

6 Zusammenfassung

Die vorliegende immunhistochemisch durchgeführte Untersuchung gibt Aufschluß über das Vorkommen und die Verteilung von Kollagen der Typen I, III und IV im bovinen Uterus zu unterschiedlichen Zeiten der Trächtigkeit. Hierzu konnten von 54 tragenden Kühen, die der Schlachtung zugeführt wurden, Proben der Gebärmutter entnommen werden, von denen 36 Tiere in die immunhistochemische Untersuchung eingingen. Die Gestationsdauer wurde anhand anerkannter Eckdaten wie der Scheitel-Steiß-Länge der Frucht bestimmt. Um den Zeitpunkt unmittelbar um den Partus genauer erfassen zu können, wurden sowohl Proben von 10 Kühen mit Spontangeburt, von denen im Puerperium 5 Tiere das klinische Bild einer Retentio secundinarum zeigten, als auch Proben von 9 Tieren mit Sectio caesarea nach induzierter Geburt untersucht.

Der Kollagennachweis erfolgte nach intensiver lichtmikroskopischer Prüfung des Probenmaterials mittels affinitätsgereinigter, biotinylierter, polyklonaler Antikörper.

Die nachgewiesenen Kollagentypen zeigten eine charakteristische Verteilung innerhalb der Fruchthüllen, der Plazentome und der interplazentären Uteruswand. Zunächst enthielt die Gebärmutter Schleimhaut hauptsächlich den Kollagentyp III und in weit geringeren Mengen die Kollagene I u. IV. Deutliche Veränderungen von Vorkommen und Verteilung über den Zeitraum der Trächtigkeit zeigten überwiegend Kollagen I u. IV. Der Kollagentyp III war über den gesamten Zeitraum der Trächtigkeit umfangreich in Allantochorion und Uteruswand vertreten.

Bei dem **Kollagentyp I** manifestierte sich im Verlauf der Trächtigkeit zunächst ein feiner subepithelialer Faserfilz im Bereich des interplazentären Endometriums. Im Randbereich des Plazentoms wurde deutlich, daß sich dieser Filz nicht nur unterhalb des Plazentoms fortsetzte, sondern in die Krypten einstrahlte und somit das Karunkelstroma von Beginn an zu großen Teilen aus Kollagen I bestand.

Im Allantochorion waren zunächst nur geringe Mengen Kollagen I nachzuweisen. In den Zotten der Kotyledone banden im ersten Trächtigkeitsmonat keinerlei Typ I-spezifische Antikörper. Mit fortschreitender Gestationsdauer nahm der Gehalt an Kollagen vom Typ I in der Kotyledone zu, erreichte jedoch nicht die Fasermenge, wie sie bei dem Nachweis des Kollagens III zu beobachten war.

Der **Kollagentyp III** war über den gesamten Zeitraum der Trächtigkeit in großem Maße sowohl in den Fruchthüllen als auch in der Uteruswand vertreten. Hierbei zeigte dieser Kollagentyp in den frühen Gestationsstadien und vorwiegend auf der fetalen Seite eine lockere Struktur, die jedoch bis zum siebten Trächtigkeitsmonat stark kondensierte. Eine Besonderheit der Verteilung von Kollagen Typ III-Fasern war im interplazentären Endometrium vom dritten bis zum siebten Trächtigkeitsmonat zu beobachten. In diesem Zeitraum nahm der Gehalt an Kollagen III unter dem Oberflächenepithel geringfügig ab.

Sowohl zum Kollagentyp I als auch zum Typ III bleibt anzumerken, daß mit steigender Gestationsdauer eine Umfangsvermehrung der Kollagenbündeldicke und eine Kondensation des Gewebes zu beobachten war.

Zusätzlich zu dem erwarteten Vorkommen von **Kollagen IV** in den Basalmembranen ließen sich Antigenstrukturen im endometrialen Stroma und Perimetrium nachweisen, an die der Typ IV-spezifische, polyklonale Antikörper gebunden hat. Diese eher selten beschriebene Erscheinung manifestierte sich parallel zum Kollagentyp I als interplazentäre, endometriale Fluoreszenzbande.

Der Versuch, den plazentaren Reifungsvorgängen zum Zeitpunkt der Geburt im bezug auf einen verzögerten Abgang der Sekundinae verstärkt auf den Grund zu gehen, ließ nur einen ersten, vorsichtigen Verdacht als Ergebnis zu. Hierzu erfolgte die Gegenüberstellung der Plazentomproben von Tieren, die im Puerperium das klinische Bild einer Retentio secundinarum zeigten, und Tieren mit physiologischem Puerperium. Letztere zeigten in den nativen Kryostatproben mehr Bezirke, in denen die Struktur des Plazentoms – wie sie in der Trächtigkeit zu erkennen ist – zerstört war. Um klare Aussagen zu diesem Punkt machen zu können, wäre die Untersuchung von weiteren postpartal gewonnenen Proben erforderlich.

7 Summary

Immunohistochemical demonstration of collagen types I, III and IV in bovine fetal membranes and uterus during pregnancy.

Arnd Steljes

The present immunohistochemical study deals with the occurrence and distribution of collagen types I, III, and IV in the bovine uterus during different periods of gestation. Tissue specimens were obtained from 36 pregnant cows at slaughter and staged according to the crown-rump length of the fetuses. Furthermore, tissue samples were also received from 9 cows undergoing caesarean section after induction of parturition and from 10 animals immediately after giving birth to living calves. The latter group also included 5 animals with retained fetal membranes.

Collagen types I, III, and IV were demonstrated light microscopically in native frozen sections employing affinity purified FITC-labelled polyclonal antibodies.

All collagen types detected exhibited a characteristic distribution pattern within allantochorion, placentome, and the interplacental uterine wall. During early pregnancy collagen type III dominated in all specimens, while types I and IV were present at low rates. Collagen III was present in large amounts during whole pregnancy whereas collagen types I and IV exhibited massive changes in amounts and distribution.

During early pregnancy **collagen type I** was mainly visible as a sparse subepithelial network of fine fibres in the interplacental endometrium. This network was also evident at the base of the newly forming placentome and extended deeply into the stroma of crypts, as could be demonstrated in the marginal regions of the early placentome. Thus, the maternal placental tissue consisted of large amounts of collagen I from the beginning of pregnancy as well as throughout whole gestation.

The allantochorion showed only a few fibers of collagen I. There was no binding of the respective antibodies to villuses during early pregnancy. During ongoing pregnancy, however, collagen type I increased in fetal membranes and cotyledones, but never reached the amounts of collagen III found at this sites.

Collagen type III was evident in large quantities in the fetal envelope as well as in the uterine wall during whole gestation. This fiber type was loosely structured within the fetal parts of the placentome and became strongly condensed up to the seventh month. From the third to the seventh month, collagen type III was somewhat reduced within the subepithelial stroma of the interplacental endometrium.

It has to be emphasized that fiber bundles of collagen I and III became thicker and that stroma condensed during pregnancy.

In addition to the expected appearance of **collagen type IV** in basement membranes, the specific polyclonal antibodies also bound to structures within the endometrial stroma and the perimetrium. This feature mainly resulted in an interplacental and subepithelial fluorescent band.

Based on the findings of the present study, no definite conclusions could be drawn with respect to the processes resulting in retained fetal membranes. I.e. probes from control cows exhibiting normal delivery of fetal membranes were compared to samples from cows with retained fetal membranes. The latter group showed fewer areas with impaired or destroyed connective tissue structure within the native frozen sections of placentomes stained for the collagen types investigated here. There is a need for further studies including more materials gained during the early postpartal period.