

Zur morphologischen Interpretation von Endometriumbiopsien bei der Stute – eine retrospektive Studie

Christine Aurich¹, Cathrin Maric¹ und Jörg Aurich²

Besamungs- und Embryotransferstation¹ und Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie², Veterinärmedizinische Universität Wien

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie erfolgte eine retrospektive Aufarbeitung pathohistologischer Befundbeschreibungen von Endometriumbiopsien von Stuten, die zu einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung vorgestellt wurden. Es wurde ermittelt, in wie fern Altersgruppe (bis 8 Jahre, 9 bis 12 Jahre, > 12 Jahre) und Zyklusstand (saisonalen Anöstrus, Rosse, Lutealphase) die Befunde beeinflussten. Bei Stuten mit bekannter weiterer Zuchtnutzung wurde auch die Fruchtbarkeit mit der pathohistologischen Befundung der Biopsien korreliert. Zur Auswertung wurden die pathohistologischen Befundbeschreibungen von insgesamt 129 Endometriumbiopsien von 125 Stuten herangezogen. Es wurden nur Biopsien von Stuten ohne klinisch nachweisbare Veränderungen der äußeren und inneren Geschlechtsorgane mit negativer uteriner Tupferprobe in die Studie einbezogen. Die Altersgruppe der Stute hatte einen signifikanten Einfluss auf die Kategorisierung der Endometriumbiopsie nach *Kenney* und *Doig* (1986) mit einer höheren Anzahl von Biopsien der Kategorien I bis IIA in der jüngsten Altersgruppe ($p < 0,05$). Auch die Beurteilung der Ausprägung chronisch-degenerativer Veränderungen wurde durch die Altersgruppe beeinflusst ($p < 0,05$). Der Zyklusstand der Stuten beeinflusste die Aktivität des Endometriums signifikant, d.h. bei Stuten im saisonalen Anöstrus wurde die Aktivität im Mittel als geringer beurteilt ($p < 0,01$), nicht aber die anderen untersuchten Kriterien. Eine geringgradige chronisch nicht-eitrige Endometritis wurde bei 103 Stuten, eine diskret eitrige Endometritis bei 12 Stuten diagnostiziert. Von den vorgestellten Stuten wurden 61 innerhalb von 12 Monaten nach Biopsieentnahme zur Zucht verwendet, davon 51 Stuten zwischen Tag 15 und 18 nach Ovulation als tragend befunden, während bei 10 Stuten keine Trächtigkeit festgestellt werden konnte. In den beschriebenen pathohistologischen Kriterien wurden weder qualitativ noch quantitativ Unterschiede zwischen solchen Stuten, die tragend wurden und solchen, die güst blieben, festgestellt (n.s.). Stuten, die güst blieben, gehörten signifikant häufiger einer höheren Altersgruppe an als solche, die tragend wurden ($p < 0,05$). Zusammenfassend bestätigen die vorliegenden Ergebnisse die Bedeutung der pathohistologischen morphologischen Beurteilung von Endometriumbiopsien für die Prognose der Fruchtbarkeit von Zuchtstuten.

Schlüsselwörter: Pferd, Endometriumbiopsie, Kategorisierung, Alter, Reproduktion

The interpretation of endometrial biopsies in mares – a retrospective study

Morphologic alterations in the endometrium of mares collected at a breeding soundness evaluation were assessed. The influence of age group (<9 years, 9 to 12 years, > 12 years) and stage of the oestrous cycle (seasonal anoestrus, oestrus, luteal phase) on the endometrial findings was determined. A total of 129 endometrial biopsies collected from 125 mares were evaluated. Only biopsies collected from mares that had no clinical alterations of the external and internal genitalia and a negative uterine culture were included into the study. Age group of mares significantly influenced the classification of their biopsies according to *Kenney* und *Doig* (1986). A higher number of young mares was classified in category I to IIA than in the other groups ($p < 0.05$). Chronic degenerative alterations of the endometrium occurred more frequently in older mares ($p < 0.05$). The endometrium of seasonally anoestrous mares was less active than in cyclic mares ($p < 0.01$). In 103 mares, a chronic infiltrative endometritis and in 12 mares, a light acute endometritis was detected. Sixty-one mares were bred within 12 months after collection of the biopsy, 51 of them became pregnant, but 10 mares did not conceive. No significant differences in the morphological alterations of the endometrial biopsies in the 2 groups were seen. However, mares that remained barren were older than mares that conceived ($p < 0.05$). In summary, findings of the present study support previous observations that endometrial biopsy is a valuable diagnostic and prognostic tool in the evaluation of fertility in the mare.

Keywords: horse, endometrial biopsy, classification, age, reproduction

Einleitung

Bei der Stute stellen chronisch-degenerative Veränderungen des Endometriums eine häufige Ursache für Fertilitätsstörungen dar. Die Beurteilung von Endometriumbiopsien wird beim Pferd seit den 1960er Jahren als klinische Untersuchungsmethode eingesetzt. Eine deutliche Verbesserung der Entnahmetechniken und der Beurteilung der Biopate entwickelte sich bis etwa ab Mitte der 1980er Jahre (*Schlafer* 2007). Grundlage für die Beurteilung von equinen Endometriumbiopsien aufgrund lichtmikroskopischer Befunde an mit Haematoxylin und Eosin gefärbten Schnittpräparaten und deren Interpretation ist meist heute noch das von *Kenney* und *Doig* (1986) veröffentlichte Kategorisierungssystem. In die Beurteilung ein-

bezogen werden histologische Charakteristika wie Anzeichen einer akuten oder chronischen Endometritis, einer endometrialen Fibrose oder Atrophie. Diese führt zur Einteilung in die Kategorien I (keine Veränderungen), IIA (geringe Veränderungen), IIB (mittelgradige Veränderungen) und III (hochgradige Veränderungen). Die Kategorien sind mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten, dass die Stute in der kommenden Zuchtsaison ein Fohlen austragen wird, in Beziehung gesetzt worden (*Kenney* und *Doig* 1986). Die Aussagefähigkeit wird im Allgemeinen als gut betrachtet (*Schlafer* 2007), die Einbeziehung des Vorberichtes in die Beurteilung spielt aber eine nicht unwesentliche Rolle. Auch das weitere Management der Stute beeinflusst die Wahrscheinlichkeit einer weiteren Träch-

tigkeit deutlich (Schoon et al. 1997). Ein Vorteil der Kategorisierung ist, dass sie international Verwendung findet und daher die Kommunikation nicht nur zwischen in der Klinik tätigen Tierärzten, sondern auch bei wissenschaftlichen Publikationen erheblich vereinfacht.

In den letzten Jahren sind eine Vielzahl von cytochemischen sowie immunhistochemischen Methoden zur genaueren Beurteilung von Endometriumbiopsien publiziert worden. Diese ermöglichen teilweise wesentlich genauere Aussagen, so z.B. über die Ausprägung fibrotischer Veränderungen (Blanchard et al. 1987, Evans et al. 1998, Walter et al. 2001a, Ganjam und Evans 2006), die Verteilung von Steroidhormonrezeptoren (Aupperle et al. 2000), die Anwesenheit von Makrophagen (Summerfield und Watson 1998), proliferative (Aupperle et al. 2000) oder sekretorische Eigenschaften (Walter et al. 2001b, Hoffmann et al. 2009) des Gewebes. Viele dieser Methoden sind jedoch aufwändig und werden daher vorwiegend für wissenschaftliche Untersuchungen eingesetzt, während eine routinemäßige Anwendung nur gut ausgerüsteten Speziallabors möglich ist.

In der vorliegenden Studie erfolgte eine retrospektive Aufarbeitung pathohistologischer Befundbeschreibungen von Endometriumbiopsien von Stuten, die zu einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung vorgestellt wurden. Es wurde ermittelt, in wie fern Altersgruppe und Zyklusstand die Befunde beeinflussten. Bei Stuten mit bekannter weiterer Zuchtnutzung und Belegung auf der eigenen Station wurde darüber hinaus ermittelt, in wie weit die Fruchtbarkeit der Stuten mit der pathohistologischen Befundung der Biopsien korrelierte.

Material und Methode

Untersuchungsmaterial

Zur Auswertung wurden die pathohistologischen Befundbeschreibungen von insgesamt 129 Endometriumbiopsien herangezogen. Die Stuten waren von ihren Besitzern an der Besamungs- und Embryotransferstation zur Zuchttauglichkeitsuntersuchung vorgestellt worden, weil eine Prognose bezüglich der Fruchtbarkeit bei einer Belegung gestellt werden sollte. Entweder erfolgte dies vor der ersten Belegung im Leben der Stute oder nachdem diese mindestens in der vorhergehenden oder laufenden Zuchtsaison trotz wiederholter Belegung nicht tragend geworden war. Darüberhinausgehende zuverlässige Angaben bezüglich der Günstzeit waren in vielen Fällen nicht verfügbar, da in vielen Fällen Stuten ihren Besitzer gewechselt hatte. Vor Entnahme eines Endometriumbiopsates erfolgte stets eine eingehende gynäkologische Untersuchung inklusive Entnahme einer Uterustupferprobe für die bakteriologische Untersuchung (Aurich et al. 2010). Es wurden nur Biopsien von solchen Stuten in die Studie einbezogen, die bei der Untersuchung klinisch allgemeines und waren und bei denen keine klinisch nachweisbaren Veränderungen der äußeren und inneren Geschlechtsorgane vorlagen. Weiterhin wurden Stuten mit Nachweis von bedingt pathogenen Keimen in der Uterustupferprobe (β -hämolyisierende Streptokokken, hämolyisierende Staphylokokken, *Escherichia coli*) ausgeschlossen. Die Ermittlung des Zyklusstandes (Rosse, Gelbkörperphase, saisonaler Anöstrus) erfolgte aufgrund der Befunde der gynäkologischen Untersu-

chung (Aurich et al. 2010), in den meisten Fällen wurde außerdem die Konzentration von Progesteron im Plasma bestimmt. Stuten mit einer Plasmaprogesteronkonzentration $<0,64$ ng/ml mit dominantem Follikel >30 mm Durchmesser, ultrasonographisch darstellbarem Endometriumsödem („Radspeichenstruktur“) im Uterus sowie einer Zervix, die sich bei der vaginalen Inspektion ödematisiert, hyperämisch, geöffnet und feucht darstellte, wurden der Zyklusphase „Rosse“ zugeordnet. Stuten mit Zuordnung zur Gruppe „Gelbkörperphase“ hatten eine Progesteronkonzentration $>0,64$ ng/ml Plasma sowie einen ultrasonographisch darstellbaren Gelbkörper bei ultrasonographisch homogener Beschaffenheit des Endometriums. Ihre Zervix war bei der vaginalen Inspektion trocken, geschlossen und blass. Stuten im saisonalen Anöstrus wurden in den Wintermonaten vorgestellt und zeigten nur kleine Follikel (<2 cm Durchmesser) bei Fehlen eines Gelbkörpers (Progesteron $<0,64$ ng/ml Plasma) sowie eines Endometriumsödems.

Die Entnahme der Endometriumbiopsate erfolgte nach Standardmethoden (Walter et al. 2001a, Aurich et al. 2010) an der Basis eines der beiden Uterushörner. Die Endometriumbiopsate wurden unmittelbar nach der Entnahme in 4% Formaldehyd fixiert und zur weiteren Verarbeitung in das Institut für Pathologie und Gerichtliche Veterinärmedizin der Veterinärmedizinischen Universität Wien verbracht. Ein Begleitschreiben informierte über den Vorbericht (insbesondere Informationen zur vorhergehenden Zuchtnutzung) sowie über Alter und Zyklusstand der Stute. Es erfolgte die weitere Verarbeitung sowie Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (Walter et al. 2001a).

Pathohistologische Befundbeschreibung und Beurteilung

Die Beurteilung erfolgte durch erfahrene Pathohistologen, die neben der Klassifizierung nach Kenney und Doig (1998) eine Beschreibung des pathohistologischen Bildes übermittelten. Die Zuordnung nach Kenney und Doig (1998) erfolgte in die Klassen I: keine, IIA: geringgradige, IIB: mittelgradige, III: hochgradige Veränderungen. Die Befundbeschreibung enthielt insbesondere Hinweise auf den Zustand des Schnittes, die Aktivität des Endometriums (gut, mäßig, schlecht), das eventuelle Vorhandensein von Anzeichen einer Endometritis (aufgrund von Zellinfiltrationen; keine Hinweise, Vorhandensein von Lymphozyten oder Plasmazellen: chronisch nicht-eitrig, aufgrund von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten: diskret eitrig), sowie fibrotische Veränderungen von Einzeldrüsen (gering- bis hochgradig), die Ausbildung von Drüsennestern (gering- bis hochgradig) und eine abschließende Beurteilung der Ausprägung der chronisch-degenerativen Veränderungen (gering- bis hochgradig).

Statistische Auswertung

Die Beschreibung des pathohistologischen Bildes wurde mittels eines Schlüssels codiert und zusammen mit Angaben zu Rasse, Alter und Zyklusstand der Stuten erfasst. Bei Stuten, die anschließend an die Entnahme des Endometriumbiopsates zur Zucht verwendet wurden wurde außerdem soweit möglich registriert, ob sie tragend wurden, oder güst blieben. Die weitere statistische Auswertung erfolgte mit dem Pro-

gramm PASW 17.9 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). Die Auswertung der Beschreibung der Endometriumbiopsiate erfolgte nach Zyklusstand (Anöstrus, Rosse, Gelbkörperphase) sowie Altersgruppe (bis 8 Jahre, 9 bis 12 Jahre, 13 Jahre und älter) der Stute zum Zeitpunkt der Probenentnahme sowie nach Ergebnis der weiteren Zuchtnutzung (tragend, güst). Da ausschließlich nicht-parametrische Daten vorlagen, erfolgte die Auswertung der quantitativ bewerteten Merkmale mittels Kruskal-Wallis-Test (Zyklusstand, Altersgruppe) bzw. Mann-Whitney-Test (tragend-güst). Bei Auswertung der qualitativ bewerteten Merkmale (Klassifikation nach *Kenney* und *Doig*, Vorhandensein einer chronischen Endometritis) wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson angewendet. Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ vorausgesetzt. Die Angabe von Werten erfolgt als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM).

Ergebnisse

Stuten

Die Endometriumbiopsien stammten von 124 Stuten, die zum Zeitpunkt der Biopsieentnahme ein mittleres Alter von $12,6 \pm 4,5$ Jahre (\pm SD) hatten. Von 5 Stuten wurden zweimal Biopsiate entnommen und untersucht, wobei zwischen den Entnahmen mindestens 2 Jahre vergingen. Bei einer Einteilung nach Altersgruppen gehörten 26 Tiere der Altersgruppe bis 8 Jahre, 34 der Altersgruppe 9 bis 12 Jahre und 62 der Alters-

gruppe älter als 12 Jahre an. Von den Stuten waren 61 Warmblüter, 23 Vollblüter oder Traber, 17 Haflinger, 12 American Quarter Horses und 11 Pferde gehörten anderen Rassen (z.B. Ponies, Noriker) an. Zum Zeitpunkt der Biopsieentnahme konnte bei 105 Stuten der Zyklusstand sicher bestimmt werden. Es befanden sich 14 Stuten im Anöstrus, 28 in der Rosse und 63 in der Gelbkörperphase des Sexualzyklus.

Einfluss von Altersgruppe und Zyklusstand der Stuten

Die Altersgruppe der Stute hatte einen signifikanten Einfluss auf die Kategorisierung der Endometriumbiopsie mit einer höheren Anzahl von Biopsien der Kategorien IIB und III in den höheren Altersgruppen ($p < 0,05$; Tabelle 1). Auch die Beurteilung der Ausprägung chronisch-degenerativer Veränderungen wurde durch die Altersgruppe beeinflusst ($p < 0,05$; Tabelle 2). Dagegen unterschied sich die Beschreibung hinsichtlich Aktivität des Endometriums, fibrotischer Veränderungen von Einzeldrüsen sowie der Ausbildung von Drüsennestern nicht signifikant zwischen den Altersgruppen (Tabelle 2). Der Zyklusstand der Stuten beeinflusste die Aktivität des Endometriums signifikant, d.h. bei Stuten im saisonalen Anöstrus wurde die Aktivität im Mittel als geringer beurteilt ($p < 0,01$, Tabelle 4), nicht aber die anderen untersuchten Kriterien (Tabelle 3, Tabelle 4).

Eine geringgradige chronisch nicht-eitrige Endometritis wurde bei 103 Stuten, eine diskret eitrige Endometritis bei 12 Stuten

Tab. 1 Zuordnung von Endometriumbiopsien zu den Kategorien nach *Kenney* und *Doig* (1986) und Abhängigkeit von der Altersgruppe (n)

Altersgruppe	Kategorie nach <i>Kenney</i> und <i>Doig</i> (1986)			
	I bis IIA	IIA bis B	IIB	III
<9 Jahre (n)	7	14	5	0
9 bis 12 Jahre (n)	6	21	7	0
>12 Jahre (n)	3	30	26	3
Unbekannt (n)	1	5	1	0

$p < 0,05$ zwischen den Gruppen

Tab. 2 Altersgruppe der Stute und pathohistologische Beurteilung der Endometriumbiopsie (Score für alle Parameter: 1: geringgradig, 2: mittelgradig, 3: hochgradig)

	<9 Jahre	9 bis 12 Jahre	>12 Jahre
Anzahl (n)	26	34	62
Ausprägung des Endometriums	$1,3 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$
Vorhandensein fibrotischer Einzeldrüsen	$1,3 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,3$	$1,5 \pm 0,1$
Vorhandensein von Drüsennestern	$1,3 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,3$
Beurteilung der Endometrose	$1,1 \pm 0,1^a$	$1,3 \pm 0,1^b$	$1,4 \pm 0,1^b$

ab: $p < 0,05$ zwischen den Gruppen

Tab. 3 Zuordnung von Endometriumbiopsien zu den Kategorien nach *Kenney* und *Doig* (1986) und Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus

Reproduktionsstatus	Kategorie nach <i>Kenney</i> und <i>Doig</i> (1986)			
	I bis IIA	IIA bis B	IIB	III
Rosse (n)	1	19	8	0
Gelbkörperphase (n)	12	32	17	2
Anöstrus (n)	3	7	4	0
Unbekannt (n)	1	12	10	1

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen

diagnostiziert. Das Auftreten solcher Veränderungen wurde weder von Zyklusstand (Rosse: nicht eitrig 21, eitrig 3; Gelbkörperphase: nicht eitrig 53, eitrig 6; Anöstrus: nicht eitrig 11, eitrig 1), Altersgruppe (<9 Jahre: nicht eitrig 18, eitrig 4; 9 bis 12 Jahre: nicht eitrig 26, eitrig 2; >12 Jahre: nicht eitrig 52, eitrig 6) oder der späteren Fruchtbarkeit (tragend: nicht eitrig 40, eitrig 4; nicht tragend: nicht eitrig 6, eitrig 3) der Stuten beeinflusst.

Weitere Fruchtbarkeit der Stuten

Von den vorgestellten Stuten wurden 61 innerhalb von 12 Monaten nach Biopatientnahme zur Zucht verwendet und entweder auf der eigenen Besamungsstation oder in direkter Kooperation belegt. Dabei wurden 51 Stuten auf der eigenen Besamungsstation zwischen Tag 15 und 18 nach Ovulation als tragend befunden, während bei 10 Stuten keine Trächtigkeit festgestellt werden konnte. Von den 51 tragend gewordenen Stuten beendeten 35 die Trächtigkeit mit der Geburt eines Fohlens, 4 verloren die Trächtigkeit vorzeitig und von 12 Stuten ist der Ausgang der Trächtigkeit nicht bekannt. Bei den Stuten, die ihr Fohlen nach normaler Gestationslänge zur Welt brachten, wurden die Biopsien sechsmal der Kategorie I bis IIA, 23mal der Kategorie IIA bis B und sechsmal der Kategorie IIB zugeordnet. Bei den 4 Stuten, bei denen Trächtigkeitsverluste auftraten, wurden die vorher entnommenen Biopsien zweimal der Kategorie IIA bis B und zweimal der Kategorie IIB zugeordnet (n.s.). Zwischen den beiden Grup-

pen konnten weder qualitative noch quantitative Unterschiede hinsichtlich der beschriebenen pathohistologischen Kriterien zwischen Stuten, die tragend wurden und solchen, die güst blieben, festgestellt werden (Tabelle 5 und 6). Stuten, die güst blieben, gehörten signifikant häufiger einer höheren Altersgruppe an als solche, die tragend wurden ($p < 0,05$).

Diskussion

Grundsätzlich zeigen die Daten der vorliegenden Studie, dass die pathohistologische Untersuchung von Endometriumbiopsien eine wertvolle Hilfe bei der Fertilitätsprognose einer Zuchtstute darstellt. Die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen dahingehend werden bestätigt (z.B. *Kenney et al. 1978, Doig et al. 1981, Kenney und Doig 1986, Ricketts und Alonso 1991, Schoon et al. 1997*). Weiterhin unterlegen die Ergebnisse, dass ein intensives Management von Stuten, wie es insbesondere im Rahmen der instrumentellen Besamung heute üblich ist, zu guten bis sehr guten Trächtigkeits- und Abfohlenergebnissen auch bei Stuten führt, die dies bei einer Zuordnung zu den Kategorien IIA bis IIB bzw. IIB nach *Kenney und Doig (1986)* nicht immer erwarten lassen. So waren in der eigenen Studie von 61 Stuten mit bekannter weiterer Zuchtnutzung 53 in diese Kategorien eingeordnet worden. Von diesen insgesamt 61 Stuten wurden 51 tragend, das entspricht einer Trächtigkeitsrate von 84% und deckt sich mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, die allerdings z.T. an wesentlich höheren Tierzahlen erhoben wurden (z.B. *Doig et al. 1981*).

Tab. 4 Einfluss des Reproduktionsstatus der Stute auf die pathohistologische Beurteilung einer Endometriumbiopsie (Score für alle Parameter: 1: geringgradig, 2: mittelgradig, 3: hochgradig)

	Rosse	Gelbkörperphase	Anöstrus
Anzahl (n)	28	63	14
Ausprägung des Endometriums	1,3 ± 0,1 ^a	1,2 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,3 ^b
Vorhandensein fibrotischer Einzeldrüsen	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,2
Vorhandensein von Drüsennestern	1,4 ± 1,3	1,9 ± 0,3	1,5 ± 0,2
Beurteilung der Endometrose	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1

ab: $p < 0,05$ zwischen den Gruppen

Tab. 5 Zuordnung von Endometriumbiopsien zu den Kategorien nach *Kenney und Doig (1986)* in Beziehung zur weiteren Fruchtbarkeit bei Stuten mit bekannter weiterer Zuchtnutzung (n)

	Kategorie nach <i>Kenney und Doig (1986)</i>			
	I bis IIA	IIA bis B	IIB	III
Tragend (n)	8	31	12	0
Güst (n)	0	7	3	0
Unbekannt (n)	9	32	24	3

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen

Tab. 6 Vergleich der pathohistologischen Beurteilung der Endometriumbiopsien von Stuten, die in der Zuchtsaison nach Entnahme der Probe tragend wurden bzw. güst blieben (Score für alle Parameter: 1: geringgradig, 2: mittelgradig, 3: hochgradig)

	tragend	güst
Anzahl (n)	51	10
Ausprägung des Endometriums	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2
Vorhandensein fibrotischer Einzeldrüsen	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,2
Vorhandensein von Drüsennestern	1,3 ± 0,1	2,7 ± 1,5
Beurteilung der Endometrose	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,2

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen

Zunächst scheint eine solch gute Trächtigkeitsrate trotz chronisch-degenerativer und chronisch-entzündlicher Veränderungen am Endometrium paradox, allerdings muss berücksichtigt werden, dass die auf der eigenen Station belegten Stuten in vielen Fällen nur dann weiter zur Zucht verwendet wurden, wenn die Ergebnisse der Zuchttauglichkeitsuntersuchung die Chance einer Trächtigkeit aufgrund des Gesamteindrucks auch wirklich erwarten ließen. Dieser Gesamteindruck beinhaltet neben allen Ergebnissen der gynäkologischen Untersuchung auch die Kooperativität des Besitzers hinsichtlich des weiteren Managements der Stute, Zugänglichkeit für Beratung hinsichtlich der Hengstauswahl etc. Stuten, denen aufgrund der erhobenen Befunde eine schlechte Prognose bezüglich ihrer Fertilität gestellt wurde, wurden in den meisten Fällen von ihren Besitzern dann auch nicht mehr zur Zucht verwendet. Dazu gehören auch die drei Stuten, die aufgrund der Befunde der pathohistologischen Untersuchung der Endometriumbiopsie der Kategorie III nach *Kenney* und *Doig* (1986) zugeordnet wurden. Leider ist nicht von allen tragend gewordenen Stuten der weitere Verlauf der Trächtigkeit bekannt, d.h. von 12 Stuten lagen keine Informationen vor. Allerdings wäre im schlechtesten Fall selbst eine Abfohlrate von 57% (35 von 61 Stuten) als akzeptabel einzustufen. Wahrscheinlich kann aber von einer deutlich höheren Abfohlrate ausgegangen werden. Nur von 4 Stuten wurde bekannt, dass sie ihre Trächtigkeit tatsächlich verloren. Die Ergebnisse der aktuellen Studie sind demnach ein erneuter Beleg für die Aussagekraft einer Endometriumbiopsie bei Stuten im Rahmen einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung.

Die Ergebnisse bestätigen darüber hinaus die Bedeutung des Alters von Zuchtstuten für deren Fertilitätsprognose. Bereits bei Stuten ab einem Alter von 9 Jahren muss mit erhöhten Trächtigkeitsverlusten gerechnet werden (*Morris* und *Allen* 2002). Bei Stuten dieser Altersgruppe verläuft die Entwicklung des Konzeptus bis Tag 45 der Trächtigkeit gegenüber jüngeren Zuchtstuten verzögert (*Willmann* et al. 2011). Als Ursache wird unter anderem eine verzögerte Plazentation angenommen (*Willmann* et al. 2011) und es ist anzunehmen, dass auch chronisch-degenerative Veränderungen des Endometriums hierbei eine Rolle spielen. Die chronisch degenerativen Veränderungen nehmen bei älteren Stuten zu (z.B. *Doig* et al. 1981, *Schoon* et al. 1997), was sich auch in der vorliegenden Studie bestätigt, wo das Endometrium insbesondere von Stuten ab einem Alter von 13 Jahren und mehr vermehrt in die Kategorien IIB und III nach *Kenney* und *Doig* (1986) klassifiziert wurde. Es muss aber beachtet werden, dass diese Kategorisierung vom Pathohistologen stets unter Kenntnis von Alter und Vorbericht der Stute durchgeführt werden soll (*Kenney* und *Doig* 1986, *Schoon* et al. 1997, *Schlafer* 2007) und in der aktuellen Studie auch wurde. D.h. dass degenerative Veränderungen des Endometriums bei älteren Stuten oder solchen, die bekanntermaßen wiederholt nicht tragend wurden, in eine schlechtere Kategorie eingeteilt werden als jüngere Stuten mit ähnlichen Veränderungen. Tatsächlich ist anzunehmen, dass bei älteren Stuten nicht nur morphologische endometriale Veränderungen zur schlechteren Fruchtbarkeit beitragen, sondern das Endometrium vielmehr vor allem funktionell Störungen aufweist. Die Ernährung des Konzeptus beim Pferd hängt bis zu Beginn der bei dieser Spezies relativ spät stattfindenden Plazentation ausschließlich von der sogenannten Uterinmilch, d.h. den Sekreten der Uterindrüsen ab. Diese Sekrete sind bei Stuten mit chronisch-degenerativen

Veränderungen des Endometriums verändert (*Walter* et al. 2001b, *Hoffmann* et al. 2009). Bei anderen Spezies ist bekannt, dass eine Down-Regulation der endometrialen Progesteronrezeptoren in der Frühträchtigkeit ein wesentliches Signal für die Produktion der Uterinmilch darstellt (*Spencer* und *Bazer* 2002). Bei frühtragenden Stuten kann durch Substitution des Gestagens Altrenogest die Down-Regulation der Progesteronrezeptoren beschleunigt werden (*Willmann* et al. im Druck) und dieselbe Behandlung gleicht das verzögerte Wachstum des Konzeptus bei älteren Stuten aus (*Willmann* et al. 2011). Diese Daten unterstützen die Annahme einer funktionellen Beeinträchtigung der Endometriumsfunktionen bei älteren Stuten und rechtfertigen eine schlechtere Klassifizierung des Endometriums nach *Kenney* und *Doig* (1986) in dieser Altersgruppe, wie sie auch in der vorliegenden Studie gefunden wurde. Andererseits zeigen diese Daten, dass eine zusätzliche funktionelle Charakterisierung des Endometriums in Rahmen einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung einer allein morphologischen Charakterisierung gegenüber aussagekräftiger wäre und eine genauere Prognose für die zukünftige Fruchtbarkeit der Stute ermöglichen würde. Zytologische, immunhistochemische (*Schlafer* 2007) und auch molekular-genetische Verfahren sollten eine solche funktionelle Charakterisierung ermöglichen, müssen aber bezüglich ihrer Bedeutung für die Beurteilung der Fruchtbarkeit von Stuten noch validiert werden und sind vermutlich aufgrund ihrer Komplexität Speziallabors vorbehalten.

Die ovarielle Hormonproduktion der Stuten zum Zeitpunkt der Biopsieentnahme wurde durch den jeweiligen Zyklusstand (saisonaler Anöstrus, Rosse, Lutealphase) charakterisiert und beeinflusste die pathohistologische Befunderhebung nur wenig. Allein die Beurteilung der Aktivität des Endometriums war bei Stuten im saisonalen Anöstrus im Mittel schlechter als bei zyklischen Stuten, alle anderen Parameter zeigten keinerlei Beeinflussung. Auch der Zyklusstand der Stuten wurde dem Pathohistologen im Begleitschreiben bekannt gegeben. Aufgrund der saisonalen Funktionslosigkeit der Ovarien und der damit verbundenen fehlenden hormonellen Stimulierung des Endometriums ist eine geringere Aktivität des Endometriums als physiologisch anzusehen. Die Ergebnisse zeigen, dass eine Biopsieentnahme zur Beurteilung morphologischer Veränderungen im Rahmen der Zuchttauglichkeitsuntersuchung bei Stuten mit geringen Einschränkungen im Hinblick auf die Interpretation der Befunde offensichtlich in jeder Zyklusphase erfolgen kann, sofern eine entsprechende Information betreffend des Zyklusstandes an den beurteilende Pathohistologen erfolgt, da grundsätzlich zyklusabhängige Unterschiede zu erwarten sind (*Schoon* et al. 1997).

Zusammenfassend bestätigen die vorliegenden Ergebnisse die Bedeutung der pathohistologischen morphologischen Beurteilung von Endometriumbiopsien für die Prognose der Fruchtbarkeit von Zuchtstuten. Trotzdem lässt eine funktionelle Charakterisierung des Endometriums in Zukunft genauere Ergebnisse erhoffen.

Literatur

Aupperle H., Ozgen S., Schoon H. A., Schoon D., Hoppen H.-O., Sieme H. und Tannapfel A. (2000) Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. *Equine Vet. J.* 32, 228-232

- Aurich C., Aurich J., Waberski D. und Günzel-Apel A.-R. (2010) Gynäkologischer Untersuchungsgang. In: W. Baumgartner (Hrsg.): Klinische Propädeutik der Haus- und Heimtiere. Parey-Verlag, Stuttgart, 7. Auflage, 319-357
- Blanchard T. L., Garcia M. C., Kintner L. D. und Kenney R. M. (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.
- Doig P. A., McKnight J. D. und Miller R. B. (1981) The use of endometrial biopsy in the infertile mare. *Can. Vet. J.* 22, 72-76
- Evans T. J., Miller M. A., Ganjam V. K., Niswender K. D., Ellersieck M. R., Krause W. J. und Youngquist R. S. (1998) Morphometric analysis of endometrial periglandular fibrosis in mares. *Am. J. Vet. Res.* 59, 1209-1214
- Ganjam V. K. und Evans T. J. (2006) Equine endometrial fibrosis correlates with 11beta-HSD2, TGFbeta1 and ACE activities. *Mol. Cell Endocrinol.* 248, 104-108
- Hoffmann C., Bazer F. W., Klug E., Aupperle H., Ellenberger C. und Schoon H.-A. (2009) Immunohistochemical and histochemical identification of proteins and carbohydrates in the equine endometrium: Expression patterns for mares suffering from endometrosis. *Theriogenology* 71, 264-274
- Kenney R. M. und Doig P. A. (1986) Equine endometrial biopsy. In: D. Morrow (Hrsg.): Current therapy in theriogenology. WB Saunders, Philadelphia, USA, 2. Auflage, 723-729
- Morris L. H. A. und Allen W. R. (2002) Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Vet. J.* 34, 51-60
- Ricketts S. W. und Alonso S. (1991) Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques. *Equine Vet. J.* 23, 189-192
- Schlafer D. H. (2007) Equine endometrial biopsy: enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic technique? *Theriogenology* 68, 413-422
- Schoon H.-A., Schoon D. und Klug E. (1997) Die Endometriumbiopsie bei der Stute im klinisch-gynäkologischen Kontext. *Pferdeheilkunde* 13, 453-464
- Spencer T. E. und Bazer F. W. (2002) Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Front. Biosci.* 7, 1879-1898
- Summerfield N. J. und Watson E. D. (1998) Endometrial macrophage populations in genitally normal mares at oestrus and dioestrus and in mares susceptible to endometritis. *Equine Vet. J.* 30, 79-81
- Walter I., Handler J., Reifinger M. und Aurich C. (2001a) Association of endometriosis in horses with differentiation of myofibroblasts and changes of extracellular matrix proteins. *Reproduction* 121, 581-586
- Walter I., Klein M., Handler J., Aurich J. E., Reifinger M. und Aurich C. (2001b): Lectin binding patterns of uterine glands in mares with chronic endometrial degeneration. *Am. J. Vet. Res.* 62, 840-845
- Willmann C., Schuler G., Hoffmann B., Parvizi N. und Aurich C. (2011) Effects of age and altrenogest treatment on conceptus development and secretion of LH, progesterone and eCG in early-pregnant mares. *Theriogenology* 75, 421-428
- Willmann C., Budik S., Walter I. und Aurich C. Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene expression in the endometrium and conceptus. *Theriogenology* (im Druck; dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.01.018)

Prof. Dr. Christine Aurich
Besamungs- und Embryotransferstation
Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1
A-1210 Wien, Österreich
christine.aurich@vetmeduni.ac.at