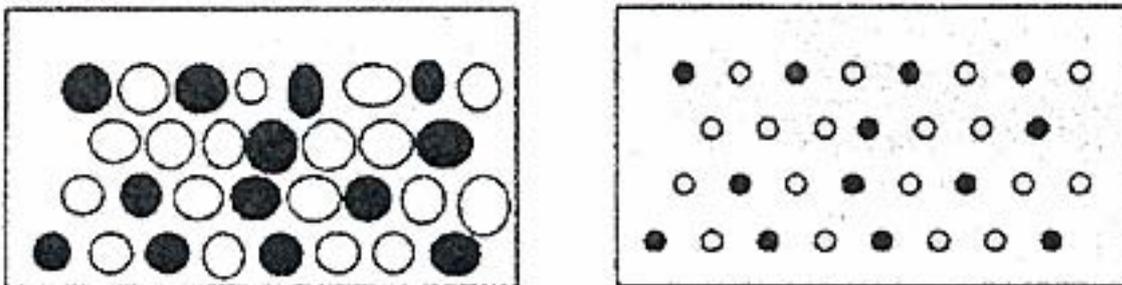


Abb. 2.5: Körnigkeit: Beispiel für ein grobkörniges Bild (links) und ein feinkörniges Muster (rechts). (nach DELORME und ZUNA 1995)

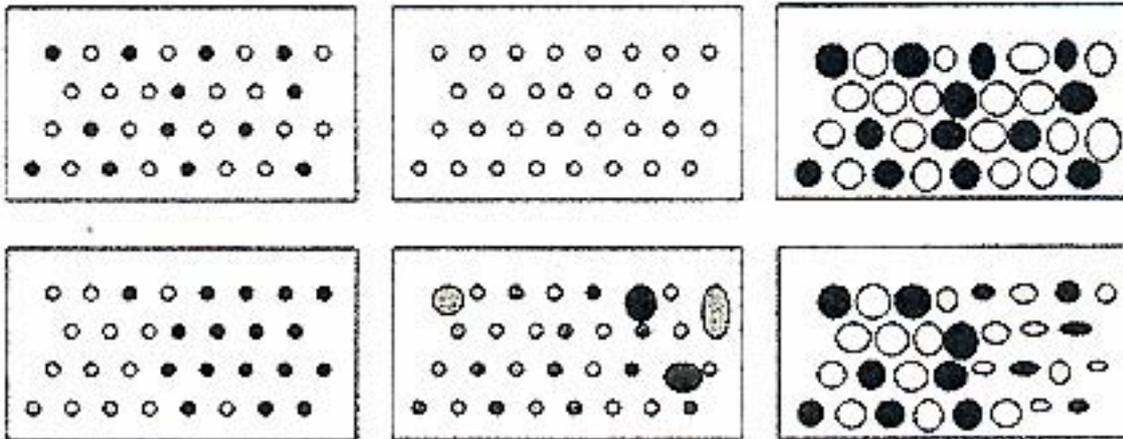


Abb. 2.6: Homogenität: Die obere Reihe zeigt unterschiedliche Kontraste und Körnigkeit mit homogener Verteilung über das Bild. Die untere Reihe zeigt Bilder mit inhomogener Struktur: links Unterschiede der Helligkeit, Mitte Unterschiede der Körnigkeit und der Kontraste, rechts inhomogene Körnigkeit. (nach DELORME und ZUNA 1995)

### 2.3.5 Grauwertstatistiken erster Ordnung

Grauwertstatistiken erster Ordnung, ein Begriff, der von DELORME und ZUNA geprägt wurde, geben die Bildhelligkeit des ausgewählten Bildausschnitts wieder (DELORME und ZUNA 1995). Die Beziehung der Grauwerte untereinander hingegen wird bei diesen Parametern nicht erfasst (Huber et al. 2000), es handelt sich um eine globale Beschreibung der Textur im ausgewählten Bereich (DELORME und ZUNA 1995). Aus den Häufigkeitsverteilungen des Grauwertspektrums lassen sich folgende Parameter ableiten:

- der Mittelwert als Ausdruck der Bildhelligkeit
- die Standardabweichung der Grauwerte gibt ihre Streuung wieder
- die Schiefe und Wölbung als Maße für die Histogrammform
- die Extremwerte als Maß für die Spannweite des Grauwertspektrums
- der Modalwert als am häufigsten vorkommender Grauwert
- Quantile als Maß für die prozentuale Häufigkeitsverteilung der Graustufen im Histogramm: der Median entspricht dem 50 %-Quantil.

Allerdings werden diese Parameter, die in bestimmten Ultraschallgeräten bereits direkt berechnet werden können, nicht benutzt, da ein klinischer Bezug bis jetzt noch nicht erkannt ist (GEBEL 2000).

### 2.3.6 Gradientenstatistiken erster Ordnung

Diese Parameter beschreiben den lokalen Kontrast, die Mikrostruktur (HUBER et al. 2000), sowie Kanten zwischen hellen und dunklen Pixeln. In der visuellen Beurteilung werden diese Kriterien mit Kontrast und Körnigkeit (Abb. 2.5 und 2.6) beschrieben. Wichtige Parameter sind der mittlere Gradientenbetrag, die Gradientenvarianz und die relative Häufigkeit von Kantenelementen (DELORME und ZUNA 1995).

### 2.3.7 Statistiken aus der Grauwertabhängigkeitsmatrix

Neben den Statistiken erster Ordnung gibt es die Grauwertabhängigkeitsmatrix und die Verlaufslängenstatistiken. Bei der Grauwertabhängigkeitsmatrix werden die Beziehungen zwischen Pixelpaaren in vordefinierten Abständen und Winkeln betrachtet (HUBER et al. 2000). Bestimmte Echostrukturanalyseprogramme untersuchen automatisch alle möglichen Vektoren. Das bedeutet, dass 2 Pixel mit einem festgelegten Abstand und einem bestimmten Winkel zueinander verglichen werden. Dies wird in Abb. 2.7 verdeutlicht: mit Z ist das erste Pixel bezeichnet, mit N, O, S und W die Pixel im Abstand 1 mit den Winkeln  $0^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $180^\circ$  und  $270^\circ$ . Das in dieser Arbeit verwandte Echostrukturprogramm rechnet mit 1 bis 5 Pixel Abstand und den Winkeln  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  und  $135^\circ$  (SZCZYPINSKI et al. 2001).

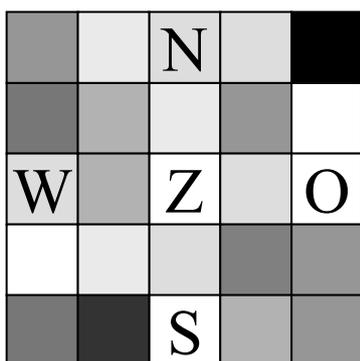


Abb. 2.7: Beschreibung der Textur durch Vektoren

Alle Pixel in dem ausgewählten Bereich des Bildes werden in solche Paare eingeteilt. Die Matrix ist eine zweidimensionale Häufigkeitsverteilung über die Kombination der Grauwerte der Pixelpaare. Die Matrix selbst wird nun einer statistischen Auswertung unterzogen. Daraus ergeben sich die (statistischen) Parameter Kontrast (zu unter-

scheiden von dem visuellen Kriterium Kontrast), Homogenität, Entropie und Korrelation (DELORME und ZUNA 1995, HUBER et al. 2000).

Der Kontrast im ausgewählten Bildbereich ist umso höher, je größer die Grauwertunterschiede sind, kleine Werte ergeben sich bei weichen Strukturen. Die Homogenität ist hoch, wenn die Werte der Grauwertabhängigkeitsmatrix in einem engen Grauwertbereich liegen, also nur eine geringe Zahl von Grauwerten vorkommt. Die Korrelation schließlich misst die Linearität der Beziehung in den Grauwertpixelpaaren (RÄTH et al. 1985).

Die oben genannten Werte beschreiben die Mikrostruktur, aber auch grobkörnige Strukturen und teilweise auch die Homogenität. Zusammengenommen wird dies als die Beschreibung der Makrostruktur bezeichnet (DELORME und ZUNA 1995).

Die in dieser Arbeit zur Auswertung der ROIs herangezogenen Formeln für Homogenität, Kontrast und Korrelation wurden von SZCZYPINSKI et al. 2001 entwickelt.

### 2.3.8 Verlaufslängenstatistiken

Verlaufslängenstatistiken beschreiben hauptsächlich die Homogenität und damit einen weiteren Aspekt der Makrostruktur. Dabei wird das Bild zeilen- und spaltenweise abgefahren und überprüft, wie lang ununterbrochene Ketten ähnlicher Grauwerte sind. Jede Kette liefert ein Zahlenpaar aus Grauwert und Kettenlänge. Durch Auftragen der Häufigkeiten der Zahlenpaare in einem zweidimensionalen Histogramm entsteht wiederum eine Matrix. Die Statistik der Verlaufslängenmatrix liefert die Parameter Verlaufsstückelung, Verlaufslängenbetonung, Abschnittszuteilung und Längenzuteilung (DELORME und ZUNA 1995). Bei dem Echostrukturprogramm MaZda werden nicht nur Zeilen und Spalten (horizontal und vertikal), sondern auch Reihen im 45°- und 135°-Winkel untersucht (SZCZYPINSKI et al. 2001). Die Verlaufslängenstatistiken dienen zur Beschreibung der Makrostruktur, die mit dem visuellen Kriterium der Homogenität vergleichbar ist (DELORME und ZUNA 1995).

## 2.4 Einsatz der computergestützten Echostrukturanalyse in der Gynäkologie der Humanmedizin

Bereits seit 1987 wird die Graustufenanalyse in der Gynäkologie der Humanmedizin als Diagnostikum verwandt. Erstes Einsatzgebiet war die Beurteilung der Plazenta auf Schädigungen, die durch Tabakkonsum oder altersbedingt eintreten können. Auch ein schwangerschaftsassoziierter Bluthochdruck konnte so frühzeitig erkannt werden, so dass durch entsprechende vorgeburtliche medizinische Versorgung die Risiken für Patientin und Fötus vermindert wurden (MORRIS 1988, BURGER et al. 1987).

Ein weiteres Feld stellt die Lungenreifediagnostik dar. Während die Echotextur der Leber während der Fötalentwicklung praktisch gleich bleibt, kann das sich stark verändernde Lungengewebe in Abhängigkeit von der Schwangerschaftsdauer auf seine Reife überprüft werden. Dies ist für eine Einschätzung des Geburtsrisikos hilfreich (SOHN et al. 1992).

Wie in anderen Bereichen der Tumordiagnostik wird die Graustufenanalyse auch in der Brustkrebsdiagnostik angewandt. Karzinome, Fibrome und Fettgewebnekrosen können auf diese Weise differenziert werden. Durch die hohe Sensitivität der Methode konnte die Zahl der erforderlichen Gewebebiopsien deutlich reduziert werden (GARRA et al. 1993). Andere Autoren weisen allerdings darauf hin, dass die Ergebnisse der Texturanalyse lediglich als weiteres Kriterium zusätzlich zur sonomorphologischen Beurteilung geeignet sind, diese in ihrer Präzision allein hingegen nicht erreichen (Huber et al. 2000).

In einer weiteren Studie wurden Parameter der ersten und zweiten Ordnung (Grauwerthistogramm, Fourieranalyse und Grauwertabhängigkeitsmatrix) untersucht. Durch die Grauwertabhängigkeitsmatrix, nicht aber durch einfache Grauwerthistogramme, können gutartige Tumore von Karzinomen unterschieden werden. Deutliche Unterschiede zwischen den gut ausdifferenzierten gutartigen Tumoren und kaum ausdifferenzierten Karzinomen erleichtern dies (BADER et al. 2000). Durch die Untersuchung unterschiedlicher Vektoren (support vector machine) und das Einbeziehen von Speckles aus der unmittelbaren Umgebung des veränderten Gewebes (speckle-emphasis texture analysis) werden maligne Tumore zu 93.2% (233/250) erkannt (CHANG et al. 2003).

Nach WISCHNIK et al. (1999) kann die manuelle Untersuchung der Cervix bei Schwangeren durch die Texturanalyse eines Ultraschallbildes ersetzt werden. Grauwertstatistiken erster Ordnung, die Grauwertabhängigkeitsmatrix und Verlaufslängenstatistiken können zu einem texture based cervical score, einem Index für die Textur der Cervix, zusammengefasst werden, der mit den üblichen manuellen Untersuchungskriterien korreliert.

Ein weiterer Ansatz ist die Messung der Echogenität der Cervix. Untersucht wurde eine Gruppe von Schwangeren mit Uteruskontraktionen und einer Verkürzung der Cervix, bei denen demzufolge eine Frühgeburt drohte. Bei ihnen war der mittlere Grauwert eines Ultraschallbildes der Cervix niedriger als bei Frauen mit ungestörter Schwangerschaft (TEKESIN et al. 2002).

## 2.5 Einsatz der computergestützten Echostrukturanalyse in der Tiermedizin

Auch in der Veterinärmedizin kommt die computergestützte Echostrukturanalyse, vor allem die Graustufenanalyse, zunehmend zum Einsatz.

Beim Schaf wurden in vivo Beurteilungskriterien zur anatomischen Struktur des Euters erstellt. Dazu wurde die Milchdrüse mittels Graustufenanalyse auf Morphologie, Milchproduktion sowie die Pathogenese von Eutererkrankungen untersucht (RUBERTE et al. 1994).

HERMES konnte 1997 beim Reh bei der Untersuchung des Uterus mittels Graustufenanalyse Unterschiede verdeutlichen, die im sonographischen Bild nicht ersichtlich waren. Es wurde die Zunahme dunkler flüssigkeitsassoziiertes Graustufen in der Echotextur des Endometriums bei tragenden Tieren ab dem dritten Monat der embryonalen Diapause nachgewiesen. Zudem waren die mittleren Mediane der Grauwert-Histogramme bei graviden Rehen ab diesem Monat signifikant niedriger als bei nicht graviden.

Bei der Untersuchung von Corpora lutea von Jungkühen ergaben sich hohe Grauwerte im Metöstrus, niedrige im frühen und mittleren Diöstrus und weiter abnehmende Werte im Proöstrus (SINGH et al. 1997, TOM et al. 1998).

Die Follikel von Stuten wurden auf ihre dreidimensionale Form und die Textur der Wand untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Follikel, die zur Ovulation

kommen, im Verhältnis zu später atretischen Follikeln eine dickere Wand aufweisen. Sie hatten außerdem eine homogenere Struktur im flüssigkeitsgefüllten Innenraum und eine dunklere Wand (PIERSON und ADAMS 1995).

Bei Untersuchungen am Endometrium des Rindes fand SCHMAUDER (2003) einen niedrigen mittleren Grauwert und mittleren Median am Tag der Ovulation, gefolgt von einem Anstieg im Metöstrus und durchgehend hohen Werten im Diöstrus. Die Werte, die für den Echostrukturparameter Homogenität ermittelt wurden, verhielten sich umgekehrt: während Pro- und Diöstrus wurden hohe Werte gemessen, im Östrus niedrige.

Zur Echostrukturanalyse des Endometriums der Stute existieren bereits mehrere Arbeiten, die aber zu widersprüchlichen Ergebnissen geführt haben: So fand LORBER (1999) einen deutlichen zyklischen Verlauf der Grauwertanalyse bei gesunden Stuten. Der niedrigste mittlere Median wurde  $3,27 \pm 1,27$  Tage vor der Ovulation erreicht, um dann bis ca. 3 Tage nach der Ovulation anzusteigen. Zudem wurde eine positive Korrelation zwischen mittlerem Grauwert und dem Blutserumgehalt an Progesteron sowie eine negative Korrelation zwischen mittlerem Grauwert und  $17\beta$ -Östradol gefunden. Bei entzündlich verändertem Endometrium zeigte sich kein präovulatorischer Abfall des mittleren Medians.

Eine weitere Studie an zyklischen Stuten zeigte, dass die stärksten Veränderungen des mittleren Grauwertes in den letzten 36 bzw. 24 Stunden vor der Ovulation zu erwarten sind. In einem unbeeinflussten Zyklus fiel der mittlere Grauwert bis 96 Stunden vor der Ovulation und stieg ab 24 Stunden vor der Ovulation wieder an. Wird eine Luteolyse am Tag 6 durchgeführt und bei einem dominanten Follikel  $\geq 35$  mm zusätzlich hCG gegeben, wird der niedrigste mittlere Grauwert erst 12 Stunden vor der Ovulation erreicht. Die Ultraschallaufnahmen erfolgten in dieser Studie im Uteruskörper, da die Ödematisierung hier intensiver, früher und weniger variabel eintritt (WEVER et al. 2002).

Im Gegensatz zu den beiden zuvor erwähnten Arbeiten wurde in einer anderen Studie bei der Betrachtung des mittleren Grauwerts, des mittleren Gradientenbetrags, der Homogenität und des Kontrastes im Zyklusverlauf keine Übereinstimmung zwischen den Werten bzw. Anstieg oder Abfall der Werte der verschiedenen untersuchten Stuten gefunden. Auch eine Korrelation der Parameter mittlerer Grauwert, Homogenität und Kontrast mit der Progesteronkonzentration im Blut war bei den meisten untersuchten Zyklen nicht gegeben (GERTSCH 1997)

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Tiere**

Die Untersuchungen erfolgten an 6 klinikeigenen Traberstuten im Alter von 5 bis 14 Jahren (Durchschnittsalter 10,5 Jahre). Eine Stute war multipar, zwei Stuten unipar, die übrigen Stuten waren nullipar. Die Stuten wurden in Einzelboxen mit Sichtkontakt gehalten; einmal täglich wurde ihnen für mehrere Stunden Auslauf auf einem Paddock in der Gruppe gewährt. Gefüttert wurden Heu, Stroh und Hafer. Im Diöstrus wurden die Stuten jeden 2. Tag am Hengst probiert, während der Rosse täglich. Im Untersuchungszeitraum waren alle Tiere klinisch gesund.

#### **3.2 Geräte**

Für die Ultraschallaufnahmen wurde das Doppler-Ultraschallgerät SSH 140 A (Toshiba, Tokio/Japan), das mit einer 7,0 MHz Mikrokonvexsonde ausgestattet war, verwandt. Es wurden ausschließlich Bilder im B-mode erstellt. Ein am Ultraschallgerät fest installiertes Programm stellte sicher, dass alle Aufnahmen mit den gleichen Geräteeinstellungen gemacht wurden.

Für die digitale Aufzeichnung der Ultraschall-Standbilder wurde der direkt mit dem Ultraschallgerät verbundene Still-Recorder DKR 700 (Sony, Tokio/Japan) eingesetzt. Die Speicherung erfolgte auf MMD-140 Disketten der gleichen Firma.

#### **3.3 Versuchsanordnung**

Die Untersuchungen fanden von April bis Juni 2003 statt. Die Stuten wurden über 3 Zyklen regelmäßig untersucht. In den ersten beiden Zyklen wurden Zykluslänge und Zeitpunkt der Ovulation bestimmt, die Untersuchungen wurden mindestens jeden 2. Tag, zum Zeitpunkt der Rosse täglich, durchgeführt. Im dritten Zyklus wurden Ultraschallbilder von Tag -2, Tag 0 (Tag der Ovulation), 5, 10 und 15 erstellt. Die Ultraschallbilder, an denen die Auswertung durch Echostrukturanalyse vorgenommen

wurde, stammen aus dem 3. Zyklus. Die Stuten wurden nacheinander in einem ihnen vertrauten, ruhigen Untersuchungsraum bei gedämpftem Licht in einem Zwangsstand untersucht, nachdem ihnen zuvor einige Minuten Beruhigungszeit eingeräumt worden war.

### 3.3.1 Rektale gynäkologische Ultraschalluntersuchung

Bei der transrektalen Untersuchung wurde zunächst das Corpus uteri, dann das rechte Uterushorn, das rechte Ovar, das linke Uterushorn und das linke Ovar palpirt. Dabei wurde der Uteruston beurteilt und die Größe der Ovarien abgeschätzt.

Sonographisch wurde der Uterus auf Anzeichen einer Ödematisierung („Radspeichen“) und etwaig vorhandene Flüssigkeit untersucht. Ebenso wurden Follikel mit einem Durchmesser über 20 mm vermessen und notiert sowie Corpora lutea vermerkt.

Zwei Tage vor und am Tag der Ovulation sowie am 5., 10. und 15. Tag nach der Ovulation wurden vom linken wie auch vom rechten Uterushorn Standbilder der Uterusquerschnitte erstellt und gespeichert. Da aus der Auswertung von Biopsieproben bekannt ist, dass die Untersuchung einer einzelnen Probe des Endometriums wenig aussagekräftig ist (DYBDAL 1991, BLANCHARD 1987), wurden je Horn 5 Ultraschallaufnahmen in möglichst gleichen Abständen gewählt, um das ganze Uterushorn zu erfassen. Die Uterushornspitze wurde nicht einbezogen, weil dort der Querschnitt so stark abnimmt, dass sich Schwierigkeiten bei der Platzierung der größeren ROIs (regions of interest) ergeben hätten.

### 3.3.2 Auswertung der Ultraschallbilder mittels computergestützter Echostrukturanalyse

Die auf den Disketten gespeicherten Ultraschallaufnahmen der Uterusquerschnitte konnten durch Anschließen des Still-Recorders an einen PC ausgelesen und im bmp-Format unbearbeitet mit 24 bit Speichertiefe gespeichert werden. Das Einzeichnen der ROIs erfolgte im Programm „Paint“ von Microsoft (Microsoft Corporation, One Microsoft Way, Redmond, WA, USA).

Um den Einfluss der Platzierung sowie der Größe der analysierten ROIs zu überprüfen, wurden folgende 4 Messreihen durchgeführt (Abb.: 3.1):

Zunächst wurden in jeden Querschnitt im Endometrium vier ROIs der Größe von 16x16 Pixel (256 Pixel) eingezeichnet. Dazu wurde der Uterusquerschnitt in 4 Quadranten eingeteilt, und es wurde jeweils ein ROI in den oberen (a), den rechten (b), den linken (c) und den unteren (d) Quadranten gelegt, Überlappungen der ROIs wurden in allen Messreihen vermieden.

In der 2. Messreihe wurde eine ROI-Größe von 32x32 Pixel (1024 Pixel) gewählt. Auch hier wurden je Bild 4 ROIs in der oben genannten Art platziert.

In der 3. Messreihe betrug die Größe der 4 ROIs 50x50 Pixel (2500 Pixel).

In der 4. Messreihe wurde eine Gesamtflächenauswertung des Endometriums (8275 bis zu 96693 Pixel, durchschnittlich 40876 Pixel) durchgeführt. Artefakte sowie eventuell im Uterus vorhandene Flüssigkeit wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Die zur Untersuchung vorgesehene Fläche wurde in dem Programm Paint farbig markiert, die nicht geeigneten Stellen ausgenommen.

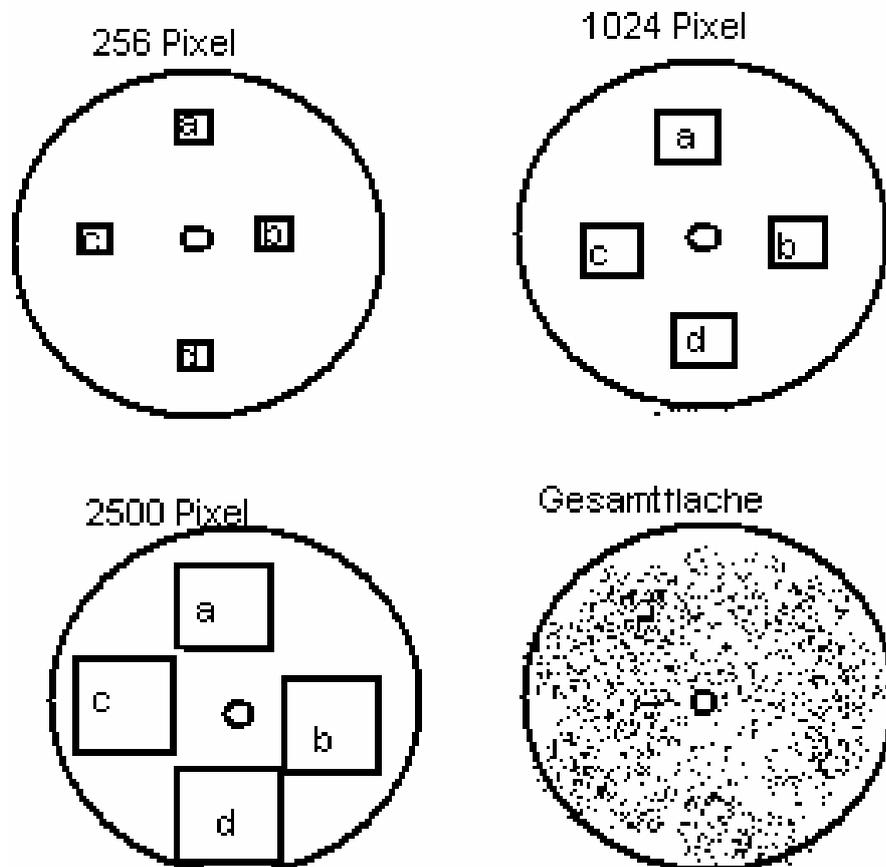


Abb. 3.1: Platzierung und Größe der ROIs

### 3.3.3 Auswertung der ROIs

Die ROIs wurden mit dem Echostrukturanalyseprogramm MaZda (Technische Universität Lodz, Polen) ausgewertet. Dieses Programm bietet den Vorteil, dass gleichzeitig mehrere unterschiedliche Vektoren untersucht werden können. Zudem konnten die 4 ROIs eines Uterusquerschnittes getrennt betrachtet werden, so dass die Ergebnisse der Lage der ROIs zugeordnet werden konnten.

Folgende Echostrukturparameter wurden zur Untersuchung herangezogen: mittlerer Grauwert der Pixel, sowie Homogenität, Korrelation und Kontrast zwischen Pixelpaaren.

### 3.3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte teils mit dem Programm StatView II, Version 5.0 (SAS Institute Inc., Campus Drive, Cary, NC, USA), teils mit SAS (Statistical Analysis System), Version 8.2 (Firma siehe oben). Es wurden Varianzanalysen und Varianzkomponentenanalysen durchgeführt. Die Variationskoeffizienten wurden mit dem Programm Microsoft Excel 2002 (Microsoft Corporation, One Microsoft Way, Redmond, WA, USA) berechnet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Reproduzierbarkeit ausgewählter Parameter der Echostrukturanalyse

#### 4.1.1 Gewichtung der Variablen bei der Echostrukturanalyse

Der Anteil der Variablen Stute, Zyklustag, ROI-Platzierung, ROI-Größe und linkes bzw. rechtes Uterushorn an der Varianz der Untersuchungsdaten wurde mit einer Varianzkomponentenanalyse untersucht. Die Gesamtflächenuntersuchung wurde bei der Varianzkomponentenanalyse ausgenommen, da hier keine unterschiedlichen ROI-Platzierungen und -Größen untersucht werden können.

Je nach untersuchtem Texturparameter ergaben sich unterschiedliche Resultate (Tab. 4.1).

Tab. 4.1: Ergebnisse der Varianzkomponentenanalyse (Angabe der Anteile der Variablen an der Gesamtvarianz in %).

<i>Parameter</i>	<i>V</i> Stute	<i>a</i> Zyklustag	<i>r</i> ROI-Platzierung	<i>i</i> ROI-Größe	<i>a</i> Uterushorn	<i>b</i> Restvarianz
<b>Mittlerer Grauwert</b>	4,2	13,4	17,1	0	0,1	65,5
<b>Homogenität</b>	0,1	1,9	1	41	0,2	56,1
<b>Kontrast</b>	0,1	2,7	0,4	0	0,9	95
<b>Korrelation</b>	1,9	0,5	0,2	49,5	0,1	47,1

So spielte die Variable, welche Stute untersucht wurde, nur bei dem Parameter mittlerer Grauwert mit 4,2 % eine gewisse Rolle. Eine Zyklusabhängigkeit war auch am ehesten bei dem Parameter mittlerer Grauwert gegeben, hier wirkte sich auch der Ort, an dem das ROI gewählt wurde mit 17,1 % stark aus. Die Bedeutung der ROI-Größe war bei den Parametern Homogenität und Korrelation sehr groß. Die Relevanz, welches Uterushorn untersucht wurde, war bei allen Texturparametern mit Werten zwischen 0,1 % und 0,9 % sehr gering. Hohen Anteil hatte die Restvarianz,

die den hier ausgewählten Faktoren nicht zugeordnet werden konnte, mit 47,1 % bis 95 %.

#### 4.1.2 Unterschiede zwischen linkem und rechtem Uterushorn

Um etwaige Unterschiede zwischen der Auswertung des linken und des rechten Uterushorns festzustellen, wurde die Datenmenge zunächst in Wertegruppen aufgeteilt. Durch die Erstellung von 10 Ultraschallbildern je Untersuchungstag (n=5) und Stute (n=6) ergaben sich 30 Gruppen mit je 10 Bildern. Für die Untersuchung der Unterschiede zwischen den Uterushörnern wurden jeweils die Bilder des rechten Uterushorns (n=5) mit den Bildern des linken Uterushorns (n=5) verglichen. Da jedes dieser Bilder in Abhängigkeit von ROI-Größe und Platzierung auf 13 verschiedene Arten ausgewertet wurde, ergaben sich 390 Vergleiche mit je 2 Gruppen à 5 Werte für das linke und rechte Uterushorn („Wertegruppen“), bei denen jeweils eine Varianzanalyse durchgeführt wurde. Daran anschließend wurde der prozentuale Anteil der Vergleiche berechnet, bei denen sich ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen den Werten für das linke und das rechte Uterushorn ergeben hatte. Wenn tatsächlich ein Unterschied zwischen linkem und rechtem Uterushorn bei einer der Stuten bestanden hätte, hätte sich also eine hohe Prozentzahl von Gruppen mit signifikanten Unterschieden ( $p < 0,05$ ) ergeben müssen. Bei einzelnen Texturparametern und einzelnen Stuten ergaben sich signifikante Abweichungen, in der Summe lagen die Fälle, bei denen sich beim Vergleich der Untersuchung des linken und rechten Uterushorns signifikante Unterschiede ergaben aber im Bereich von 5 % (2,5% bis 13,3%) und somit im Bereich des Standardfehlers.

Bei dem Texturparameter „Mittlerer Grauwert“ fiel Stute Nr. 5 mit den stärksten Unterschieden zwischen linkem und rechtem Uterushorn auf (0% für Gesamtfläche bis 20% bei 256 Pixel). Auch Stute Nr. 6 zeigte bei der Gesamtflächenauswertung bis zu 20% Unterschiede zwischen rechtem und linkem Horn (Tab. 4.2).

Diese starken Abweichungen lassen sich durch die geringe Zahl der Vergleiche erklären, die je Stute und ROI-Größe angestellt wurden. Sie betrug bei der Gesamtflächenauswertung 5, bei der Beurteilung einzelner ROI-Flächen 20, da die 4 unterschiedlichen ROI-Platzierungen die Zahl der Vergleiche vervierfachte.

Tab. 4.2: Texturparameter „Mittlerer Grauwert“: Prozentualer Anteil der Vergleiche der Wertegruppen, bei denen sich die Ergebnisse für linkes und rechtes Uterushorn signifikant ( $p < 0,05$ ) unterschieden, nach Stuten und ROI-Größen getrennt. Die absolute Zahl der Vergleiche bei den ROI-Größen 256, 1024 und 2500 Pixel betrug 20 (4 ROI-Platzierungen, 5 Untersuchungstage), für die Gesamtfläche 5 (5 Untersuchungstage).

<b>R O I - G r ö ß e</b>				
<b>Stuten-Nr.</b>	256 Pixel	1024 Pixel	2500 Pixel	Gesamtfläche
1	5	0	0	0
2	0	0	5	0
3	5	10	0	0
4	0	0	0	0
5	20	10	15	0
6	0	5	5	20
<b>Summe</b>	5	4,2	4,2	3,3

Bei dem Texturparameter „Homogenität“ lagen die Unterschiede zwischen linkem und rechten Uterushorn mit 3,3% bis 7,5% ebenfalls im Bereich des Standardfehlers. Allerdings fiel auch hier Stute Nr. 5 mit einem Unterschied von 15% bei einer ROI-Größe von 256 Pixel auf (Tab. 4.3).

Tab. 4.3: Texturparameter „Homogenität“: Prozentualer Anteil der Vergleiche der Wertegruppen, bei denen sich die Ergebnisse für linkes und rechtes Uterushorn signifikant ( $p < 0,05$ ) unterschieden, nach Stuten und ROI-Größen getrennt. Die absolute Zahl der Vergleiche bei den ROI-Größen 256, 1024 und 2500 Pixel betrug 20 (4 ROI-Platzierungen, 5 Untersuchungstage) für die Gesamtfläche 5 (5 Untersuchungstage).

<b>R O I - G r ö ß e</b>				
<b>Stuten-Nr.</b>	256 Pixel	1024 Pixel	2500 Pixel	Gesamtfläche
1	0	0	10	20
2	0	10	10	0
3	5	0	5	0
4	5	0	10	0
5	15	10	0	0
6	0	0	10	0
<b>Summe</b>	4,2	3,3	7,5	3,3

Bei der Gesamtflächenauswertung mit dem Texturparameter „Korrelation“ ergaben sich für 2 Stuten Werte von 20% und für eine Stute 40%. Stute Nr. 4 fällt mit einem Unterschied von 20% bei der ROI-Größe 2500 Pixel auf, Stute Nr. 2 bei einer ROI-Größe von 1024 Pixel (Tab. Nr. 4.4).

Tab. 4.4: Texturparameter „Korrelation“: Prozentualer Anteil der Vergleiche der Wertegruppen, bei denen sich die Ergebnisse für linkes und rechtes Uterushorn signifikant ( $p < 0,05$ ) unterschieden, nach Stuten und ROI-Größen getrennt. Die absolute Zahl der Vergleiche bei den ROI-Größen 256, 1024 und 2500 Pixel betrug 20 (4 ROI-Platzierungen, 5 Untersuchungstage) für die Gesamtfläche 5 (5 Untersuchungstage).

	<i>R o i - G r ö ß e</i>			
<b>Stuten-Nr.</b>	256 Pixel	1024 Pixel	2500 Pixel	Gesamtfläche
1	10	5	5	0
2	10	20	5	0
3	5	5	0	40
4	10	5	20	20
5	5	0	10	20
6	0	5	10	0
<b>Summe</b>	6,7	6,7	8,3	13,3

Bei der Auswertung mit dem Texturparameter „Kontrast“ ergaben sich die geringsten Unterschiede zwischen linkem und rechtem Uterushorn. Sie lagen in der Summe zwischen 2,5% und 5% (Tab. 4.5).

Tab. 4.5: „Kontrast“: Prozentualer Anteil der Vergleiche der Wertegruppen, bei denen sich die Ergebnisse für linkes und rechtes Uterushorn signifikant ( $p < 0,05$ ) unterschieden, nach Stuten und ROI-Größen getrennt. Die absolute Zahl der Vergleiche bei den ROI-Größen 256, 1024 und 2500 Pixel betrug 20 (4 ROI-Platzierungen, 5 Untersuchungstage) für die Gesamtfläche 5 (5 Untersuchungstage).

<b>R o i - G r ö ß e</b>				
<b>Stuten-Nr.</b>	256 Pixel	1024 Pixel	2500 Pixel	Gesamtfläche
1	5	0	5	0
2	0	5	0	20
3	0	0	5	0
4	10	5	0	0
5	10	10	0	0
6	5	5	5	0
<b>Summe</b>	5	4,2	2,5	3,3

#### 4.1.3 Abhängigkeit der Ergebnisse der Echostrukturanalyse von der Platzierung der ROIs

Um den Einfluss des Ortes des gewählten ROIs zu beurteilen, wurden wiederum Wertegruppen gebildet von den 10 Bildern, die je Stute (n = 6) und Untersuchungstag (n = 5) erstellt worden waren. Zusätzlich wurden die Gruppen so unterteilt, dass nur Ergebnisse, die durch dieselbe Auswertungsmethode gewonnen worden waren (ROI-Größe und -Platzierung), in einer Wertegruppe zusammengefasst wurden. Von diesen Wertegruppen (n = 390) wurden Mittelwert und Standardabweichung der jeweils 10 Ergebnisse der Echotexturanalyse bestimmt. Daraus wurden die Variationskoeffizienten errechnet. Es ergaben sich deutliche Unterschiede bei der Präzision der Messungen.

Es zeigte sich, dass die Variationskoeffizienten für ROI „a“ bei allen ROI-Größen und Texturparametern, von einer Ausnahme abgesehen (bei dem Texturparameter „Korrelation“ wies ROI „d“ mit 48,5% den höchsten Variationskoeffizienten auf), am höchsten waren (40,1% bis 52,9%). Bei ROI „b“ und „c“ wurde erwartet, dass sie bei der Auswertung ähnliche Werte ergeben, da sie auf der gleichen Höhe im Uterusquerschnitt lagen. Die Variationskoeffizienten von „b“ bewegten sich im Bereich von 20,3% bis 35,6%, für „c“ zwischen 25,9% und 33,6%.

Bei einigen Auswertungen war der Variationskoeffizient für „d“ niedriger als für „b“ oder „c“: bei der ROI-Größe von 256 Pixel für den Texturparameter „mittlerer Grauwert“ (24,6%) und „Kontrast“ (28,5%) und bei einer ROI-Größe von 1024 Pixel für den Texturparameter „Kontrast“ (30,1%). Bei einer ROI-Größe von 2500 Pixel waren immer die Variationskoeffizienten von ROI „b“ oder „c“ am niedrigsten (Tab. 4.6).

Tab. 4.6: Variationskoeffizienten (in %) von je 10 Bildern pro Untersuchungstag (n=5) und Stute (n=6) nach ROI-Größe (n=3) und ROI-Platzierung (n=4) ohne Unterscheidung der Stute (**größter Wert**, *kleinster Wert*)

---

**R O I - G r ö ß e : 2 5 6**

---

<b>ROI-Platzierung</b>	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
a	<b>47,9</b>	<b>40,1</b>	<b>49,7</b>	<b>40,8</b>
b	25,0	30,4	34,0	23,8
c	27,5	30,5	32,9	25,9
d	24,6	30,7	28,6	33,9

---

**R O I - G r ö ß e : 1 0 2 4**

---

<b>ROI-Platzierung</b>	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
a	<b>48,9</b>	<b>48,0</b>	<b>46,8</b>	<b>48,8</b>
b	23,0	31,2	31,2	24,0
c	29,3	27,2	30,4	33,6
d	33,6	33,6	30,2	24,7

---

**R O I - G r ö ß e : 2 5 0 0**

---

<b>ROI-Platzierung</b>	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
a	<b>52,7</b>	<b>43,4</b>	<b>46,9</b>	45,8
b	20,3	33,4	35,0	35,7
c	27,5	26,1	26,9	28,6
d	28,8	35,4	32,2	<b>48,5</b>

---

Wurden die ROIs nur aufgrund ihrer Platzierung betrachtet und unabhängig von ihrer Größe, wurde deutlich, dass ROI a durchgehend die größten Abweichungen aufwies, während ROIs b und c wesentlich geringere Variationskoeffizienten hatten. Mit Abstand die niedrigsten Variationskoeffizienten wurden aber bei der Auswertung der Gesamtfläche des Uterusquerschnitts gefunden (Tab 4.7).

Tab. 4.7: Variationskoeffizienten (in %) von je 10 Bildern pro Untersuchungstag (n=5) und Stute (n=6), nach ROI-Platzierung (n=4), alle ROI-Größen (n=3) zusammengefasst (**größter Wert**, *kleinster Wert*)

<i>T e x t u r p a r a m e t e r</i>				
<i>ROI-Platzierung</i>	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
a	<b>49,8</b>	<b>43,8</b>	<b>47,8</b>	<b>45,1</b>
b	22,8	31,7	33,4	27,8
c	28,1	27,9	30,1	29,4
d	33,6	34,5	37,1	34,1
Gesamtfläche	11,7	14,7	15,4	9,4

#### 4.1.4 Abhängigkeit der Ergebnisse der Echostrukturanalyse von der Größe der ROIs

Wurden die Ergebnisse ohne Unterscheidung der ROI-Platzierung ausgewertet, ergab sich beim Setzen einzelner ROIs für die Texturparameter „mittlerer Grauwert“, „Homogenität“ und „Korrelation“ die geringste Varianz bei einer ROI-Größe von 256 Pixel (32,9% für den „mittleren Grauwert“, 33,4% für die „Homogenität“ und 31,8% für die „Korrelation“). Lediglich bei dem Texturparameter „Kontrast“ war die günstigste ROI-Größe 2500 Pixel mit 35,4% (siehe Tab. 4.8).

Tab. 4.8: Variationskoeffizienten (in %), von je 10 Bildern pro Stute (n=6) und Untersuchungstag (n=5) nach Größe der ausgewerteten Fläche, ohne Unterscheidung der ROI-Platzierung (n=4), nach Stuten und Tagen unterschieden (**größter Wert**, *kleinster Wert*)

<b>ROI-Größe</b>	<b>T e x t u r p a r a m e t e r</b>			
	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
256	32,9	33,4	<b>37,9</b>	31,8
1024	<b>35,7</b>	<b>34,4</b>	35,7	33,1
2500	35,1	34,0	35,4	<b>43,2</b>
Gesamtfläche	<b>11,7</b>	<b>14,7</b>	<b>15,4</b>	<b>9,4</b>

Bei der Gesamtflächenauswertung schwankte die Größe der ausgewerteten Fläche der 10 Bilder je Stute und Zyklustag und Texturparameter um 25,4% (8275 Pixel bis zu 96693 Pixel, im Schnitt 40876 Pixel). Allerdings muss einschränkend hinzugefügt werden, dass Artefakte nicht in die untersuchte Fläche einbezogen wurden (siehe Kap 3.3.1), so dass diese Schwankungen nicht das gesamte Schnittbild des Endometriums darstellten.

Bei der Verwendung des „mittleren Grauwertes“ ergab sich für die Gesamtfläche, mit einem Variationskoeffizienten von 11,7% eine viel präzisere Auswertung als beim Setzen einzelner ROIs. Bei einzelnen ROIs wichen die Ergebnisse um zwischen 32,9% und 35,7% ab. Betrachtet man die ROI-Platzierungen getrennt, ergaben sich für die ROIs „b“ und „c“ Werte zwischen 20,3% (ROI „b“ mit 2500 Pixel) und 29,3% (ROI „c“ mit 1024 Pixel). Zum günstigsten Ergebnis kommt man bei einer ROI-Größe von 2500 Pixel, hier wich auch ROI „c“ um 27% ab, im Mittel kommt man auf 23,9% für ROI „b“ und „c“, eine Varianz, die fast doppelt so hoch war, wie bei der Gesamtflächenauswertung.

Auch bei der „Homogenität“ ergaben sich bei der Auswertung der Gesamtfläche mit 14,7% weniger Abweichungen als bei einzelnen ROIs. Ebenso war bei „Kontrast“ (15,4%) und „Korrelation“ (9,4%) die Gesamtflächenauswertung der Beurteilung einzelner ROIs deutlich überlegen. In der folgenden Tabelle wurden die Variationskoeffizienten der ROIs b und c mit der Gesamtflächenauswertung verglichen (Tab. 4.9).

Tab. 4.9: Variationskoeffizienten (in %) der Gesamtflächenauswertung (Varianz aus 10 Werten pro Untersuchungstag (n=5) und Stute (n=6)) im Vergleich mit ROIs „b“ und „c“ zusammengenommen (Varianz aus je 10 Werten pro Untersuchungstag (n=5) und Stute (n=6))

<i>T e x t u r p a r a m e t e r</i>				
Variable	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation
Gesamtfläche	11,7	14,7	15,4	9,4
ROIs „b“ und „c“	25,5	29,8	31,7	28,6

#### 4.1.5 Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Stuten

Die Gesamtflächenauswertung zeigte, für die einzelnen Stuten getrennt betrachtet, unterschiedliche Ergebnisse. Auffällig dabei war, dass Stute Nr. 3 bei allen Texturparametern die höchsten Variationskoeffizienten aufwies. Dieser lag aber immer noch unter den Variationskoeffizienten, die sich bei der Auswertung einzelner ROIs ergaben.

Bei der Untersuchung des „mittleren Grauwerts“ schwankten die Variationskoeffizienten je nach Stute von 9,3% bis 14,8% (im Mittel 11,7%), bei der Auswertung der „Homogenität“ von 11,0% bis 19,7% (14,6%), für „Kontrast“ von 13,9% bis 17,6% (15,4%) und für „Korrelation“ von 8,2% bis 11,8%, im Mittel 9,4% (Tab. 4.10).

Tab. 4.10: Variationskoeffizienten (in %, 10 Bilder je Untersuchungstag (n=5) gemittelt) der Gesamtflächenauswertung nach Stuten (n=6) (**größter Wert, kleinster Wert**)

<i>T e x t u r p a r a m e t e r</i>						
Stuten-Nr.	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation	Mittelwert	
1	12,1	11,1	13,9	8,7	11,5	
2	10,3	15,9	14,8	10,6	12,9	
3	<b>14,9</b>	<b>19,8</b>	<b>17,6</b>	<b>11,8</b>	<b>16,0</b>	
4	9,3	13,7	14,9	7,5	11,3	
5	11,7	14,3	14,4	8,2	12,2	
6	11,9	13,3	16,6	9,6	12,9	
Mittelwert	11,7	14,7	15,4	9,4		

## 4.2 Ergebnisse im Verlauf des Zyklus

Nachdem sich in den vorangegangenen Untersuchungen die Gesamtflächenauswertung als die Methode mit den geringsten Variationskoeffizienten herausgestellt hatte, wurde der Einfluss des Zyklusstadiums nur anhand der Ergebnisse dieser Variablen beurteilt. Wurden alle Stuten zusammengefasst und die Texturparameter auf ihre Streuung an den untersuchten Zyklustagen betrachtet, fiel auf, dass bei allen Texturparametern die geringste Abweichung am Tag 5 vorlag. Die größte Varianz lag, je nach Texturparameter, an unterschiedlichen Tagen: für den „mittleren Grauwert“ am Tag 10, für „Homogenität“ am Tag 0, für „Kontrast“ am Tag -2 und für „Korrelation“ am Tag 10. Insgesamt zeigte der „Kontrast“ die höchste Abweichung mit im Mittel 15,4%, günstiger erschienen „Korrelation“ mit 9,4% und „mittlerer Grauwert“ mit 11,7% (Tab 4.11).

Tab. 4.11 Variationskoeffizienten (in %) von je 10 Bildern pro Stute (n=6) der Gesamtflächenauswertung im Zyklusverlauf (**größter Wert**, *kleinster Wert*)

<i>T e x t u r p a r a m e t e r</i>					
<i>Tag</i>	Mittlerer Grauwert	Homogenität	Kontrast	Korrelation	Mittelwert
-2	12,2	15,8	<b>17,7</b>	10,6	14,1
0	11,2	<b>16,5</b>	17,4	9,3	13,6
5	<i>10,1</i>	<i>12,3</i>	<i>11,8</i>	<i>8,0</i>	<i>10,5</i>
10	<b>14,0</b>	15,4	16,7	<b>10,8</b>	<b>14,2</b>
15	11,1	13,4	13,3	8,5	11,6
Mittelwert	11,7	14,7	<b>15,4</b>	9,4	

Betrachtet man die Ergebnisse der Untersuchungen im Zyklusverlauf, fallen je nach Texturparameter Gemeinsamkeiten bei den verschiedenen Stuten auf.

In einer Varianzanalyse wurde untersucht, an welchen Zyklustagen sich die Werte signifikant ( $p < 0,05$ ) von anderen Zyklustagen unterscheiden (Abb.4.1).

Für den Texturparameter „mittlerer Grauwert“ unterschieden sich Tag -2 und Tag 0 bei 5 Stuten (83 %) signifikant, ebenso Tag -2 im Verhältnis zu Tag 10 und Tag 10 im Vergleich zu Tag 15.

Bei den übrigen Untersuchungstagen war die Zahl der Stuten, die einen signifikanten Unterschied zeigten, zu gering, um auf einen Einfluss des Zyklus auf die Ergebnisse der Echotexturanalyse zu schließen (Tab. 4.12).

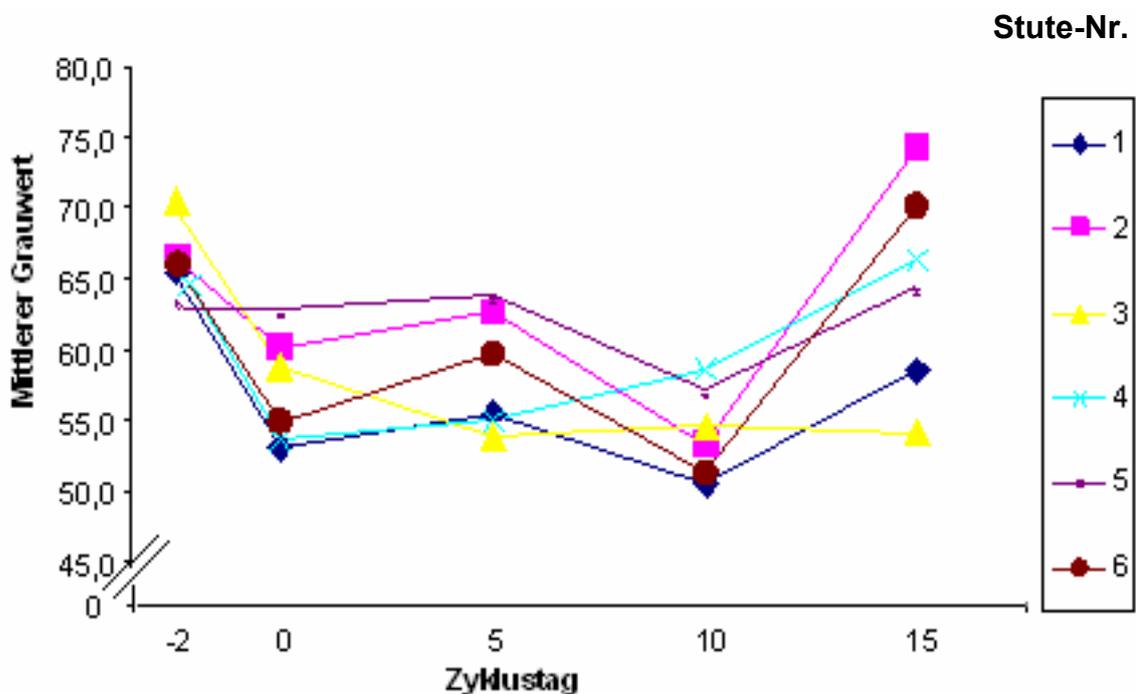


Abb. 4.1: Einfluss des Zyklusverlaufs auf den Texturparameter „mittlerer Grauwert“ bei 6 Stuten. Untersucht wurde ein Zyklus. Pro Stute und Tag 10 Messungen (Tag 0 = Ovulation).

Tab. 4.12 (Ergänzung zu Abb. 4.1): Anzahl der Stuten (n = 6) mit signifikanten Unterschieden zwischen den Untersuchungstagen

Tag	-2	0	5	10	15
-2	-				
0	5	-			
5	3	0	-		
10	5	1	3	-	
15	3	3	3	5	-

Die Ergebnisse für „Homogenität“ ließen eine Unterscheidung von Tag 0 zu Tag 15 und Tag 10 zu Tag 15 bei 4 Stuten zu, die übrigen Ergebnisse sind Abb. 4.2 und Tab. 4.13 zu entnehmen.

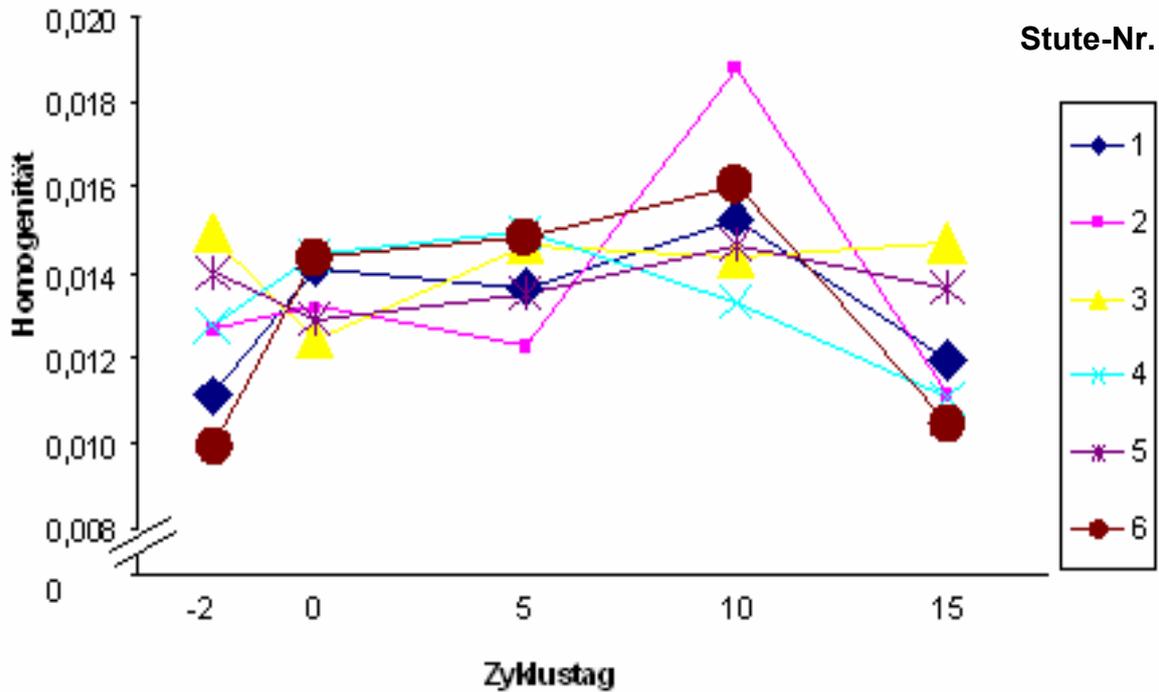


Abb. 4.2: Einfluss des Zyklus auf den Texturparameter „Homogenität“ bei 6 Stuten. Untersucht wurde ein Zyklus. Pro Stute und Tag 10 Messungen (Tag 0 = Ovulation).

Tab. 4.13 (Ergänzung zu Abb. 4.2): Anzahl der Stuten (n = 6) mit signifikanten Unterschieden zwischen den Untersuchungstagen

Tag	-2	0	5	10	15
-2	-				
0	2	-			
5	3	0	-		
10	3	2	2	-	
15	0	2	3	4	-

Beim Texturparameter „Kontrast“ waren die Unterschiede bei maximal 50 % der Stuten für zwei Untersuchungstage signifikant, so dass dieser Texturparameter nicht für eine Beurteilung des Zyklus in Frage kommen dürfte. Dagegen sind Parameter, die keine zyklischen Schwankungen aufweisen eventuell für die Erkennung pathologischer Zustände interessant (Abb. 4.3 und Tab. 4.14).

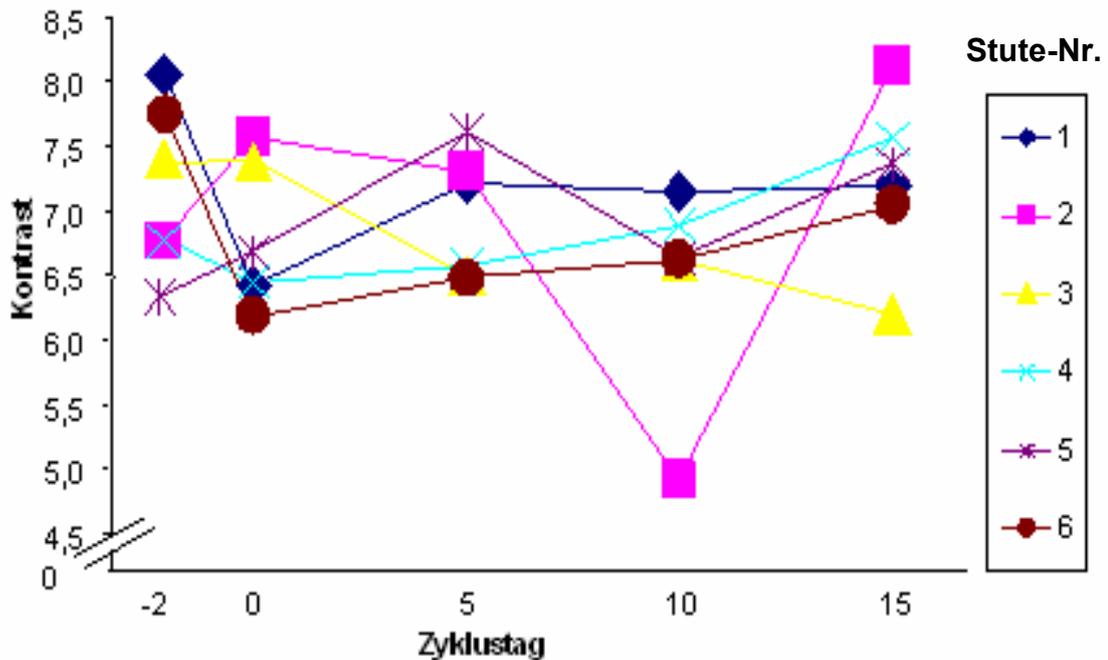


Abb. 4.3: Einfluss des Zyklus auf den Texturparameter „Kontrast“ bei 6 Stuten. Untersucht wurde ein Zyklus. Pro Stute und Tag 10 Messungen (Tag 0 = Ovulation).

Tab. 4.14 (Ergänzung zu Abb. 4.3): Anzahl der Stuten (n = 6) mit signifikanten Unterschieden zwischen den Untersuchungstagen

Tag	-2	0	5	10	15
-2	-				
0	2	-			
5	2	1	-		
10	2	1	2	-	
15	3	2	1	1	-

Die „Korrelation“ erlaubte eine Unterscheidung von Tag -2 und Tag 5 bei 5 Stuten, von Tag -2 und 10 und Tag 0 und 15 bei 4 Stuten. Bei keiner der Stuten unterschieden sich Tag 5 und Tag 10 (Abb. 4.4 und Tab. 4.15)

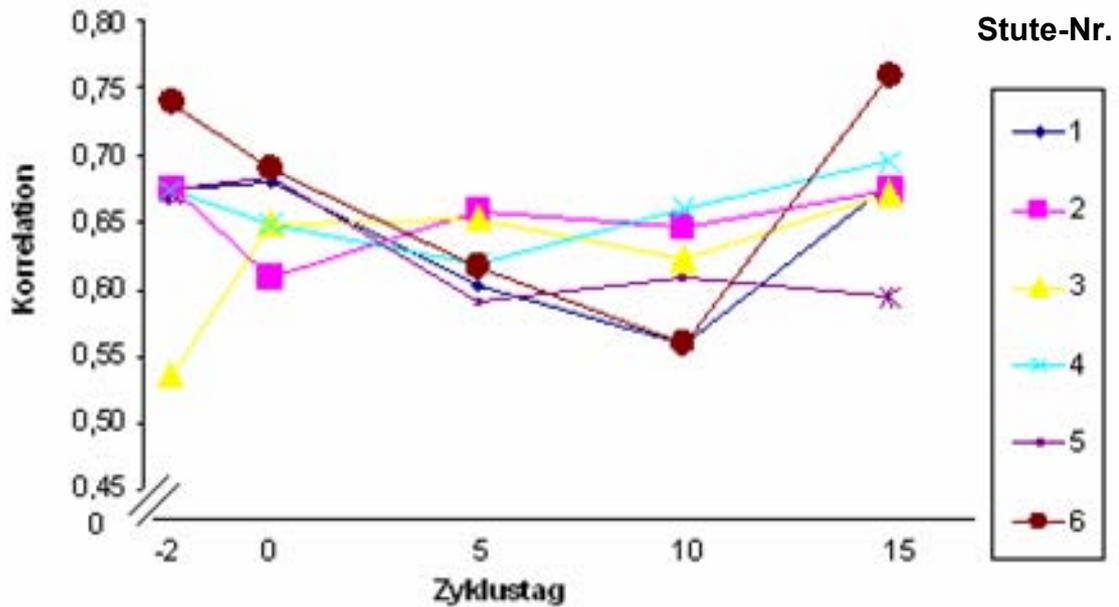


Abb. 4.4: Einfluss des Zyklus auf den Texturparameter „Korrelation“ bei 6 Stuten. Untersucht wurde ein Zyklus. Pro Stute und Tag 10 Messungen (Tag 0 = Ovulation).

Tab. 4.15 (Ergänzung zu Abb. 4.4) : Anzahl der Stuten (n = 6) mit signifikanten Unterschieden zwischen den Untersuchungstagen

Tag	-2	0	5	10	15
-2	-				
0	2	-			
5	5	3	-		
10	4	3	0	-	
15	2	4	3	2	-

## 5 Diskussion

### 5.1 Eignung des Untersuchungsverfahrens

Die Ultrasonographie ist eine nicht invasive und deshalb schonende Untersuchungsmethode. Bei der gynäkologischen Untersuchung von Uterus und Ovarien der Stute spielt sie eine bedeutende Rolle. Der geübte Untersucher kann den Zyklusstand einschätzen, Trächtigkeiten diagnostizieren und, zum Teil, pathologische Veränderungen erkennen. In letzter Zeit sind computergestützte Verfahren entwickelt worden, mit deren Hilfe Ultraschallbilder analysiert werden können. Bild-details, die rein visuell nicht mehr wahrnehmbar sind, werden auf Pixelebene untersucht. So ist es möglich, aus den Bildern Informationen zu gewinnen, die bis jetzt nicht zugänglich waren. Auch eine Objektivierung der Beurteilung von Ultraschallbildern ist damit möglich. Gerade in der Tumordiagnostik der Humanmedizin spielt die computergestützte Echotexturanalyse bereits eine Rolle.

Die Frage ist nun, ob und wie die Echotexturanalyse dazu beitragen kann, die Ergebnisse der gynäkologischen Ultraschalluntersuchung bei der Stute zu objektivieren und im Fall pathologischer Veränderungen mit dem bloßen Auge nicht differenzierbare Abweichungen von Gewebestrukturen zu zeigen. Es wäre von Vorteil, wenn z.B. die zur Erkennung von Endometriosen nötigen Biopsieproben durch die Echotexturanalyse ersetzt werden könnten, da bei einer Biopsie immer eine lokale Schädigung des Endometriums verursacht wird. Auch wäre es interessant, wenn der Zyklusstand mithilfe dieses Verfahrens genauer eingeschätzt werden könnte, als dies bisher möglich ist, oder der Zeitpunkt der Ovulation vorhergesagt werden könnte. In erster Linie dürfte die Kenntnis der zyklischen Veränderungen der Echotexturergebnisse aber als Grundlage zur Unterscheidung zwischen physiologischen und pathologischen Verhältnissen am Endometrium dienen. Um pathologische Zustände untersuchen zu können, ist es wichtig, zunächst zu überprüfen, welche Faktoren die Ergebnisse der Echostrukturanalyse im physiologischen Zyklus beeinflussen, und zu versuchen, die Untersuchungsmethode so zu optimieren, dass die zufälligen Schwankungen in den Ergebnissen möglichst gering werden.

Letztendlich ist eine Standardisierung des Untersuchungsverfahrens anzustreben, um die Ergebnisse unterschiedlicher Studien vergleichen zu können und es soweit zu optimieren, dass die methodisch bedingte Variationsbreite der Werte möglichst gering ist.

### 5.1.1 Einfluss der Variablen

Die biologischen Unterschiede (individuelle Stute, untersuchtes Uterushorn, Zyklusstand) und methodischen Varianten (ROI-Größe, ROI-Platzierung) wirken sich unterschiedlich auf die verwendeten Echotexturparameter aus. Ziel war es, durch unterschiedliche Auswertung der Bilder dasjenige Verfahren zu finden, bei dem die Schwankungsbreite der Ergebnisse für eine Stute an einem Untersuchungstag möglichst gering ist. Bei allen hier ausgewerteten Parametern traten hohe Restvarianzen auf, so dass naturgegebene Unterschiede der Schnittbilder und zufällige Erscheinungen in den Ultraschallaufnahmen (es wurden 10 Ultraschallbilder pro Stute und untersuchtem Zyklustag aufgenommen), die nicht den untersuchten Variablen zuzuordnen sind, bei den Ergebnissen oft den Hauptteil ausmachen.

Es lässt sich aber die Tendenz ableiten, dass beim Texturparameter „mittlerer Grauwert“ mit einem relativ geringen Varianzanteil für „Stute“ von 4,2 % und einem Varianzanteil von 13,4 % für den Untersuchungstag eher eine Zyklusabhängigkeit gegeben zu sein scheint als bei „Homogenität“, wo die „Stute“ mit 0,1 % ins Gewicht fällt, der Untersuchungstag mit 1,9%, die ROI-Größe hingegen mit 41 %.

Auch bei „Korrelation“ fällt, wie bei „Homogenität“, die ROI-Größe mit 49,5% stark ins Gewicht, die übrigen Faktoren haben kaum Einfluss auf die Ergebnisse.

Bei dem Parameter „Kontrast“ ist der Varianzanteil für „Stute“ mit 0,1 % sehr gering, die Varianz für den Untersuchungstag mit 2,7 % deutlich höher, allerdings im Vergleich zur nicht zuordenbaren Restvarianz von 95 % verschwindend gering.

Bei den vier Parametern sind die individuellen Einflüsse des untersuchten Tieres also relativ gering, die deutlichste Zyklusabhängigkeit der Werte ist bei dem Parameter „mittlerer Grauwert“ gegeben (Tab. 4.1).

Der Faktor der ROI-Größe, der sich ja zum Teil stark auf die Ergebnisse auswirkt, spielt bei der Beurteilung der Gesamtfläche des Uterusquerschnitts keine Rolle. Da sich die Gesamtflächenauswertung als die Methode mit der geringsten Varianz erwies (Tab. 4.8 bis Tab. 4.11), gehen die Schwankungen in den Ergebnissen, die durch die unterschiedlichen ROI-Größen verursacht werden, nicht in die Bewertung ein.

### 5.1.2 Wiederholbarkeit der Untersuchungen

Schwerpunkt der Arbeit war es, die Wiederholbarkeit der Echotexturanalyse in allen Zyklusphasen bei gesunden Stuten zu zeigen und eine möglichst geringe methodisch bedingte Varianz zu erreichen. Deswegen wurden von jeder Stute in jeder Zyklusphase jeweils 10 Schnittbilder vom Uterus gewonnen und auf unterschiedliche Art ausgewertet.

Zunächst wurde ein Vergleich der Ergebnisse von linkem und rechtem Uterushorn bei allen Stuten und allen Untersuchungstagen durchgeführt, um etwaige Schwankungen in den Werten durch klinisch nicht feststellbare pathologische Veränderungen, sei es des gesamten Uterushorns oder regionaler Art, auszuschließen. Da sich keine signifikanten Unterschiede ergaben (Tab. 4.2 bis Tab. 4.5), wurde daraus geschlossen, dass die Ergebnisse nicht getrennt nach Uterushörnern betrachtet werden mussten. Auch wurde so der klinische Eindruck bestätigt, dass es sich um gesunde Tiere handelt. Aus der Erfahrung mit Biopsieproben ist bekannt, dass bei der Entnahme deutliche Unterschiede zwischen den Uterushörnern einerseits, aber auch zwischen den Regionen eines Uterushorns andererseits, auftreten können (DYBDAL 1991, BLANCHARD 1987). Dies war, mit gewissen Ausnahmen, bei den hier untersuchten Stuten nicht der Fall. Je nach Auswertungsmethode ergaben sich nur in wenigen Fällen signifikante Unterschiede zwischen der Untersuchung des linken und rechten Uterushorns, meist lagen diese aber noch im Bereich der Standardabweichung. Es erscheint deshalb ratsam, mehrere Schnittbilder von beiden Uterushörnern auszuwerten, um nicht durch etwaig vorhandene regionale Veränderungen verfälschte Ergebnisse zu erhalten. Einzelne Abweichungen zwischen linkem und rechtem Uterushorn müssten genauer darauf hin untersucht werden, ob es sich um regionale pathologische Veränderungen handelt, wie die Erfahrungen mit Biopsieproben nahe legen, oder um methodisch bedingte Abweichungen.

Die Platzierung der ROIs nahm Einfluss auf die Schwankungsbreite der Ergebnisse eines Untersuchungstages bei der einzelnen Stute (Tab.4.7). Der Variationskoeffizient der ROIs, die im oberen Quadranten des Uterusquerschnitts liegen (ROI „a“), war am höchsten, obwohl dies der Bereich ist, der mit bloßem Auge am schärfsten wirkt, sprich, die Fokuszone der Ultraschallsonde. Dies könnte eventuell mit den von DELORME und ZUNA (1995) beschriebenen Beobachtungen zusammenhängen, dass Geräte mit homogen „mittelmäßiger“ Bildqualität zu einer geringeren Varianz der Ergebnisse führen. Dafür spricht auch, dass die ROIs im

linken und rechten Quadranten (ROIs „b“ und „c“) von den Untersuchungen einzelner ROIs die Ergebnisse mit der geringsten Schwankungsbreite lieferten. Dort könnte man die Bildqualität als „homogen mittelmäßig“ bezeichnen. Die Auswertung der ROIs im unteren Quadranten (ROI „d“) führte zu einer etwas höheren Standardabweichung.

Die Größe der ROIs, die zu den Ergebnissen mit dem kleinsten Variationskoeffizienten führte, war für die Texturparameter „mittlerer Grauwert“, „Homogenität“ und „Korrelation“ 256, also 16 auf 16 Pixel. Eine mögliche Erklärung dafür, dass die Schwankungsbreite der Ergebnisse nicht geringer wird, je größer die ausgewertete Fläche ist, könnte sein, dass bei sehr großen ROIs auch Regionen mit kleineren Artefakten in die Untersuchung einbezogen wurden, da die insgesamt auswertbare Fläche ja begrenzt ist und Überlappungen der ROIs vermieden werden sollten. So gibt es bei großen ROIs nur eine begrenzte Entscheidungsfreiheit darüber, wo sie gesetzt werden, wenn 4 ROIs im Uterusquerschnitt Platz finden sollen. Bei kleinen ROIs, aber auch bei der Gesamtflächenauswertung konnten Regionen im Ultraschallbild, von denen fraglich ist, ob sie Artefakte enthalten, umgangen werden.

Lediglich für den Texturparameter „Kontrast“ waren große ROIs günstiger als kleine. Wie „Homogenität“ und „Korrelation“ basiert dieser Texturparameter auf der Untersuchung von Vektoren, bei denen alle möglichen Pixelpaare in Abständen von 1 bis 5 Pixel und den Winkeln von 45°, 90° und 135° untersucht werden. Bei ROIs von 16 auf 16 Pixel können weniger Pixelpaare mit größeren Abständen untersucht werden. Vielleicht spielte dies bei dem Texturparameter „Kontrast“ eine größere Rolle als bei „Homogenität“ und „Korrelation“.

Die Auswertung der Gesamtfläche des Endometriums war jedoch der Beurteilung einzelner ROIs, gleich an welcher Stelle im Uterusquerschnitt und gleich welcher Größe, deutlich überlegen.

Der kleinste Variationskoeffizient, der beim Setzen einzelner ROIs erreicht werden konnte, betrug 20,3 %. Für die ROIs im linken und rechten Quadranten, die sich als am geeignetsten erwiesen, lag der Wert im Schnitt, ohne nach ROI-Größen zu trennen, zwischen 25,5 % und 31,7 %. Dagegen konnten bei der Gesamtflächenauswertung für den „mittleren Grauwert“ Schwankungsbreiten von nur 11,7 % erzielt werden, wenn nach Stuten und Zyklustagen getrennt untersucht wurde. Für „Homogenität“ lag der Variationskoeffizient bei 14,7 %, bei dem Texturparameter „Kontrast“ bei 15,4 % und bei „Korrelation“ 9,4 %.

So scheint die Auswahl einer möglichst großen Fläche, die nicht an festgelegte Formen, wie eine bestimmte Kantenlänge oder eine bestimmte Platzierung im Uterusquerschnitt gebunden ist, aber eine visuelle Elimination von qualitativ schlechteren Bildregionen und Artefakten erlaubt, dem Setzen einzelner ROIs deutlich überlegen zu sein. Ob diese Gesetzmäßigkeiten auch für die Auswertung von Ultraschallbildern von pathologisch verändertem Endometrium zutreffen, bleibt noch zu untersuchen.

Betrachtet man die Ergebnisse der Gesamtflächenauswertung nach Stuten und Texturparametern getrennt, fällt auf, dass sich zum Teil deutliche Unterschiede in den Variationskoeffizienten ergaben. Stute Nr. 3 brachte bei allen Texturparametern die höchsten Variationskoeffizienten. Auch subjektiv wurden die Ultraschallbilder von Stute Nr. 3 rein visuell als die „schlechtesten“ eingeschätzt. Es lag hier eine sehr starke Ödematisierung des Uterus vor und es war schwierig, im Östrus korrekte Uterusquerschnitte aufzunehmen, da die Eindringtiefe der Ultraschallsonde nicht verändert werden durfte, um bei allen Stuten vergleichbare Ultraschallbilder zu erhalten. Bei den übrigen Stuten fielen keine Besonderheiten auf. Die Variationskoeffizienten schwankten für „mittlerer Grauwert“ bei 5 von 6 Stuten zwischen 9,3 % und 12,1 %, für „Homogenität“ zwischen 11,1 % und 14,7 %, für „Kontrast“ zwischen 13,9 % und 16,6 % und für „Korrelation“ zwischen 8,2 % und 10,6 % (Tab. 4.10).

Diese relativ niedrigen Variationskoeffizienten sollten erlauben, von einer Reproduzierbarkeit der Methode zu sprechen, sie zeigen aber gleichzeitig die Grenzen für den klinisch-diagnostischen oder wissenschaftlichen Einsatz auf.

Divergierende Ergebnisse bei den bereits publizierten Arbeiten von LORBER (1999), GERTSCH (1997) und WEVER et al. (2002) könnten auf die jeweils sehr unterschiedliche Methoden, die in den Arbeiten verwendet worden waren, zurückzuführen sein. Bei den hier vorgelegten Ergebnissen war erstmalig eine direkte Digitalisierung vom Ultraschallgerät aus möglich, so dass Verluste in der Bildqualität, wie sie bei der Auswertung auf Videobändern mit anschließendem Digitalisieren auftreten, vermieden werden konnten. Die Gesamtflächenauswertung des Uterusquerschnitts, die zu den geringsten Varianzen in den Ergebnissen führte, wurde erst durch die Neuentwicklung des hier verwendeten Bildanalyseprogrammes möglich. Teilweise war es in den bisher publizierten Studien auch üblich, sehr kleine ROIs zu setzen. Diese führen zwar wegen der Flexibilität bei der Platzierung meist

zur Auswertung artefaktfreier Regionen, allerdings werden von DELORME und ZUNA (1995) ROI-Größen von 2000 – 10 000 Pixel empfohlen, die in homogene Regionen gesetzt werden sollen. Dies entspricht auf den meisten Ultraschallbildern einer Fläche von 1 – 5 cm<sup>2</sup>. Kleinere ROIs führen nach Ansicht dieser Autoren zu einer nicht repräsentativen Fläche. Dies setzt hochauflösende Ultraschallsonden voraus, damit das Endometrium entsprechend groß abgebildet werden kann. Selbst dann ist es nur bei der Auswertung der Gesamtfläche möglich, genug Pixel zu erfassen, um Werte mit niedrigen technisch bedingten Varianzen zu erhalten.

## 5.2 Korrelation der Ergebnisse mit dem Zyklusverlauf

Ein zyklusabhängiger Verlauf war nur bei einem der ausgewerteten Texturparameter erkennbar, nämlich bei dem Parameter mittlerer Grauwert (Abb. 4.1). Allerdings muss hinzugefügt werden, dass nur eine kleine Auswahl der zur Verfügung stehenden Parameter ausgewertet wurde. Es wurde auf Parameter zurückgegriffen, die in bereits vorliegenden Arbeiten verwendet worden waren (LORBER 1999, GERTSCH 1997, WEVER et al. 2002). Bei LORBER und WEVER wurde jeweils der mittlere Grauwert untersucht, bei LORBER zusätzlich der mittlere Median; die Ergebnisse deuten auf einen ähnlichen Zyklusverlauf hin wie in der hier vorliegenden Arbeit.

In der Arbeit von GERTSCH wurden mittlerer Grauwert, der Gradient des mittleren Grauwertes, Homogenität und Kontrast untersucht, es konnte kein eindeutiger Zyklusverlauf festgestellt werden.

Von den hier untersuchten Parametern schien noch am ehesten beim „mittleren Grauwert“ ein Zyklusverlauf erkennbar zu sein. Es lag ein signifikanter Abfall von Tag -2 zu Tag 0 und ein signifikanter Anstieg des mittleren Grauwertes von Tag 10 zu Tag 15 vor. Diese Veränderungen konnten bei jeweils 5 der 6 Stuten beobachtet werden. Von Tag 10 bis Tag 15 war bei Stute Nr. 3 kein Anstieg des mittleren Grauwertes zu beobachten. Hierbei handelte es sich um die Stute, bei der es, wie bereits oben erwähnt, problematisch war, im Östrus korrekte Bilder von Uterusquerschnitten zu erstellen. Dies mag als Hinweis zu deuten sein, dass eine inadäquate Aufnahmetechnik durch kein Texturanalyseverfahren ausgeglichen werden kann. Für eine fundierte Aussage über den Zyklusverlauf müssten natürlich Aufnahmen in wesentlich engeren Zeitabständen und über mehrere Zyklen erstellt

werden. Auch Tag -2 ließ sich durch den mittleren Grauwert bei immerhin 5 Stuten signifikant von Tag 10 unterscheiden. Die klinische Relevanz hierfür ist jedoch fraglich, da auch die herkömmliche sonographische Untersuchung hierbei keine Unterscheidungsschwierigkeiten macht (Abb. 4.1 und Tab. 4.14).

Bei dem Texturparameter „Homogenität“ bestand lediglich für 4 von 6 Stuten ein signifikanter Unterschied zwischen Tag 0 und Tag 15 (Abb. 4.2 und Tab. 4.15).

Bei „Kontrast“ ergaben sich nur bei einzelnen Stuten - maximal der Hälfte - signifikante Unterschiede zwischen den Zyklustagen (Abb. 4.3 und Tab. 4.16).

Die Verwendung des Parameters „Korrelation“ führte zu einem signifikanten Unterschied zwischen Tag -2 und Tag 5 bei 5 von 6 Stuten, wobei 4 Stuten einen Abfall des Ergebnisses aufwiesen, eine aber einen Anstieg. Bei letzterer handelte es sich wiederum um Stute Nr. 3. An den übrigen Untersuchungstagen lag die Anzahl der Stuten, die signifikante Unterschiede zwischen den Tagen aufwiesen, maximal bei 4 von 6 (Abb. 4.4 und Tab. 4.17).

Für eine Objektivierung der Aussage über den Zyklusstand scheint eventuell der „mittlere Grauwert“ geeignet, die bei den übrigen Parametern auftretenden Varianzen ließen sich nicht mit dem Zyklusverlauf korrelieren.

Aus der Brustkrebsforschung der Humanmedizin ist jedoch bekannt, dass die Verwendung anderer als der hier untersuchten Parameter, auch die Kombination unterschiedlicher Parameter, zu viel versprechenden Ergebnissen führen kann (BADER et al. 2000, CHANG et al. 2003).

### 5.3 Schlussfolgerungen

Bei allen Arbeiten zu diesem Thema, auch dieser, erweist sich die durch den hohen Arbeitsaufwand und die begrenzte Verfügbarkeit bedingte relativ geringe Anzahl von untersuchten Stuten und Zyklen problematisch. Die hohen Restvarianzen deuten darauf hin, wie stark die Ergebnisse von naturgegebenen Einflüssen abhängen, so dass dazu geraten werden muss, die Zahl der untersuchten Stuten in weiteren Arbeiten zu erhöhen. Aus Arbeiten über Biopsieproben (DYBDAL 1991, BLANCHARD 1987) ist bekannt, dass auch klinisch gesunde Stuten lokal begrenzte Veränderungen des Endometriums aufweisen können. Solche lokalen Veränderungen beeinflussen möglicherweise auch die Ergebnisse der Echotexturanalyse. Bei manchen Stuten kann die Aufnahme korrekter ultrasonographischer Bilder unter standardisierten Bedingungen erschwert sein. Bei geringen Fallzahlen wirken sich

solche „Ausreißer“ auf das Datenmaterial übermäßig stark aus und verleiten unter Umständen zu irrigen Schlussfolgerungen.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten zur Erarbeitung eines Standardverfahrens für die Analyse der Echotextur des Endometriums der Stute beitragen. Besonders die Analyse der Gesamtfläche von Uterusquerschnittsbildern, die nun möglich ist, scheint, soweit es sich aus den vorliegenden Daten schließen lässt, ein viel versprechender Ansatz zu sein. Eventuell könnte damit eine Methode etabliert werden, mit der die Entnahme von Biopsieproben ersetzt werden kann.

## 6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Vergleich unterschiedlicher Auswertungsmethoden ein Verfahren mit möglichst geringer Varianz in den Ergebnissen der Echotexturanalyse am Endometrium der Stute zu finden und so zur Etablierung eines Untersuchungsstandards beizutragen. Darüber hinaus wurden die Auswirkungen des Zyklus auf die Ergebnisse der Texturanalyse bei gesunden Stuten untersucht, um so die Basis für entsprechende Studien über den Einfluss von pathologischen Veränderungen des Endometriums zu schaffen. Zweiter Teil dieser Arbeit war die Erstellung eines Computerlernprogramms über die Anwendung der Ultraschallmethode im Rahmen der gynäkologischen Untersuchung bei der Stute.

Dazu wurden sechs Traberstuten jeweils während eines Zyklus an den Tagen -2, 0 (Tag der Ovulation), 5, 10 und 15 sonographisch mit dem Doppler-Ultraschallgerät SSH 140 A (Toshiba, Tokio/Japan), das mit einer 7,0 MHz Mikrokonvexsonde ausgestattet war, untersucht. Die Bilder wurden direkt digital mit einem Still-Recorder DKR 700 (Sony, Tokio/Japan) gespeichert. Die Auswertung erfolgte mit dem Echostrukturanalyseprogramm MaZda (Technische Universität Lodz, Polen). Neben den biologischen Variablen individuelle Stute, Zyklusstadium und Seitenvergleich zwischen rechtem und linken Uterushorn wurden die methodischen Variablen Größe und Platzierung der region of interest (ROI), sowie 4 verschiedene Texturparameter (mittlerer Grauwert, Homogenität, Kontrast und Korrelation) hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Ergebnisse der Echostrukturanalyse überprüft.

Die ROI-Größe (256, 1024 und 2500 Pixel) wirkte sich nicht erheblich auf die Genauigkeit der Untersuchung aus.

Dagegen waren in Abhängigkeit von der Platzierung der ROIs signifikante Unterschiede festzustellen. Der oberste Quadrant des Uterusquerschnitts wies den höchsten Variationskoeffizienten auf (je nach Texturparameter 43,8 % bis 49,8 %), im linken und rechten Quadranten war die Variation geringer (25,5 % bis 31,7 %). Deutlich geringere Schwankungen von 11,7 % für den mittleren Grauwert, mit 14,7 % für die „Homogenität“, für „Kontrast“ mit 15,4 % und für „Korrelation“ mit 9,4 %, ergaben sich, wenn an Stelle der flächenmäßig begrenzten ROIs die Gesamtfläche des Uterusquerschnitts verwendet wurde.

Der Vergleich der oben genannten Variationskoeffizienten (9,4% bis 15,4%) lässt den Schluss zu, dass der verwendete Texturparameter keinen deutlichen Einfluss auf die Genauigkeit der Ergebnisse hatte.

Deutliche Abweichungen zwischen den Untersuchungen des linken und rechten Uterushorns, die auf pathologische Veränderungen des Endometriums hätten schließen lassen, wurden bei keiner Stute gefunden.

Es bestanden beträchtliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen der sechs Stuten. Die Variationskoeffizienten schwankten, je nach verwendetem Texturparameter, zwischen 7,5 % für den Texturparameter „Korrelation“ (Min.) und 19,8% für „Homogenität“ (Max.).

Der Einfluss des Zyklusstadiums auf die Ergebnisse der Echotexturanalyse wurde an Hand der Gesamtflächenauswertung beurteilt. Es konnte keine Zyklusabhängigkeit der Präzision der Ergebnisse gefunden werden. Die Variationskoeffizienten bewegten sich zwischen 8,0 % bei dem Texturparameter „Korrelation“ am Tag 5 und 17,7 % für „Kontrast“ am Tag -2.

Nur bei dem Texturparameter „mittlerer Grauwert“ konnte ein deutlicher Zyklusverlauf festgestellt werden. Gegen Ende des Diöstrus (zwischen Tag 10 und Tag 15) kam es bei 5 von 6 Stuten zu einem signifikanten Anstieg der Werte, kurz vor der Ovulation (zwischen Tag -2 und 0) fielen die Werte wiederum bei 5 von 6 Stuten signifikant ab. Die „Korrelation“ erlaubte eine Unterscheidung von Tag -2 und Tag 5 (Abfall) bei 5 Stuten. Die übrigen Parameter wiesen keinen eindeutig erkennbaren Zyklusverlauf auf.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass die Methode der Gesamtflächenauswertung als Standard für die Echotexturanalyse des Endometriums der Stute geeignet ist. Dagegen bedürfen Aussagen über den Zyklusstand anhand von Echotexturanalyse zusätzlicher Überprüfungen mit anderen Texturparametern oder Texturparameterkombinationen. Eine weitere interessante Aufgabe wäre es, die Auswirkungen pathologischer Veränderungen des Endometriums auf die Ergebnisse der Echotexturanalyse zu untersuchen.

## 7 Summary

### **„Influence of biological and methodical factors on the results of echotexture analysis of the endometrium in the mare.”**

The aim of this study was to find a way of echostructure analysis in the endometrium of the mare with a low variance by comparing different methods and to contribute to establishing a standard of examination. Another aim was investigate the effects of the cycle of healthy mares on the results of texture analysis in the endometrium which may help in the estimation of the impact of pathological changes. The second part of this thesis was the establishment of a computer-based training program for students covering gynaecologic scanning of the mare.

Six trotter mares were therefore monitored sonographically on day -2, day 0 (day of ovulation), day 5, 10 and 15 with a Doppler ultrasonograph (SSH 140 A, Toshiba) which was equipped with a 7 MHz microconvex probe. The images were directly digitized with a still-recorder DKR 700 (Sony, Tokyo, Japan). For the echostructural analysis the software MaZda (Technical University Lodz, Poland) was used. Apart from the biological variables individual mare, day of cycle and left or right uterine horn, methodical variables like placement and size of the regions of interest (ROI) four texture parameters (“mean grey value”, “homogeneity”, “correlation” as well as “contrast”) were tested for their effects on the results of echotexture analysis.

The size of the ROIs (256, 1024 and 2500 pixel) did not have a significant effect on the results.

Placing single regions of interest (ROIs) in the upper, left and right and bottom quarter of the endometrial sectional view, however, showed that the variance of the results of the upper ROIs was the highest, with a variation coefficient of 43.8 % to 49.8 %, depending on the texture parameter used. The left and right ROI showed a much lower standard deviation (25.5 % to 31.7 %). Analysing the whole sectional view of the endometrium gave the most precise results with a variation coefficient of 12 % for the texture parameter “mean grey value”, 14.7 % for “homogeneity”, 15.4 % for “contrast” and 9.4 % for “correlation”.

The upper variations show that there was no distinct difference in precision between the echostructural parameters used.

A discrepancy between the examination of the right and the left uterine horn, which would have suggested that there were pathological changes in one of the mares, could not be found.

There were significant differences in the results of the six individual mares. The variation coefficients ranged from 7.5% for the texture parameter “correlation” (minimum) to 19.8% for “homogeneity” (maximum).

The effects of the cycle on the results of echotexture analysis were assessed by means of the analysis of the whole sectional view of the endometrium. The examination did not reveal any dependence of the precision of the results from the cycle stage. The variation coefficients ranged from 8.0 % for the texture parameter “correlation” on day 5 to 17.7 % for “contrast” on day -2.

Only the texture parameter “mean grey value” proved to have a clear cyclic course. Towards the end of the dioestrus (between days 10 and 15) five of six mares showed a significant increase of the values, whereas shortly before the ovulation (between days -2 and 0) the values of five out of six mares decreased. The other parameters do not show a clearly distinguishable cyclic course.

The data obtained in this study admit the conclusion that analysing the entire endometrial sectional view could be a standard for studies about the echotexture of the mare’s endometrium. However, statements on cyclic changes made on the basis of echotexture analysis would require additional examinations. Cyclic changes might be shown with other texture parameters or combinations of texture parameters. It would also be interesting to investigate the effects of pathological changes in the endometrium on the results of echotexture analysis.

## Literaturverzeichnis

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

Does texture analysis improve breast ultrasound precision?  
Ultrasound Obstet Gynecol **15**, 311-316

BLANCHARD T.L., M.C. GARCIA, L.D. KINTER und R.M. KENNEY (1987):

Investigation of the representativeness of a single endometrial sample and the use of trichrome staining to aid in the detection of endometrial fibrosis in the mare.

Theriogenology **28**, 445-450

BURGER R. E., C.D. Frost und K.J Dalton (1987):

Computerized ultrasonic image analysis for placental characterization in normal and hypertensive pregnancies.

Int J Biomed Comput **21**, 95-111

CHANG R. F., W.J. Wu, W.K. Moon und D.R. Chen (2003):

Improvement in breast tumor discrimination by support vector machines and speckle-emphasis texture analysis.

Ultrasound Med Biol **29**, 679-686

DELORME S. und I. ZUNA (1995):

Quantitative Auswerteverfahren in der B-Bild- und Farbdopplersonographie.

Ultraschall Klin Prax **10**, 50-61

DYBDAL N.O., P.F. DAELS, M.A. COUTO, J.P. HUGHES und P.C. KENNEDY (1991):

Investigation of the reliability of a single endometrial biopsy sample, with a note on the correlation between uterine cysts on biopsy grade.

J Reprod Fert Suppl **44**, 697

EBERSPÄCHER J. (1991):

Ultraschall in der bildgebenden Diagnostik.

Der praktische Tierarzt **9**, 739-744

GASTAL E.L., M.O. GASTAL, und O.J. GINTHER (1998):

The Suitability of Echotexture Characteristics of the Follicular Wall for Identifying the Optimal Breeding Day in Mares.

Theriogenology **50**, 1025-1038

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

Improving the distinction between benign and malignant breast lesions: the value of sonographic texture analysis.

Ultrasonic Imaging **15**, 267-285

GEBEL M. J. (2000):  
Neue Modifikationen und Verfahren der Sonographie und ihre praktische Bedeutung.  
*Internist* **41**, 3-9

GERTSCH U. (1997):  
Bildanalytische Untersuchungen zur Bestimmung der Oedematisierung des Uterus  
bei der Stute.  
Vet med Diss, Bern

GINTHER O.J. (1979):  
Reproductive Biology of the Mare.  
Kap. 3: Sexual Behaviour  
Hrsg.: GINTHER O.J.  
Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin

GINTHER O.J. (1995):  
Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Fundamentals, Book 1.  
Teil 1: Principles  
Hrsg.: GINTHER O.J.  
Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin

GINTHER O.J. und R.A. PIERSON (1984):  
Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus.  
*Theriogenology* **21**, 505-516

GRIFFIN P.G. and O.J. GINTHER (1991):  
Dynamics of uterine diameter and endometrial morphology during the estrus cycle  
and early pregnancy in mares.  
*Animal Reproduction Science* **25**, 133-142

HERMES R. (1997):  
Sonographie der Trächtigkeit beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*) und  
Quantifizierung endometrialer Veränderungen während der Diapause mittels  
computergestützter Graustufenanalyse.  
Vet med Diss Berlin

HUBER S., J. DANES, I. ZUNA, J. TEUBNER, M. MEDL, and S. DELORME (2000):  
Relevance of sonographic b-mode criteria and computer-aided ultrasonic tissue  
characterisation in differential/diagnosis of solid breast masses.  
*Ultrasound in Med & Biol* **26**, 1243-1252

LEIDL W. (1993):  
Die Sonographie in der gynäkologischen Diagnostik.  
*Tierärztl Praxis Suppl* **53**, 7

LIEBACK E., M. NAVROCKI, R. MEYER, J. VILSER, J. BELLACH und R. HETZER  
(1991):  
Erkennung einer Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation durch  
echokardiographische Gewebedifferenzierung.  
*Z Herz- Thorax-, Gefäßchirurgie* **5**, 207 – 214

LIEBICH H.G. (1993):  
Funktionelle Histologie.  
Verlag Schattauer, Stuttgart, New York

LORBER K. (1999):  
Ultrasonographische Gewebetexturanalyse des equinen Endometrium mit Hilfe einer  
computergestützten Graustufenanalyse.  
Vet med Diss Hannover

MORRIS D.T. (1988):  
An evaluation of the use of echotexture measurements for the tissue characterisation  
of ultrasonic images of in vivo human placentae.  
Ultrasound in Med & Biol **14**, 387-395

PALMER E. und M.A. DRIANCOURT (1980):  
Use of Ultrasonic Echography in Equine Gynecology (a).  
Theriogenology **13**, 203-211

PIERSON R.A. und G.P. ADAMS (1995):  
Computer-Assisted Image Analysis, Diagnostic Ultrasonography and Ovulation  
Induction: Strange Bedfellows.  
Theriogenology **43**, 105-112

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

RÄTH U., D. SCHLAPS, B. LIMBERG, I. ZUNA, A. LORENZ, G. VAN KAICK, W.J.  
LORENZ, und B. KOMPERELL (1985):  
Diagnostic Accuracy of Computized B-Scan Texture Analysis and Conventional  
Ultrasonography in Diffuse Parenchymal and Malignant Liver Disease.  
J Clin Ultrasound **13**, 87-99

ROSSDALE P. D. und RICKETTS S.W. (1980):  
Equine Stud Farm Medicine.  
Kap. 1: Events Leading to Conception  
Baillière Tindall a division of Cassell Ltd. 1<sup>ST</sup>. Anne's Road, Eastbourne

RUBERTE J., A. CARRETERO, M. FERNANDEZ, M. NAVARRO, G. CAJA, F.  
KIRCHNER und X. SUCH (1994):  
Ultrasound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical  
section.  
Small Ruminant Res **13**, 199-204

SCHMAUDER, S. (2003)  
Zyklus- und entzündungsbedingte Veränderungen der endometrialen Echostruktur  
beim Rind unter Berücksichtigung der Stickstoffmonoxid-Synthase-Expression  
Vet. Med. Diss München

SCHUMMER A. und VOLLMERHAUS B. (1987):  
Harn- und Geschlechtsapparat.  
In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 2  
Hrsg.: Nickel R., A. Schummer, A. Seiferle  
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

SINGH J., R.A. PIERSON, und G.P. ADAMS (1997):  
Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and funktional correlates.  
J of Reproduction and Fertility **109**, 35-44

SOHN C., W. STOLZ und G. BASTERT (1992):  
Erste Ergebnisse einer neuen Methode zur sonographischen Lungenreifediagnostik.  
Ultraschall Med **13**, 37-40

SZCZYPINSKI P., M. KOCIOLEK, A. MATERKA und M. STRZELECKI (2001):  
Computer program for image texture analysis in phd students laboratory.  
International conference on signals and electronic systems, Łódź-Poland, 255-262

TEKESIN I, M. MEYER-WITTKOPF, F. SIERRA und S. SCHMIDT (2002):  
Quantitative ultrasonic tissue characterization of the cervix - A new predictor for prematurity?  
Z Geburtshilfe Neonatol **206**, 88-93

TOM J.W., R.A. PIERSON, und G.P. ADAMS (1998):  
Quantitative Echotexture Analysis of Bovine Corpora Lutea.  
Theriogenology **49**, 1345-1352

ÜBERMUTH K. C., P. BARTMANN und H. WISSDORF (1998):  
Weibliche Geschlechtsorgane, Milchdrüse und Harnorgane  
In: Praxisorientierte Anatomie des Pferdes.  
Hrsg.: Wissdorf H., H. Gerhards und B. Huskamp Verlag M.&H. Schaper, Alfeld, Hannover

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

WISCHNIK A, R. STOCKLEIN und T. WERNER (1999):  
Evaluating the pregnant cervix uteri by ultrasound with computer-assisted texture analysis.  
Z Geburtshilfe Neonatol **203**, 115-119

## Danksagung

Bei Herrn Professor Dr. R. Stolla und Herrn Professor Dr. H. Bollwein möchte ich mich an dieser Stelle sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die Betreuung und die Korrektur der Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. W. Leidl verdanke ich unermüdliche und stets prompte Unterstützung in Rat und Tat beim Erstellen des Computerlernprogrammes, mit all seinen Tücken, seine Denkanstöße für die wissenschaftliche Arbeit und die vielen, langen, anregenden Gespräche, die mir immer wieder neue Wege eröffnet haben.

Herrn Dr. R. Mayer und Dr. L. Diaz danke ich für die unkomplizierte und mit viel persönlichem Einsatz verbundene Betreuung „vor Ort“.

Mein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern, besonders den Pflegern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik, vor allem denen am Oberwiesenfeld. Ohne ihre tatkräftige und freundliche Unterstützung wäre meine Arbeit nicht möglich gewesen.

## Lebenslauf

**Name:** Julia Gabriele Elisabeth Kretzschmar  
**Geburtsdatum:** 07.08.1977  
**Geburtsort:** München  
**Staatangehörigkeit:** deutsch  
**Eltern:** Eva Kretzschmar, geb. Noske, Verlagsangestellte  
Max Kretzschmar, Übersetzer  
**Familienstand:** ledig

### Schulischer und beruflicher Werdegang:

1984 - 1988 Grundschule an der Bazaillesstr. in München  
1988 - 1997 St. - Anna - Gymnasium in München  
27.06.1997 Allgemeine Hochschulreife  
1995 - 1998 stellv. Zugführung bei der Johanniter - Unfall - Hilfe, KV München  
1996 Rettungssanitäterausbildung bei der Johanniter - Unfall - Hilfe  
1997 - 2003 Studium der Tiermedizin an der Ludwigs - Maximilians - Universität, München  
12.02.2003 Abschluss des Studiums der Tiermedizin  
ab 03 2003 Anfertigung der Dissertation an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der LMU München