

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war, Daten über zyklusabhängige morphofunktionelle Veränderungen der Zervix im Vergleich zu den Vorgängen am Uterus bei der Stute zu erheben. Die Untersuchungen erfolgten an insgesamt 42 Stuten (29 Warmblutstuten, 8 Traberstuten und 5 Ponystuten) im Alter von 2 bis 23 Jahren während der natürlichen Fortpflanzungsperiode des Pferdes. Im Verlauf eines Versuchszyklus wurden im Östrus und in der mittleren Lutealphase (Tag 8 bis 10 p.ov.) durch klinisch-gynäkologische und ultrasonographische Untersuchungen des Genitaltraktes Daten über die Variabilität von Zervixform und -dimension in Relation zu den Befunden am Uterus gewonnen. Am jeweiligen Untersuchungstag wurden Blutproben zur Bestimmung der 17 $\beta$ -Östradiol- und Progesteronplasmakonzentration sowie Zervixtupferproben zur Ermittlung des allgemeinen bakteriellen Keimgehaltes entnommen. Mit Hilfe spezieller Entnahmeanstrumente erfolgte die getrennte Gewinnung von Zervix- und Uterussektret für die elektrophoretische Proteinstoffbestimmung (SDS-PAGE). Die im Anschluß daran entnommenen Zervix- und Uterusbiopsien wurden hinsichtlich des histopathologischen Status, histomorphometrischer Befunde sowie der Verteilungsmuster für Östrogen-, Progesteronrezeptoren und Ki-67 Antigen aufbereitet und ausgewertet.

Anhand der histopathologischen Befunde des Endometriums wurden die Stuten in vier Gruppen eingeteilt (I: Kontrollgruppe (Uterusbiopsien der Kategorien I und IIa, Beuteilung nach SCHOON et al., 1992); II: Stuten mit Endometritis; III: Stuten mit Endometrose; IV: Stuten mit Endometritis und Endometrose). Mit Hilfe der erhobenen Daten sollte untersucht werden, ob Korrelationen zwischen klinischen, endokrinen, histomorphologischen, immunhistochemischen Parametern und dem sezernierten Proteinstoff bestehen und möglicherweise prognostisch verwertbare Aussagen hinsichtlich Konzeptionschance und Konzeptionserhaltung entwickelt werden können.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Die Gesamtdurchmesser von Uterus und Zervix sind in der Follikelphase größer als in der mittleren Lutealphase, die wiederum durch eine größere Zervixlänge gekennzeichnet ist. Ursächlich steht die Zunahme der Gesamtdurchmesser mit der Ausbildung eines Rosseödems in der Follikelphase im Zusammenhang.

Die zervikale Schleimhaut durchläuft synchron zu den endometrialen Vorgängen verschiedene zyklusabhängige Funktionsstadien, was durch morphometrische Untersuchungen am luminalen Epithel von Zervix und Uterus bestätigt werden kann. Die mit Hilfe immunhistologischer Methoden dargestellte Expression von Östrogen- und Progesteronrezeptoren sowie Ki-67 Antigen unterliegt in Zervix und Uterus einer weitgehend übereinstimmenden Zyklusdynamik.

Zyklische Stuten zeigen je nach Zyklusphase und Blutprogesteronwerten sowohl im Zervix- als auch im Uterussektret spezifische Proteinstoffmuster. Bei Blutprogesteronwerten über 1 ng/ml während der Lutealphase zeichnet sich das Muster bei insgesamt hoher Bandendichte durch ausgeprägte Banden im Bereich von 17, 20 kDa und < 6,5 kDa aus. Während des Östrus ergibt sich bei Blutprogesteronwerten unter 1 ng/ml ein Proteinstoffmuster, welches sich durch eine geringere Bandendichte und das Fehlen der 17- und 21 kDa- Banden sowie der im Vergleich zur Lutealphase schwächer ausgeprägten Bande im Bereich < 6,5 kDa signifikant vom Lutealphasenmuster unterscheidet.

Die Untersuchungen ergeben weiterhin, daß endometriale fibrotische Veränderungen mit dem Lebensalter der Stute korrelieren. Stuten mit Endometrose bzw. Stuten mit Endometritis und gleichzeitig Endometrose zeigen signifikant häufiger ein defizientes Proteinmuster als genitalgesunde Stuten. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß ein degenerativ verändertes Endometrium die Fähigkeit einbüßt, genügend Histotrophe und damit bestimmte für den Embryo essentielle Proteine zu bilden. Welche Proteinzusammensetzung des uterinen Sekretes für ein rezeptives Endometrium notwendig ist, muß anhand weiterer Untersuchungen geklärt werden. Könnte ein Proteinmuster identifiziert werden, welches für die Vitalität eines Embryos und den Fortbestand einer Trächtigkeit erforderlich ist, wäre eine prognostische Aussage hinsichtlich Konzeptionschance und -erhalt denkbar. Damit könnte auch das zervikale Sekret als Indikator für die Fertilität genutzt werden, weil sich die Zusammensetzung uteriner Sekrete im Verlauf des Zyklus auch im Zervikalsekret widerspiegelt.

Zudem bleibt anhand weiterer Untersuchungen der Zusammenhang zwischen Art und Ausmaß entzündlicher und fibrotischer Veränderungen im Endometrium und der Sekretion defizienter Proteinmuster zu klären. Nicht jede Stute mit verändertem Endometrium sezerniert ein defizientes Proteinmuster und umgekehrt scheint auch bei gesunden Stuten nicht jeder Zyklus optimale uterine Bedingungen zu gewährleisten.

## 6. SUMMARY

**Kristina Hein (2000): Studies on morpho-functional changes of the cervix uteri and the endometrium of cyclic mares.**

The aim of this study was to achieve further information about cyclic changes of the cervix uteri compared to the endometrium of the mare.

42 mares (29 Warmblood, 8 Trotter and 5 pony mares) between 2 and 23 years of age were examined and sampled during natural breeding season. Examinations were performed in oestrous and mid-dioestrous (d 8 to 10 p.ov.) by using transrectal palpation, transrectal sonography and vaginoscopy to get data about variability concerning form and size of the cervix in relation to findings in the uterus. Further on the day of examination blood was collected for estradiol and progesterone determination. Uterine swabs were taken for microbiological evaluation. Uterine and cervical secretions were sampled with special instruments and analysed by SDS-PAGE. In addition biopsy samples of the cervix and uterus were obtained and examined with regard to histopathological, morphometrical findings and expression of oestrogen-, progesterone receptors and Ki-67 antigen by immunohistological methods.

In order to histopathological findings in the endometrium the mares were classified in 4 groups (I: control group(endometrial biopsy in categorie I and IIa, according to SCHOON et al., 1992); II: mares with endometritis; III: mares with endometrosis; IV: mares with endometritis and endometrosis).

By means of the data obtained by different investigations in this study the aims are to show correlations between peripheral hormone status, clinical, histomorphological, immunohistochemical parameters and the protein pattern of the uterine and cervical secretions.

The following results were obtained:

The diameter of the uterus and the cervix increases during oestrous and decreases during dioestrous, in contrast the length of the cervix increases during dioestrous. The increase of diameter is according to the progressive oedema during oestrous. The cervical mucosa passes through different functional stages according to the endometrium, which can be confirmed by morphometrical investigations of the luminal epithelia. Cervix and uterus show similar cyclical dynamics concerning the expression of receptors for oestrogen, progesterone and Ki 67 antigen investigated by immunohistochemical methods.

The cycling mares show typical protein patterns in cervical and uterine secretions depending on phase of oestrous cycle and on blood progesterone levels. During the luteal phase, when blood progesterone levels are more than 1 ng/ml, a protein pattern can be identified which shows distinct protein bands at about 17, 21 kDa and < 6,5 kDa as well as a maximum of bands in all regions of molecular weight spectrum. During oestrous a protein pattern can be detected which shows no prominent bands in the area of 17 and 21 kDa and less stained bands reduced in number in all regions of molecular weight spectrum, including the < 6,5 kDa protein band.

These investigations reveal a close correlation between mares with endometrosis, respectively mares with endometritis and endometrosis and age of the animals. Mares with these findings in the endometrium secrete significant more deficient protein patterns than gynecological healthy mares. An endometrium with chronical histopathological findings seem to loose the ability to produce enough histotroph and essential proteins for the embryo.

Further investigations have to be done to find protein patterns which are obligatory for a receptive endometrium.

If it were possible to identify a specific protein pattern which might be essential for the vitality of the embryo and the continuance of pregnancy there will probably be the chance to give prognosis about conception rate. In this case the cervical secretions could be used as a useful indicator of potential fertility in the mare, because cervical secretions reflect the composition of uterine secretions during oestrous cycle. In addition further examinations have to prove correlations between histopathological findings in the endometrium and the secretion of deficient protein patterns. Histopathological changes aren't always connected with the secretion of deficient protein patterns and in the other way there seem to be even in gynecological healthy mares oestrous cycles in which the required specific secretions of the endometrium are not always ensured.