

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit gibt anhand von immunhistochemischen, histochemischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen Aufschluß über das Vorkommen proliferierender und apoptotischer Zellen in den Fruchthüllen und in der Uteruswand des Rindes in unterschiedlichen Phasen der Trächtigkeit und im peripartalen Zeitraum.

Von 54 Kühen, die der Schlachtung zugeführt wurden, konnten Plazentomproben entnommen und die Trächtigkeitdauer mit Hilfe der Scheitel-Steiß-Länge der Früchte bestimmt werden. Nach lichtmikroskopischer Inspektion der Vollständigkeit der Gewebestrukturen gingen jeweils fünf Proben pro Trächtigkeitsmonat in die weiteren histochemischen Untersuchungen ein. Hinzu kamen jeweils fünf Präparate von Tieren unter Schnittentbindung, von Kühen mit komplikationsloser Spontangeburt und fünf von solchen mit anschließender Nachgeburtsvernichtung. Bei 18 Kühen wurden zusätzlich interkarunkuläre Gebärmutterabschnitte exzidiert, so daß insgesamt jeweils 78 Schnittpräparate für histochemische Nachweisverfahren vorlagen. Die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung konzentrierte sich auf die Dokumentation apoptotischer Zellen in Plazentomen von vier Tieren nach Spontangeburt und drei Kühen im 9. Graviditätsmonat.

Die Identifizierung von proliferierenden Zellen wurde durch einen monoklonalen Ki-67-Antikörper (MIB 1) mit anschließender Avidin-Biotin-Komplex-Peroxidase-Reaktion durchgeführt. Der Apoptosisnachweis erfolgte mit der TUNEL-Reaktion.

In den ersten drei Monaten der Trächtigkeit lagen Ki-67-positive proliferierende Epithelzellen mit einem Anteil von durchschnittlich ca. 43 % wie in Reihen nebeneinander angeordnet in den Plazentomen vor, die sich im letzten Trächtigkeitsdrittel auf durchschnittlich 26 % ausdünnten und in den peripartalen Abschnitten nur noch vereinzelt erschienen. Dabei proliferierte das maternale Kryptenepithel offensichtlich stärker als das ihm gegenüberliegende Chorionepithel. Diese proliferative Aktivität ließ sich stellenweise auch an Endothelien

nachvollziehen und weist auf eine starke Gefäßsprossung hin. Im Gegensatz dazu war im plazentaren Stroma die Proliferation peripartal auf einem ähnlich hohem Niveau wie während der gesamten Gravidität. Das interplazentäre endometriale Oberflächenepithel, das endometriale Stroma und das Myometrium erschienen dagegen weitaus weniger teilungsbereit.

Histochemisch markierte Apoptosen fanden sich nur ganz vereinzelt in den Epithelzellen des Chorions und der maternalen Kryptenepithelzellen der Plazentome während der Gestation. Auch traten sie im Bindegewebe, in der Lamina epithelialis der interkarunkulären Endometriumabschnitte und in den myometrialen glatten Muskelzellen in allen Präparaten nur sporadisch auf. Bei Tieren mit Spontangeburt und solchen mit anschließender Nachgeburtshaltung kamen dagegen apoptotische Zellen in signifikant höherer Zahl in ehemaligen Zottenbereichen der Plazentome vor.

Bei der Betrachtung der Feinstrukturen im elektronenmikroskopischen Bild waren als weitere Bestandteile der Apoptotic bodies unterschiedlich elektronendichte Vesikel, Mitochondrien und rauhes ER auszumachen, die eine Hülle aus einer intakten Zellmembran besaßen. Die apoptotischen Restkörper lagen meist phagozytiert in einer Epithelzelle vor oder hatten keinen direkten Kontakt zu benachbarten Zellen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß das plazentare Epithelgewebe während der gesamten Dauer der Gravidität eine starke proliferative Aktivität besitzt. Zum Zeitpunkt der Geburt ist diese Teilungsbereitschaft erheblich geringer als zuvor, und ein Großteil der Zellen degeneriert. Dabei ist der vorherrschende Typ des Zelltods die Apoptose. Dieser Zelluntergang ist ein an den Ablösungsmechanismen der Secundinae beteiligtes Phänomen. Der Zahlenvergleich der markierten Apoptosen im Plazentom zwischen Kühen in Geburt ohne und solchen mit anschließender Retentio secundinarum erbrachte signifikante Unterschiede lediglich im Bereich des Chorionepithels. Eine erhöhte Zahl apoptotischer fetaler Chorionepithelzellen im Plazentom ist ein Hinweis auf eine mögliche hormonell und/oder rheologisch gestört abgelaufene Geburt.

7 Summary

Volker Janssen:

Immunohistochemical and histochemical demonstration of proliferating and apoptotic cells in bovine fetal membranes and uterus during pregnancy and immediately after parturition.

The present study deals with the occurrence and distribution of proliferation and apoptosis in cells 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. Tissue samples were also received from 9 cows undergoing cesarean section after induction of parturition, and from 10 animals immediately after giving birth to living calves. The latter group included 5 animals with retained fetal membranes.

In the immunohistochemical procedure proliferating cells were labelled by MIB-1 antibodies of the Ki-67-family. In the case of the detection of apoptosis the TUNEL-method was employed. To verify the existence and to analyze the ultrastructure of apoptosis some specimens were also examined electronmicroscopically.

Almost 43 % of the epithelial cells in the placentome were proliferating at the beginning of gestation. The percentage decreased until 26 % in the 9th month of pregnancy. Obviously the epithelium of the crypts proliferated more intensely than that one of the trophoblast. In comparison with the tissue of the interplacental uterine wall proliferated in a much smaller amount, but the distribution of positively labelled cells was quite similar. The epithelial cells of the Lamina epithelialis endometrii and the Chorion laeve were much more involved in growth by dividing cells than the connective tissue or myometrial cells. The latter two cell types reacted sporadically Ki-67-positive throughout gestation. The total activity of proliferation decreased significantly at partus.

Apoptotic cells were sparsely found in histological specimens of the gestational period. First of all the epithelial cells were labelled positively in contrast to other cell types. The number of TUNEL- positive cells had significantly increased in specimens of cows with normal delivery or with following retained fetal membranes, because clusters of apoptotic bodies were found in former trophoblast villuses. There was statistical relevance of differences in data of apoptotic fetal epithelial cells of placentomes between cows with and without retained secundinae.

The electronmicroscopical study revealed intraphagocytosed apoptotic bodies or lying freely among the fetal epithelial cell compartment of placentomes.

Generally the epithelial cells of the placentome proliferated with a high percentage throughout gestation. This activity was stopped within a short time at parturition. At the same time, the ending of gestation was the onset of a significant increase in apoptosis.

The results of this study suggest an important role of apoptosis for the detachment of the secundinae.