

6. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das Vorkommen und die Verteilung von Progesteron-, Östrogen- und Glukokortikoidrezeptoren in den Fruchthüllen und in der Uteruswand des Rindes während der Trächtigkeit, bei der eingeleiteten Geburt und unmittelbar post partum immunhistochemisch untersucht. Der Rezeptornachweis im Gewebe erfolgte in der Gebärmutter an jeweils 2 und im Plazentom an jeweils 3 Schlachttieren pro Trächtigkeitsmonat. Die Gestationsdauer der Schlachttiere konnte anhand der Scheitel-Steiß-Länge des Fetus bestimmt werden.

Darüber hinaus wurden immunhistochemische Nachweise an 5 Plazentomen von Kühen, bei denen nach eingeleiteter Geburt eine Sectio caesarea durchgeführt wurde, gemacht. Um neue Ansätze zur Klärung der Ursache der Retentio secundinarum zu erhalten, wurden 5 Plazentome von Tieren, die das klinische Bild dieses Phänomens im Puerperium zeigten, und 5 Plazentome von Tieren ohne Nachgeburtshaltung untersucht. Die Gewebeproben wurden unmittelbar nach der Gewinnung in 4%igem, neutral gepuffertem Formaldehyd fixiert und anschließend in Paraplast eingebettet. Für die immunhistochemischen Reaktionen wurden beim Progesteronrezeptor der monoklonale Antikörper α PR6, beim Östrogenrezeptor der monoklonale Antikörper HT 277 und beim Glukokortikoidrezeptor ein kommerziell erhältlicher, polyklonaler Antikörper verwendet.

Progesteronrezeptoren konnten im Verlauf der Trächtigkeit im Drüseneithel, im maternalen Bindegewebe und im Myometrium nachgewiesen werden. In den maternalen Gefäßen, im endometrialen Oberflächeneithel und im Allantochorion sind während der gesamten Gravidität keine Rezeptoren zu beobachten.

Die Zellen des Drüseneithels besitzen zunächst nur in den ersten beiden Trächtigkeitsmonaten Progesteronrezeptoren. Erst in den letzten Trächtigkeitsmonaten sind bei einigen Tieren wieder wenige rezeptortragende Zellen zu erkennen.

Die Rezeptormenge verändert sich im endometrialen Bindegewebe und im Myometrium während der gesamten Gravidität kaum. Im maternalen Bindegewebe des Plazentoms kommt es unter der Geburt zu einem deutlichen Anstieg des Rezeptorgehaltes, der unmittelbar post partum jedoch wieder sinkt.

Östrogenrezeptoren sind während des gesamten Untersuchungszeitraums im maternalen Kryptenepithel, im Oberflächenepithel und im Drüsenepithel nachweisbar. Auch im maternalen Bindegewebe des Endometriums und des Plazentoms, in der Tunica media der maternalen Gefäße des Endometriums und im Myometrium sind Östrogenrezeptoren in allen Untersuchungsstadien zu beobachten.

Die Tunica media der maternalen Gefäße des Plazentoms besitzt ab dem 4. Trächtigtkeitsmonat, die der Gefäße des Chorions zum Zeitpunkt der Geburt östrogenrezeptortragende Zellkerne.

Im Endometrium ist die Rezeptoranzahl in den verschiedenen Geweben im ersten Drittel am größten. Sie sinkt im weiteren Verlauf der Gravidität. Im Plazentom ist die Östrogenrezeptormenge, um den Zeitpunkt der Geburt am größten.

Glukokortikoidrezeptoren sind in den Kernen des endometrialen Oberflächenepithels, im Mündungsbereich der Uterindrüsen, im fetalen Bindegewebe und in den Blutgefäßen in unterschiedlichen Mengen nachzuweisen.

Einige Zellen des endometrialen Oberflächenepithels tragen ab dem 2. Trächtigtkeitsmonat Glukokortikoidrezeptoren. Mit dem 6. Trächtigtkeitsmonat reagieren alle Zellen des Oberflächenepithels immunhistochemisch positiv. Zellkerne im Mündungsbereich der Uterindrüsen und in den uterinen Blutgefäßen konnten hinsichtlich der Glukokortikoidrezeptoren während der gesamten Trächtigkeit positiv angefarbt werden. Bindegewebszellen und fetale Blutgefäße zeigten im Laufe der Trächtigkeit einen Anstieg der Glukokortikoidrezeptoranzahl.

Das maternale Kryptenepithel besitzt ab dem mittleren Trächtigtkeitsdrittel lediglich im Bereich der Primärzotten und der Kryptenspitze glukokortikoidrezeptorentragende Zellkerne. Erst unter der Geburt sind alle Kryptenepithelzellkerne im Bereich der Primär-, Sekundär- und Tertiärzotten immunhistochemisch positiv angefarbt. Fetale Blutgefäße und Bindegewebszellen im Plazentom zeigten in allen Stadien Immunreaktionen hinsichtlich der Glukokortikoidrezeptoren.

Die nachgewiesenen Mengen an Rezeptoren zeigen vom Trächtigtkeitszeitpunkt abhängige zell- und lokalisationspezifische Verteilungsmuster in den Fruchthüllen

und in der Uteruswand des Rindes. Das weist auf eine spezifische Einflußnahme der Steroidhormone auf die Wachstums- und Reifungsvorgänge der verschiedenen Kompartimente während der Trächtigkeit und der Geburt hin.

Generell sinkt die Intensität der Immunreaktion der Progesteron-, Östrogen- und Glukokortikoidrezeptoren in den unmittelbar post partum gesammelten Plazentomen im Vergleich zu denen, die unter der Geburt genommen wurden. Die Abnahme der immunhistochemischen Färbung ist bei Tieren mit normalem Nachgeburtsabgang deutlicher als bei Kühen mit Nachgeburtsverhaltung. Das deutet darauf hin, daß zwischen der Plazenta von Tieren mit Nachgeburtsverhaltung und den Tieren unter der Geburt engere morphologische und funktionelle Ähnlichkeiten bestehen als zwischen der von Tieren ohne Retentio secundinarum und den Tieren unter der Geburt.

7. Summary

Johannes Kohtes:

Immunohistochemical demonstration of steroid hormone receptors in bovine fetal membranes and uterine wall

The present immunohistochemical study deals with the occurrence and distribution of progesterone receptors (PR), estrogen receptors (ER) and glucocorticoid receptors (GR) in the fetal membranes and the uterine wall during pregnancy, induced parturition, and immediately post partum. The immunohistochemical documentation has been performed on the intercaruncular uterine wall of two cows and the placentome of three cows each per month of gestation, respectively. Tissue specimens were obtained from pregnant cows at slaughter. Duration of pregnancy has been ascertained according to crown-rump length of the fetuses. Examinations were also done on five placentomes of cows with caesarean sections after an induced parturition.

In order to receive additional information on causes of bovine retained placenta syndrome, five placentomes of animals showing this clinical phenomenon, and five placentomes of cows with normally released placentae were investigated.

Tissue samples were fixed in 4% neutral buffered formaldehyde and embedded in paraffin wax. For immunohistochemical demonstration of PR the monoclonal antibody α PR6 was used. The monoclonal antibody HT 277 was employed for the detection of ER, and a commercially available polyclonal antibody for GR.

During pregnancy PR were detectable in endometrial glandular epithelium, maternal connective tissue cells, and in smooth muscle cells of the myometrium. In contrast to these findings, however, endometrial surface epithelium, maternal crypt epithelial cells of placentomes, maternal vessels, and fetal membranes were completely devoid of this protein. In uterine glands PR could only be found during early pregnancy, and in some instances, in late pregnancy. Endometrial stroma and myometrial PR immunoreactivities rarely changed during pregnancy. At parturition, an increase in

PR was evident in maternal placental stromal cells. PR immunoreactivity had decreased immediately post partum.

ER were always detected in cells of maternal crypts, endometrial surface epithelium and uterine glands. In maternal and fetal stroma, in the tunica media of maternal endometrial vessels, and in myometrial smooth muscle cells ER immunoreactivity also was evident during pregnancy. Maternal vessels of the placentome containing ER were first observed in the 4th month of pregnancy, vessels of the placental chorion exhibited ER sub partu.

Generally ER immunoreactivities, within the different endometrial tissue compartments, were highest during the first third of pregnancy. Later on, amounts of ER were decreased. In placental tissues, however, ER positive cells exhibited strongest immunoreactivities sub partu.

GR were detected in varying amounts of endometrial surface epithelium, endometrial glandular openings, fetal connective tissue and uterine blood vessels. Endometrial surface epithelial cells occasionally exhibited GR from the 2nd to the 5th month of pregnancy. Later on, higher GR immunoreactivities were recorded in these cells. Glandular openings and uterine blood vessels stained positively for GR during whole pregnancy. Connective tissue cells of fetal membranes and fetal blood vessels exhibited increasing amounts of GR immunoreactivities during pregnancy.

Maternal crypt epithelial cells exhibited GR staining in primary villi and cryptical apex, starting with the 5th month of pregnancy. Sub partu, crypt epithelial cells adjacent to secondary and tertiary villi also reacted positively for GR. Placental blood vessels and connective tissue cells of the fetal part of the placentomes always demonstrated GR immunoreactivities.

Depending on the stage of pregnancy, receptor amounts detected in the present study showed cell- and location specific distribution patterns within the bovine fetal membranes and the uterine wall. This suggests a specific influence of steroid

hormone on growth rate and maturation of the various tissue compartments during pregnancy and at parturition.

Generally, PR, ER and GR immunoreactivities were decreased in tissue specimens collected immediately post partum, as compared with those that had been obtained sub partu. This decrease in specific staining was more prominent in animals with normal delivery of the secundinae, as compared with those retaining fetal membranes. This observation may indicate that morphological and functional similarities between retained fetal membranes and sub partu placentomes are closer than those recorded between normally delivered secundinae and respective sub partial placentomes.