

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine nicht invasive Methode zur Entnahme von Gewebeproben aus dem Uterus der Hündin für die Fertilitätsdiagnostik zu etablieren. Die histologische Vergleichbarkeit von 14 Gewebeproben und korrespondierendem Uterusgewebe wurde untersucht und bei 12 Hündinnen die klinischen Auswirkungen einer Gewebeprobenentnahme aus dem Uterus überprüft.

Die Gewebeprobenentnahme erfolgte mit flexiblen Biopsiezangen, die über den Arbeitskanal eines starren Endoskops caudal bis an die Zervix geführt und unter Sichtkontrolle transzervikal in den Uterus vorgeschoben wurden. Einschränkungen der Probengewinnung bestanden fast ausschließlich bei nulliparen Hündinnen in der Gefahr der Uterusperforation, die vor allem in der späten Endometriumsreparationsphase und im Anöstrus gegeben war, sowie in einem zu schmalen Zervikalkanal, der die Passage unmöglich machte.

Die Biopsiestelle befand sich in der Regel am Übergang vom Uteruskörper zu den Uterushörnern oder wenig weiter kranial.

31,1% der Gewebeproben waren quantitativ auswertbar und für die Diagnostik aussagefähig. Basale Endometriumschichten und das Myometrium wurden nur im Anöstrus erreicht.

Die Zangenkopfgröße (2,9 mm Durchmesser und 4 mm Länge und 2,3 bzw. 2,6 mm Durchmesser und 4 bzw. 3,5 mm Länge) hatte ebenso wie die Probenentnahme mit oder ohne abdominalen Gegendruck keinen Einfluß auf die Auswertbarkeit der Gewebeproben.

Von fünf Endometriumbiopsieproben mit physiologischen Befunden stimmten drei vollständig histomorphologisch mit dem korrespondierenden Uterusgewebe überein, während zwei Biopsieproben geringfügige Abweichungen zeigten. Von fünf Endometriumbiopsien mit pathologischen Veränderungen, war bei vier Biopsieproben eine identische Befunderhebung wie im korrespondierenden Uterusgewebe möglich. In einer Biopsieprobe wurde die pathologisch alterierte Schicht nicht erreicht. Neben dem endometrialen Funktionsstatus konnten diffuse Alterationen in Form von irregulären endometrialen Differenzierungen, oberflächlichen entzündlichen Infiltraten oder diffus verteilten periglandulären

Fibrosen in der Endometriumbiopsieprobe erfaßt werden. Endometriale Zysten, die aufgrund ihrer Größe von der Biopsiezange nicht erfaßt werden konnten, eine Adenomyose, in der Tiefe liegende, neusterbildende Fibrosen und tiefe entzündliche Veränderungen konnten mit dieser Methode nicht erreicht und somit nicht diagnostiziert werden.

Immunhistologische Untersuchungen zur Darstellung der Östrogen- und Progesteronrezeptorexpression, des Proliferationsmarkers Ki-67 Antigen und der Intermediärfilamente Zytokeratin, Vimentin und Desmin sind auch am Biopsiematerial möglich und können ergänzende Informationen über den Funktionszustand des Endometriums geben

Acht von zwölf (66,6%) Hündinnen, bei denen im Zyklusverlauf mehrfach eine Biopsie entnommen wurde, zeigten, zumeist in der nächsten Läufigkeit, unphysiologischen Ausfluß und einen sonographisch darstellbaren, mit Flüssigkeit gefüllten Uterus. Eine siebentägige Therapie mit Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (20 µg/kg 3x täglich) in Kombination mit einer systemischen Antibiose gemäß Resistenztest führte zur Entleerung des Uterus und klinischen Wiederherstellung in 50% der Fälle. Die Insemination zweier Tiere resultierte in physiologischen Graviditäten. Drei Hündinnen mußten aufgrund nicht therapierbarer chronisch-rezidivierender Endometritiden der Ovariohysterektomie zugeführt werden. Die histologischen Endometriumbefunde ergaben irregulär proliferierte Endometriumdrüsen mit zystischer Hyperplasie der Drüsenkomplexe

Das Risiko der biopsiebedingten „Uteropathie“ konnte durch vorausgehende Kontrolle des vaginalen Keimgehaltes und die Biopsie begleitende mehrtägige systemische Antibiose effektiv verringert werden.

Mit Hilfe von transzervikal gewonnenen Endometriumbiopsien können bei der Hündin subklinische, entzündliche und degenerative Erkrankungen sowie endometriale Fehldifferenzierungen diagnostiziert werden, wenn eine ausreichend große, auswertbare Biopsieprobe zur Verfügung steht.

## 6 SUMMARY

**Martina Wilke**

### **Transcervical collection of endometrial biopsy in the bitch- technique, representativeness, evidence and complications**

The aim of the present study was the establishment of a non invasive method for the collection of endometrial biopsy specimens of the uterus of the bitch for the diagnosis of reproductive disorders. The histologic comparability of 14 biopsy samples and representative samples of each uterine horn was analyzed and the clinical effects of collecting endometrial biopsy specimens of the uterus were examined in twelve bitches.

The technique of transcervical cannulation involved passing a flexible biopsy forceps into the uterus with the aid of a rigid endoscope to visualise the cervix. Complications associated with the procedure occurred almost exclusively in nulliparous bitches, the risk being perforation of the uterus during the time of endometrial repair and anoestrus. Furthermore, the cervix was narrow during endometrial repair rendering passage impossible.

The site of biopsy was usually the cranial region of the uterine body or a little further forwards the uterine horns.

31.1% of the biopsy specimens gave diagnostically valuable informations. The endometrial biopsy samples included basal layers and myometrium only during anoestrus.

The size of the biopsy forceps head (diameter 2.3 to 2.9 mm, length 3.5 to 4 mm) as well as the collection of samples with or without abdominal counterpressure did not affect the diagnostic value of the biopsy specimens.

Three of five endometrial tissue samples with physiological histomorphologic findings were completely in accordance with those of the uterine specimens while two biopsy samples showed only slight deviations. Four of five biopsy specimens with pathological alterations were in accordance with the diagnosis in the uterine specimens. One biopsy sample did not include the layer with pathological alterations. Apart from the endometrial stage, diffuse alterations with irregular

endometrial differentiations, superficial inflammatory and diffusely periglandular fibrosis could be detected in the endometrial biopsy sample.

It was not possible with this method to diagnose adenomyosis, basal degenerative lesions and basal inflammatory alterations as well as endometrial cysts which, due to their size, could not be seized by the biopsy forceps.

Immunohistological techniques were applied to detect the expression of estrogen and progesterone receptors, proliferation marker Ki-67 antigen and intermediate filaments cytokeratin, vimentin and desmin. The investigations can also be carried out on the biopsy material and can give complementary information regarding the endometrial differentiation.

In eight of twelve (66.6 %) bitches where the investigation of more than one biopsy in the estrous cycle was possible, the manipulation resulted, mostly in the next heat, in vaginal discharge and a sonographically detectable uterus filled with fluid. A seven days' treatment with prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (20  $\mu\text{g}$  per kg body weight three times daily) combined with parenteral antibiotic treatment as indicated by the results of antimicrobial susceptibility caused a discharge of the uterus and clinical recovery in 50 % of the cases. Two of the animals were bred successfully during the next heat. Three bitches with recurrence of chronic endometritis could not be treated and had to undergo ovariohysterectomy. The histological endometrial findings showed irregular proliferation of endometrial glands including cystic glandular hyperplasia.

It was possible to effectively reduce the risk of biopsy-related uterine disease by preceding examination of the vaginal bacterial flora and parenteral antibiotic therapy of several days along with the biopsy.

The transcervical collection of biopsy samples will assist in the diagnosis of subclinical, inflammatory and degenerative uterine diseases in the bitch and in the detection of endometrial maldifferentiation provided a sufficiently big, analyzable biopsy sample is available.