

EINFLUSS EINER PERINATALEN  
ZEARALENON-EXPOSITION AUF CERVIX,  
UTERUS UND EILEITER VON FERKELN

**DINA KNAUF**



**INAUGURAL-DISSERTATION** zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2011

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2011

© 2011 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und  
Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz der  
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Wehrend

**EINFLUSS EINER PERINATALEN ZEARALENON-  
EXPOSITION AUF CERVIX, UTERUS UND EILEITER VON  
FERKELN**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Dina Knauf**

Tierärztin aus Ziegenhain (Hessen)

Gießen 2011

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Kramer

Gutachter: Prof. Dr. A. Wehrend  
Prof. Dr. M. Bergmann

Tag der Disputation: 27.06.2011

Meinen Eltern

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>MAKROSKOPISCHER AUFBAU VON UTERUS, CERVIX UND EILEITER BEIM SCHWEIN .....</b>	<b>2</b>
2.1.1	UTERUS.....	2
2.1.2	CERVIX .....	3
2.1.3	EILEITER.....	3
<b>2.2</b>	<b>HISTOLOGISCHER AUFBAU VON UTERUS, CERVIX UND EILEITER BEIM SCHWEIN .....</b>	<b>4</b>
2.2.1	UTERUS ADULT .....	4
2.2.2	CERVIX ADULT.....	6
2.2.3	EILEITER ADULT .....	7
2.2.4	UTERUS PRÄ- UND POSTNATAL.....	8
<b>2.3</b>	<b>STEUERUNG DER PRÄ- UND POSTNATALEN ENTWICKLUNG VON UTERUS CERVIX UND EILEITERN BEIM SCHWEIN.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4</b>	<b>ENDOGENE ÖSTROGENE UND ENDOKRINE DISRUPTOREN MIT ÖSTROGENARTIGER WIRKUNG .....</b>	<b>10</b>
2.4.1	STRUKTUR UND VORKOMMEN DER ÖSTROGENE .....	10
2.4.2	ÖSTROGENREZEPTOREN.....	13
2.4.3	EFFEKTE VON ÖSTROGENEN AUF UTERUS UND EILEITER BEIM SCHWEIN .....	14
2.4.4	ENDOKRINE DISRUPTOREN MIT ÖSTROGENARTIGER WIRKUNG .....	18
2.4.4.1	STRUKTUR UND VORKOMMEN VON ZEARALENON .....	19
2.4.4.2	ZEARALENON-REZEPTOR INTERAKTION .....	22
2.4.4.3	METABOLISMUS VON ZEARALENON BEIM SCHWEIN .....	23
2.4.4.4	MOLEKULARE EFFEKTE VON ZEARALENON AUF FORTPFLANZUNGSFUNKTIONEN BEIM SCHWEIN .....	25
2.4.4.5	KLINISCHE EFFEKTE VON ZEARALENON AUF FORTPFLANZUNGSFUNKTIONEN BEIM SCHWEIN .....	27
<b>3</b>	<b>TIERE, MATERIAL UND METHODE.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>ZIELSTELLUNG .....</b>	<b>31</b>

<b>3.2 VERSUCHSZEITRAUM, ANGABEN ZUM VERSUCHSBETRIEB .....</b>	<b>31</b>
<b>3.3 VERSUCHSTIERE.....</b>	<b>32</b>
<b>3.4 VERSUCHSDESIGN .....</b>	<b>33</b>
3.4.1 HALTUNG DER SAUEN UND FERKEL.....	38
3.4.2 FÜTTERUNG UND TRÄNKUNG DER SAUEN.....	38
3.4.3 FÜTTERUNG UND TRÄNKUNG DER FERKEL .....	39
3.4.4 IMPFREGIME.....	40
<b>3.5 MATERIALGEWINNUNG.....</b>	<b>40</b>
<b>3.6 FIXIERUNG UND EINBETTUNG DES PROBENMATERIALS.....</b>	<b>41</b>
<b>3.7 HERSTELLUNG DER GEWEBESCHNITTE .....</b>	<b>41</b>
<b>3.8 FÄRBUNG DER GEWEBESCHNITTE .....</b>	<b>42</b>
<b>3.9 LICHTMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN .....</b>	<b>45</b>
3.9.1 AUSWERTUNG DER GEWEBESCHNITTE.....	45
3.9.2 ERHOBENE PARAMETER .....	45
3.9.2.1 UTERUS .....	45
3.9.2.2 EILEITER.....	47
3.9.2.3 CERVIX.....	48
<b>3.10 BIOSTATISTISCHE AUSWERTUNG.....</b>	<b>49</b>
<b>4 ERGEBNISSE.....</b>	<b>49</b>
<b>4.1 CERVIX.....</b>	<b>49</b>
4.1.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG .....	49
4.1.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN CERVICES DER VIER VERSUCHSGRUPPEN.....	50
<b>4.2 UTERUS .....</b>	<b>53</b>
4.2.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG .....	53
4.2.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN UTERI DER VIER VERSUCHSGRUPPEN .....	55
4.2.2.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	56
4.2.2.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	60
<b>4.3 EILEITER.....</b>	<b>64</b>

4.3.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG .....	64
4.3.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN EILEITERN DER EINZELNEN VERSUCHSGRUPPEN .....	66
4.3.2.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	66
4.3.2.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	69
<b>4.4 ERGEBNISSE DER PEARSON KORRELATION UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT .....</b>	<b>72</b>
4.4.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	73
4.4.1.1 CERVIX .....	73
4.4.1.2 UTERUS .....	73
4.4.1.3 EILEITER .....	74
4.4.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON- KONZENTRATION) .....	78
4.4.2.1 CERVIX .....	78
4.4.2.2 UTERUS .....	79
4.4.2.3 EILEITER .....	79
<b>4.5 ERGEBNISSE DES VERGLEICHS BEIDER VERSUCHSABSCHNITTE BEZÜGLICH DER GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT UND DER ERHOBENEN PARAMETER .....</b>	<b>85</b>
<b>5 DISKUSSION .....</b>	<b>92</b>
5.1 DISKUSSION DER FRAGESTELLUNG .....	92
5.2 DISKUSSION DER METHODIK .....	93
5.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....	96
5.3.1 GENERELLE HISTOLOGISCHE STRUKTUR .....	96
5.3.2 VERSUCHSGRUPPENABHÄNGIGE HISTOLOGISCHE ERGEBNISSE .....	98
5.4 ABSCHLIEßENDE BETRACHTUNG .....	103
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>104</b>
<b>7 SUMMARY .....</b>	<b>107</b>
<b>8 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>108</b>

## 1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Das Mykotoxin Zearalenon (ZEA) entfaltet an den Geschlechtsorganen des weiblichen Schweines östrogenartige Wirkungen, indem es als endogener Disruptor an Östrogenrezeptoren bindet (BARTOL 2002). Die Kontamination von Getreide mit ZEA hat somit Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt von weiblichen Schweinen, indem es zahlreiche Reproduktionsstörungen hervorruft. Dies stellt in der Praxis ein erhebliches gesundheitliches sowie wirtschaftliches Problem dar. Die Folgen einer Zearalenonintoxikation bei präpubertären und maturen Sauen wurden in der Vergangenheit mehrfach untersucht. Zusammenfassend wird als Folge einer Exposition mit Zearalenon das klinische Bild des Hyperöstrogenismus beschrieben. Dabei variiert der Ausprägungsgrad der klinischen und histomorphologischen Ergebnisse als Folge der unterschiedlichen Toxinkonzentrationen, der Dauer der Exposition und des Alters der Tiere.

Bisher fehlten in der Literatur Untersuchungen, die die Auswirkungen einer ZEA-Intoxikation von weiblichen Ferkeln im perinatalen Zeitraum beschreiben.

Das Ziel der vorliegenden Studie besteht darin, die Effekte des Mykotoxins Zearalenon auf den neonatalen porcinen Reproduktionstrakt histomorphometrisch zu erfassen. Dabei wurden die Ferkel niemals direkt dem Toxin ausgesetzt. Die Exposition erfolgte pränatal über den Uterus der Sauen und/oder postnatal über die Kolostralmilch. Neben einer Kontrollgruppe erhielten die Sauen in zwei Versuchsabschnitten unterschiedlich hohe Toxinkonzentrationen. Im ersten Versuchsabschnitt erhielten die Tiere maximal eine Dosis von 11,25 mg ZEA pro Tier und Tag. Im zweiten Versuchsabschnitt betrug die maximale Dosis einer Sau am Tag 1,87 mg.

Es gilt folgende Fragen zu beantworten:

1. Beeinflusst eine perinatale Zearalenonexposition die Entwicklung des Genitaltraktes von weiblichen Ferkeln?
2. Gibt es bei der histometrischen Untersuchung der Gewebeschichten von Cervix, Uterus und Eileitern zwischen den vier Versuchsgruppen Unterschiede?
3. Hat die Toxinkonzentration Einfluss auf den Ausprägungsgrad der erhobenen Parameter?

## **2 LITERATURÜBERSICHT**

### **2.1 MAKROSKOPISCHER AUFBAU VON UTERUS, CERVIX UND EILEITER BEIM SCHWEIN**

#### **2.1.1 UTERUS**

Der Uterus des Schweins wird als Uterus bicornis bezeichnet. Seine Aufgabe besteht darin, die befruchtete Eizelle aufzunehmen, sich mit ihren Hüllen zu verbinden und den Embryo bzw. Fetus zu ernähren.

Die Gebärmutter liegt bei allen Haussäugetieren fast vollständig in der Bauchhöhle. Die Ausnahme bildet die Cervix uteri, welche sich bis in den peritonäalen Teil der Beckenhöhle erstreckt (LEISER 1999).

Der typische Uterus bicornis ist charakterisiert durch:

- zwei Uterushörner (Cornua uteri)
- ein einheitlicher Uteruskörper (Corpus uteri)
- ein Uterushals (Cervix uteri)

Die beiden Uterushörner sind beim Schwein dünndarmschlingenähnlich gewunden (BERG 1990) und liegen in der Bauchhöhle. Sie weisen jedoch eine wesentlich derbere Konsistenz als dieser Darmabschnitt auf (KÖNIG und LIEBICH 1999).

Der Gebärmutterkörper hat beim adulten Schwein nur eine Größe von ca. 50 mm. Kaudal des Uteruskörpers liegt die Cervix, die beim Schwein ohne Ausbildung einer Portio vaginalis in die Vagina übergeht (LEISER 1999). Die Uterusschleimhaut bildet verschieden hohe, verstreichbare Falten aus. Im Bereich des Corpus uteri können sie besonders hoch sein. Darauf folgt die Muskulatur des Uterus, deren äußerer Teil in das Mesometrium zieht. Dort stellt sie sich als Serosamuskulatur dar. Das Perimetrium, ein Bauchfellüberzug, welcher vom Mesometrium übertritt, umschließt den Uterus in Richtung der Bauchhöhle (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995).

Die Uterusmasse eines Schweins schwankt in Abhängigkeit vom Alter des Tieres und des Zyklusstandes. Bei präpubertären Tieren liegt sie unter 200 g (BRAUNE 1975, SCHILLING und CERNE 1973, PRUNIER et al. 1987). Eine deutliche Erhöhung der Uterusmasse erfolgt mit Einsetzen des ersten Östrus (DYCK und SWIERSTRA 1983, KANO et al. 1993). Die Uterusmasse einer Jungsau in der Zeit

um den ersten Östrus beträgt 240 g. Für sich im zweiten Östrus befindliche Tiere sind es 413 g (WÄHNER et al. 1981).

### **2.1.2 CERVIX**

Die Cervix uteri dient der Öffnung und dem Verschluss des Uterus (SMOLLICH und MICHEL 1992). Der Gebärmutterhals des Schweines stellt sich als schlauchförmiger Körper dar, der eine breitere Wandstärke als Uterus und Eileiter aufweist (TRAUTMANN 1917). Im Vergleich zu anderen Tierarten stellt er sich sehr auffallend dar. Bei einer Länge von 150 - 250 mm und einer Wanddicke von bis zu 8 mm ist er im Durchmesser rund und von derber und knotiger Konsistenz (LEISER 1999). Gegenüber dem Uteruskörper ist die Cervix uteri nicht abgesetzt. Als Verschluss gegenüber Uterus und Vagina dienen im Lumen des Gebärmutterhalses gelegene Verschlusskissen, die Pulvini cervicales (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995). Dies sind sich gegenüberstehende derbe Erhebungen, die auf der längsgefalteten Schleimhaut sitzen. Sie sind alternierend angeordnet und greifen somit ineinander (LEISER 1999).

### **2.1.3 EILEITER**

Kranial an die Uterushörner schließen sich die Eileiter an. Die Lokalisation der Eileiter befindet sich beim ingraviden Tier im Becken. Der Eileiter stellt sich stark geschlängelt dar und verläuft von der Medialwand der Bursa ovarica auf die laterale Seite der Mesosalpinx. Der Eileiter ist ein enger, häutig-muskulöser Schlauch mit der Aufgabe die Eizelle bzw. die Eizellen aufzunehmen und sie in den Uterus zu leiten. Das Infundibulum tubae uterinae, welches dem Eierstock zugewandt ist, stellt das trichterförmig erweiterte Ende des Eileiters dar. An seinen Rändern trägt es unregelmäßige Fortsätze, die Fimbriae tubae. In seiner Tiefe führt das Ostium abdominale tubae uterinae in die Ampulla tubae uterinae, den erweiterten Anfangsteil des Eileiters. Darauf folgt der Isthmus tubae uterinae. Dieser Abschnitt ist viel länger als der Abstand zwischen Eierstock und Spitze des Uterushorns, da der Eileiter auf diesem Weg mehrere Windungen aufweist (LEISER 1999). Zusammen haben die Ampulla tubae uterinae und der Isthmus tubae uterinae eine Länge von 190 – 220

mm (SCHUMMER und VOLLMERHAUS 1995). Danach mündet der Eileiter mit dem Ostium uterinum tubae in das Uterushorn ein (LEISER 1999).

## **2.2 HISTOLOGISCHER AUFBAU VON UTERUS, CERVIX UND EILEITER BEIM SCHWEIN**

### **2.2.1 UTERUS ADULT**

Die Wand der Gebärmutter gliedert sich in folgende Schichten (LIEBICH 1998):

- Tunica mucosa (Endometrium)
  - Epithelium simplex columnare/ pseudostratificatum columnare
  - Lamina propria mucosae (Stroma endometrialis)
- Tunica muscularis (Myometrium)
- Tela subserosa
- Tunica serosa (Perimetrium)

Im Verlauf des ovariellen Zyklus und der fortschreitenden Gravidität unterliegen Endo- und Myometrium einem hormonal kontrollierten Struktur-Funktions-Wandel (SMOLLICH und MICHEL 1992).

Das Oberflächenepithel des Endometriums kann beim Schwein, wie auch beim Wiederkäuer, stellenweise mehrreihig hochprismatisch sein und wird als Epithelium pseudostratificatum columnare bezeichnet (LIEBICH 1998). Die Höhe des Oberflächenepithels nimmt vom Diöstrus über den Proöstrus und Östrus zum Metöstrus zu und danach wieder ab (SMOLLICH und MICHEL 1992). Beim Schwein besitzt das Oberflächenepithel zur Zeit des Östrus eine Höhe von 34 - 41 µm. Es ist gewellt und bildet unterschiedlich tiefe Pseudokrypten (LEISER et al. 1988). Die Zellen sind sezernierende Zellen, die mit Mikrovilli besetzt sind. Zeitweise tragen die Zellen Kinozilien und werden als Flimmerzellen bezeichnet. Die sekretorische Aktivität der Epithelzellen wird endokrin beeinflusst (LIEBICH 1998). Intraepithelial sind Lymphozyten lokalisiert. Diese sind Ausdruck der Barrierefunktion des Uterusepithels zwischen dem antigenhaltigen Lumen und der Schleimhautpropria mit den lymphoretikulären Abwehreinrichtungen (SMOLLICH und MICHEL 1992).

Die Lamina propria beinhaltet die tubulär verzweigten Uterindrüsen und ist aus spinozellulärem Bindegewebe aufgebaut (LIEBICH 1998). Sie ist verhältnismäßig zellreich und faserarm (SMOLLICH und MICHEL 1992). Im Östrus ist das

endometriale Stroma stark ödematisiert, so dass die kollagenen Faserbündel stark gequollen sind. Entlang des Oberflächenepithels sind oft polymorphnukleäre Leukozyten und Lymphozyten zu finden, die auch in das Oberflächenepithel einwandern können. Weiterhin befinden sich im oberflächennahen endometrialen Stroma viele Lymphozyten, eosinophile und neutrophile Granulozyten, sowie wenige Plasmazellen. In der Tiefe sind diese Zellen nicht mit dieser Häufigkeit anzutreffen. Außerdem lassen sich in den Blutgefäßen des Endometriums sehr oft Abwehrzellen feststellen (LEISER et al. 1988).

Die gesamte Lamina propria mucosae wird von den Uterindrüsen durchzogen. Sie erreichen teilweise mit ihren Endabschnitten die Tunica muscularis (LIEBICH 1998). Beim Schwein und beim Wiederkäuer sind sie besonders in ihren Endabschnitten stark geschlängelt (SMOLLICH und MICHEL 1992).

Im Östrus sind die Anschnitte der Uterusdrüsen länglich geformt und nur selten quergeschnitten. Dies weist auf eine geringere Schlängelung der Drüsentubuli hin.

Die Anzahl histologisch rundlicher Anschnitte nimmt vom Metöstrus über den frühen Diöstrus bis zum mittleren Diöstrus stark zu. Folglich wird im mittleren Diöstrus der größte Schlängelungsgrad der Drüsen im Zyklusgeschehen erkennbar. Im späten Diöstrus und Proöstrus nimmt die Schlängelung ab, so dass vermehrt länglich angeschnittene Uterusdrüsen zu sehen sind. Das Epithel der Uterindrüsen ist einschichtig bis mehrreihig hochprismatisch (LEISER et al. 1988).

Das Myometrium besteht aus glatten Muskelfaserbündeln. Diese Muskelfaserzüge sind in den Uterushörnern und im Uteruskörper zirkulär angeordnet, weshalb dieser Teil als Stratum circulare bezeichnet wird (LIEBICH 1998). Des Weiteren gibt es eine äußere longitudinale Muskelfaserschicht. Dazwischen befindet sich das Stratum vasculare (BERG 1990). Hierbei handelt es sich um eine Gefäßschicht mit größeren Arterien, Venen und Lymphgefäßen. Das Epithel und die Drüsen des Endometriums werden von diesen Gefäßen versorgt (LIEBICH 1998). Diese Schicht ist jedoch beim Schwein nur geringgradig ausgeprägt (BEILING 1906, LANGE 1959).

Der Uterus wird außen in Form eines einschichtigen Peritonealepithels, der Tela serosa, überzogen. Diese wird von der Tela subserosa und einer glatten Muskelschicht, dem Stratum musculare longitudinale unterlagert (LIEBICH 1998).

## 2.2.2 CERVIX ADULT

Die Cervix baut sich von innen nach außen folgendermaßen auf:

- Tunica mucosa
  - Epithelium mucosae
  - Lamina propria mucosae
- Tunica muscularis
  - Stratum circulare
  - Stratum longitudinale
- Tunica serosa (LIEBICH 1998)

Die Schleimhaut des Gebärmutterhalses bildet ein Faltensystem mit Längs- und Querfalten (SMOLLICH und MICHEL 1992). Der Schichtenbau der Cervix ist beim Schwein wesentlich dünner als der des Rindes (LIEBICH 1998). Das Epithel ist in den meisten Fällen als einschichtig und hochprismatisch zu beschreiben. Jedoch kann es manchmal auch eine mehrreihige oder mehrschichtige Form annehmen (LEISER 1990). Dies ist abhängig von Alter und Zyklusstand des Tieres. Geschlechtsreife Sauen weisen ein mehrschichtiges Epithel auf, welches in Richtung Uterus in ein hohes einschichtiges Zylinderepithel übergeht. Ferkel im Alter von drei Monaten haben hingegen nur ein einschichtiges Epithel (HEINONEN 1914). Die Lamina propria mucosae setzt sich aus lockerem kollagenem Bindegewebe zusammen, welches unter dem Einfluss von Östrogenen ödematisiert wird (LIEBICH 1998). Bei graviden Sauen und auch bei Sauen direkt nach der Geburt berichten ENDELL et al. (1979) von Cervikaldrüsen. Bei ingraviden Tieren sind in der Lamina propria keinerlei Drüsen zu finden (HEINONEN 1914). Die ersten Drüsen sind am Orificium internum zu finden (LIBAL 1990, KLEINEN 2006). Darauf folgt die Tunica muscularis. Sie besteht aus einer inneren zirkulär und einer äußeren longitudinal verlaufenden Muskelschicht (LEISER 1990). Die innere Ringmuskelschicht ist stärker ausgeprägt als die äußere longitudinale Schicht. Getrennt werden diese beiden Schichten durch ein Stratum vasculare (RÖBER 1914). In dieser Muskelschicht befinden sich zusätzlich eingelagerte elastische Fasern, welche post partum helfen den Geburtsweg wieder zu verengen (LIEBICH 1998). Die Tunica serosa überzieht außen die Cervixoberfläche und besteht aus einschichtigem Plattenepithel. Sie stellt die Grenze zur Bauch- und Beckenhöhle dar (LEISER 1999).

### 2.2.3 EILEITER ADULT

Die Wand des Eileiters gliedert sich in:

- Tunica mucosa
  - Epithelium mucosae
  - Lamina propria mucosae
- Tunica muscularis
- Tela subserosa
- Tunica serosa

Die Tunica mucosa bildet ein einschichtiges, meist hochprismatisches Epithel, welches zwei Zellformen aufweist. Zum einen die Flimmerzellen, die oberflächlich Kinozilien aufweisen und zum anderen die Mikrovilli tragenden Drüsenzellen, welche einen schwach sauren Schleim und Nährstoffe zur Versorgung der Keimzellen sezernieren (LIEBICH 1998). Die Zilienzellen weisen ein helles Zytoplasma mit einem großen Kern auf und sind in großer Zahl im Infundibulum und in der Ampulla zu finden. Die Drüsenzellen ragen mit ihren Zellkuppen bis in das Lumen hinein und enthalten in ihrem Inneren Sekretgranula. Zwischen diesen Zellen sind dunkle Stiftchenzellen eingekleilt. Sie befinden sich in der Phase der Degeneration. Des Weiteren sorgen kleine Basalzellen für den Zellersatz (LEISER 1990).

Außerdem bildet die Tunica mucosa des Eileiters Längsfalten aus. Diese sind dicht gelagert und unverstreichbar. Im Bereich der Eileiterampulle sind sehr hohe, mit Sekundär- und Tertiärfalten (Plicae tubariae) ausgestattete Schleimhautfalten zu finden. Diese Schleimhautfalten nehmen an Höhe und Verzweigungsgrad in Richtung des Uterus ab. Die Lamina propria mucosae ist drüsenlos und besteht aus einem zellreichen, feinfaserigen Bindegewebe (SMOLLICH und MICHEL 1992). In diesem Bindegewebe sind Plasmazellen, Mastzellen und eosinophile Granulozyten anzutreffen (LEISER 1990).

Die Tunica muscularis ist in den einzelnen Wandabschnitten unterschiedlich stark entwickelt. So sind die glatten Muskelzellen in Infundibulum und Ampulla besonders dünn ausgebildet. Außerordentlich verstärkt ist die Wandmuskulatur im Isthmus (LIEBICH 1998). Die Tunica muscularis besteht aus glatter Muskulatur und setzt sich vor allem aus zirkulären Faserbündeln zusammen. Daneben kommen aber auch longitudinale und schräge Faserbündel vor. Diese Muskelschicht ist aufgrund ihrer

Kontraktionen, neben dem uteruswärts gerichteten Flimmerstrom, am Transport der Eizelle beteiligt (LEISER 1990).

Außen wird der gesamte Eileiter von einer Tunica serosa überzogen (LIEBICH 1998).

#### **2.2.4 UTERUS PRÄ- UND POSTNATAL**

Um den Zeitpunkt der Geburt hat der Uterus des Schweins ein auf zellulärer Ebene undifferenziertes Endo- und Myometrium. Zu diesem Zeitpunkt lassen sich keine Uterindrüsen nachweisen, da deren Entwicklung aus dem luminalen Epithel erst in der zweiten Lebenswoche beginnt (HADEK und GETTY 1959, BAL und GETTY 1970, ERICES und SCHNURRBUSCH 1979, BARTOL et al. 1993). Zu diesem Zeitpunkt besteht der neonatale porcine Uterus aus einem einfachen, leicht gewellten Zylinderepithel, welches von einem unorganisierten stromalen Mesenchym gestützt wird. Umgeben werden diese beiden Schichten von einem rudimentären Myometrium (BARTOL et al. 1993, SPENCER et al. 1993, TARLETON et al. 1998, CHRISTENSON et al. 1997). Etwa sieben Tage nach der Geburt besteht das Stroma aus einem flachen Stratum compactum und einem hohen Stratum spongiosum. Einzelne gewundene Drüsen sind im flachen Teil des Stromas zu finden. Vierzehn Tage post natum nehmen viele geschlängelte tubulöse Drüsen ein Drittel der Distanz zwischen luminalem Epithel und Myometrium ein. Das Myometrium hat sich zu diesem Zeitpunkt bereits in eine innere zirkuläre und eine äußere longitudinale Muskelschicht differenziert. Um den 28. Tag post natum haben die Uterindrüsen sich derart verzweigt, dass sie im kompletten endometrialen Stroma zu finden sind. Ihre Dichte nimmt bis zum 56. Tag nach der Geburt zu (SPENCER et al. 1993, TARLETON et al. 1998, CHRISTENSON et al. 1997). Etwa 120 Tage post natum hat der Uterus des Schweins das Stadium der morphologisch funktionellen Maturität erreicht (BARTOL et al. 1993). Die neonatale Cervix zeigt unmittelbar post natum makroskopisch einen hohen Differenzierungsgrad, welcher durch die frühzeitige Ausbildung der Zervikalkissen deutlich gemacht wird. Hingegen ist histologisch die Differenzierung der Cervix zum Zeitpunkt der Geburt noch nicht abgeschlossen (KREBS 2007).

## 2.3 STEUERUNG DER PRÄ- UND POSTNATALEN ENTWICKLUNG VON UTERUS CERVIX UND EILEITERN BEIM SCHWEIN

Bei Säugetieren differenziert sich der Uterus aus den Müllerschen Gängen. Außerdem gehen Infundibulum, Eileiter, Cervix und der anteriore Teil der Vagina aus diesen hervor (MOSSMANN 1987). Diese Differenzierungsvorgänge sind zwei Wochen nach der Geburt komplett abgeschlossen (CUNHA 1976).

Beim Schwein sind das Wachstum des Uterus und die Entwicklung des Endometriums bis zum sechzigsten Tag post natum völlig unabhängig vom Ovar (BARTOL et al. 1993, TARLETON et al. 1998). Während dieses Zeitraums lassen sich zwei Entwicklungsphasen des Endometriums unterscheiden. Die erste Phase zwischen Geburt und dem siebten Tag post natum wird als infantile Phase bezeichnet. Dies ist die Zeit vor und während des Beginns der Entwicklung der Uterindrüsen (SPENCER et al. 1993). Die Uterindrüsen entstehen postnatal aus dem Oberflächenepithel (ERICES und SCHNURRBUSCH 1979).

In der zweiten Phase, die sich vom siebten bis zum vierzehnten Tag post natum erstreckt, befindet sich die DNS-Synthese im glandulären Epithel auf dem Maximum. Aus diesem Grund wird diese Phase auch als proliferative Periode bezeichnet (SPENCER et al. 1993).

TARLETON et al. (1999) bestätigen durch ihre Versuche, dass der Beginn der endometrialen Drüsenentwicklung beim Schwein ein ausschließlich postnatales Geschehen ist. Auch bei Nagern und Schafen ist dies der Fall. Beim Mensch beginnt dieser Prozess bereits während der Fetalperiode, setzt sich postnatal fort und wird während der Pubertät abgeschlossen (GRAY et al. 2001).

Das Wachstum des Uterus umfasst in den ersten zwei Wochen nach der Geburt eine Zunahme der Uterusgröße, welche durch einen Anstieg des Uterusgewichtes und durch eine Dickenzunahme der Wand des Uterus charakterisiert ist (TARLETON et al. 1999). Beim Schwein ist die Expression des endometrialen Östrogenrezeptors  $\alpha$ , ebenso wie die Entwicklung der Uterindrüsen, ein postnatales Geschehen (TARLETON et al. 1998).

Durch Versuche, in denen die Effekte von Östrogenen und Antiöstrogenen auf das neonatale porcine Endometrium untersucht wurden konnten TARLETON et al. (1999) feststellen, dass die Aktivierung des Östrogenrezeptors für eine normale Entwicklung der Uterindrüsen und die endometriale Reifung unbedingt erforderlich ist und somit

die Entwicklung des neonatalen porzinen Endometriums in Abhängigkeit vom Östrogenrezeptor steht.

Weiterhin hat Relaxin Auswirkungen auf das Wachstum und die Entwicklung des neonatalen porzinen Uterus (BAGNELL et al. 2005). Relaxin ist ein Peptidhormon des Corpus luteum (KARLSON 1980) und gilt als eines der wichtigsten Geschlechtshormone beim Schwein. Es treibt die Entwicklung des Gesäuges voran, so dass es zu einer normalen Laktationsleistung fähig ist (SHERWOOD 2004), und bewirkt eine Auflockerung und Erweichung der Schamfuge vor der Geburt (KARLSON 1980). Des Weiteren stimuliert Relaxin das Uteruswachstum in trächtigen und präpubertären Sauen sowie bei zwei Wochen alten weiblichen Ferkeln. Die Effekte des Relaxins sind abhängig von der Expression des Östrogenrezeptors  $\alpha$ . Wenn dieser Rezeptor nicht vorhanden ist, was bis zum zweiten Tag post natum der Fall ist, oder chemisch inaktiviert wird, bleibt der wachstumsfördernde Effekt des Relaxins auf den Uterus aus (BAGNELL et al. 2005). Relaxin spielt neben den Östrogenen auch in der postnatalen Cervixentwicklung eine große Rolle. YAN et al. (2005) stellten bei Ferkeln, die in den ersten beiden Lebensstagen mit Relaxin behandelt wurden, eine Vergrößerung der Cervix fest. Dies konnte jedoch nicht für den Uterus bestätigt werden. In der Cervix wurde eine höhere Dichte spezifischer Relaxinrezeptoren nachgewiesen als im Uterus. Außerdem verringerte sich die Rezeptordichte unter dem Einfluss der Relaxinbehandlung. YAN et al. (2005) schlossen daraufhin auf eine Downregulierung über eine negative Rückkopplung.

## **2.4 ENDOGENE ÖSTROGENE UND ENDOKRINE DISRUPTOREN MIT ÖSTROGENARTIGER WIRKUNG**

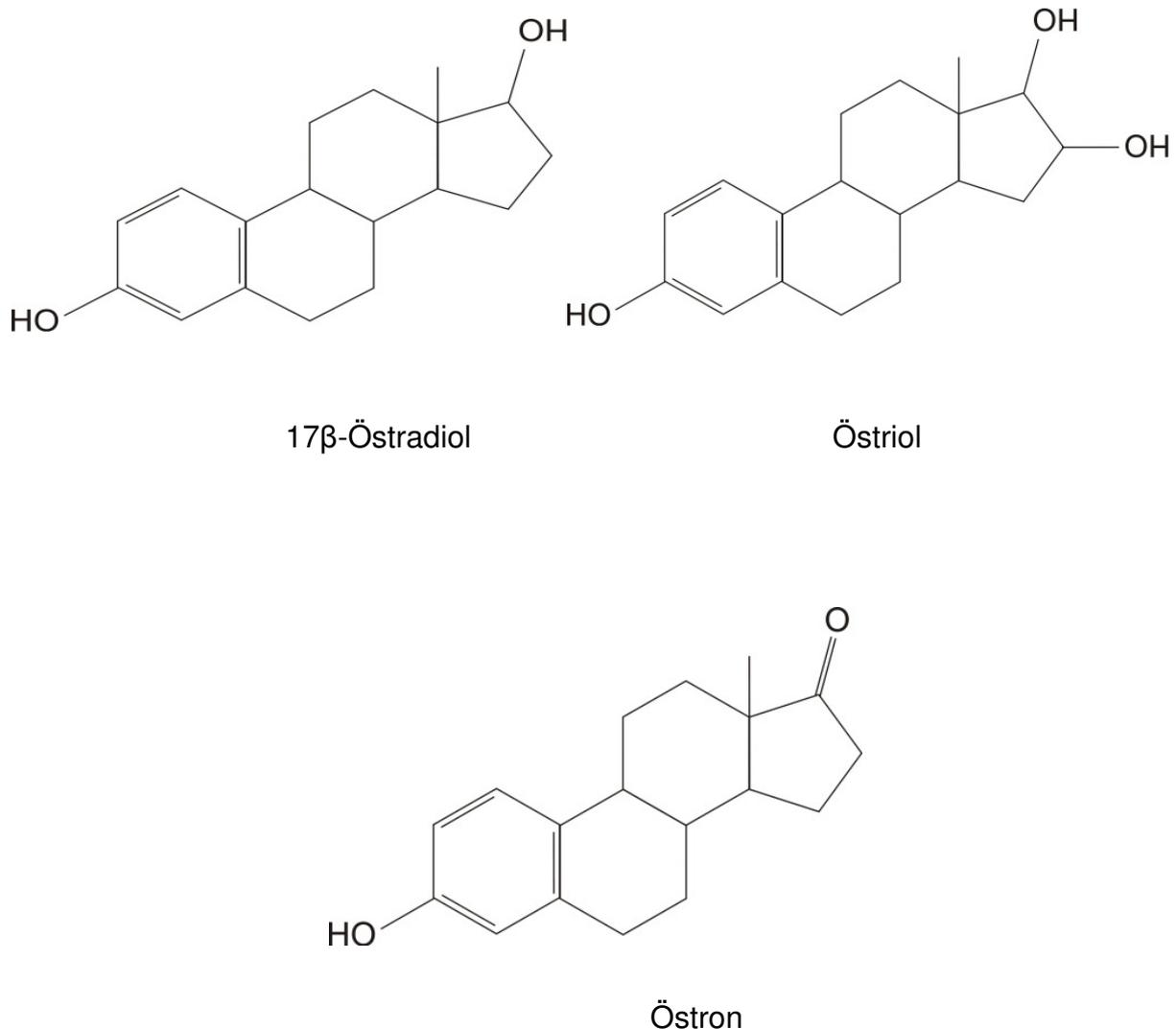
### **2.4.1 STRUKTUR UND VORKOMMEN DER ÖSTROGENE**

Östrogene sind eine Klasse von Hormonen, die den Steroidhormonen zugeordnet werden. Sie besitzen eine gemeinsame chemische Grundstruktur (Abb. 2.4.1.1) und werden als C<sub>18</sub>-Steroide bezeichnet. Sie unterscheiden sich von anderen Steroiden durch den aromatischen Ring A und das Fehlen der Methylgruppe. Außerdem besitzt die OH-Gruppe an C-3 phenolischen Charakter. Vorstufe der Östrogene ist das Testosteron, das an C-19 oxidiert wird (KARLSON 1980). Östrogene spielen vor allem in der weiblichen Reproduktion und Geschlechtsentwicklung eine große Rolle

(SMITH 1998). Weiterhin haben sie einen Einfluss auf den Fett- und Knochenstoffwechsel, den Gastrointestinaltrakt, das kardiovaskuläre System sowie das Immunsystem (ENMARK und GUSTAFSSON 1999).

Zu den Östrogenen werden  $17\beta$ -Östradiol, Östron,  $17\alpha$ -Östradiol und Östriol (aufgelistet nach abnehmender biologischer Wirksamkeit) gezählt. Tragende Stuten weisen des Weiteren noch das Equillin und Equilenin auf (BAMBERG 1994).

Die Synthese der Östrogene findet beim weiblichen Tier hauptsächlich in den Sekundär- und Tertiärfollikeln des Ovars, in der Plazenta, der Nebennierenrinde und bei männlichen Tieren auch in großen Mengen in den Sertolizellen des Hodens statt (BAMBERG 1994).



**Abb. 2.4.1.1:** Strukturformel natürlicher Östrogene

In Abhängigkeit von zahlreichen Enzymen, wie Cytochrom P450 Enzymkomplexe und Dehydrogenasen, erfolgt die Biosynthese von Östrogenen aus Cholesterol über die Zwischenstufen der Gestagene und Androgene (BAMBERG 1994, SMITH 1998). Anschließend erfolgt die Sekretion in die Blutbahn, jedoch verbleiben nur zwei bis drei Prozent der synthetisierten Östrogene frei im Blut. Im Blutkreislauf sind 97 - 98 % an Serumproteine (Albumine und Globuline) gebunden.

Vorwiegend binden sie an das „sex hormone binding globulin“ (SHBG). Eine Diffusion in die Zielzelle mit nachfolgender östrogenen Wirkung kann jedoch nur in freier Form stattfinden. Aus diesem Grund sind diese gebundenen Östrogene biologisch inaktiv (BAMBERG 1994, SMITH 1998). In Abhängigkeit von der Serumkonzentration freier Östrogene können aus dem Pool der proteingebundenen Steroide diese langsam freigesetzt werden (BAMBERG 1994).

Außerdem wurde nachgewiesen, dass die Bioverfügbarkeit von endogenen Östrogenen durch Phyto-, Myko- und Xenoöstrogene, die in hohen Serumkonzentrationen kompetitiv an diese Serumproteine binden, beeinflusst wird (MATTHEWS et al. 2000, TOLLEFSEN 2002). Mittels aktiven Transportes diffundieren die Östrogene in die Zelle, dort treten sie in noch immer freier Form in den Zellkern ein und gehen erst hier mit östrogenspezifischen Rezeptoren eine Bindung ein (BOJAR 1988).

Da nur frei zirkulierende Hormone metabolisiert werden können, sind der Metabolismus und die Elimination der Östrogene in hohem Maße abhängig von der Serumkonzentration an SHBG. In kurzer Zeit (wenige Minuten) werden diese freien Hormone in Leber, Niere, Lunge, Gonaden und anderen Geweben zu wasserlöslichen Komponenten umgewandelt (v.a. Glukuronide und Sulfatide) und über die Nieren und auch, jedoch in geringerem Maße, über den Fäzes ausgeschieden (BAMBERG 1994, SMITH 1998).

Bei Ferkeln wurde eine hohe katabole Aktivität gegenüber Östrogenen in den ersten vier bis neun Lebensstunden nachgewiesen, da sie physiologischerweise im Serum einen hohen Östrogenspiegel aufweisen, bedingt durch eine hohe Östrogensynthese der fetoplazentaren Einheit. Der genaue Mechanismus ist hierbei noch ungeklärt (BATE und HACKER 1982).

## 2.4.2 ÖSTROGENREZEPTOREN

Die Östrogenrezeptoren (ER) werden der Familie der nukleären Rezeptoren zugeordnet. Zu dieser Rezeptorenklasse gehören neben den ER die Progesteron- (PR) und Glukokortikoidrezeptoren sowie die Rezeptoren der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T3) und Thyroxin (T4) (ENMARK und GUSTAFSSON 1999).

Grundsätzlich können bis heute bei Säugetieren zwei (ER $\alpha$  und ER $\beta$ ) und bei Fischen drei (ER $\alpha$ , ER $\beta$  und ER $\gamma$ ) Formen von Östrogenrezeptoren nachgewiesen und unterschieden werden (GREEN et al. 1986, GREENE et al. 1986, KUIPER et al. 1996, MENUET et al. 2002). SHUGHRUE et al. (2002) vermuten jedoch das Vorkommen weiterer Östrogenrezeptorisotypen.

Ihre Wirkung entfalten sie als ligandenaktivierte Transkriptionsfaktoren. Kennzeichnend für diese Klasse ist der gemeinsame einheitliche Strukturaufbau (SEGNITZ und GEHRING 1995). Jedoch werden speziesspezifische Varianzen in der Bindungsaffinität der ER zu natürlichen Substanzen wie 17 $\beta$ -Östradiol und Zearalenon und synthetisch hergestellten Substanzen wie Diethylstilbestrol beschrieben (MURAMATSU und INOUE 2000, YONEDA 2000). Diese Varianzen werden auf speziesspezifische Unterschiede in der Aminosäuresequenz der ligandenbindenden Domäne des ER zurückgeführt (MATTHEWS et al. 2000).

PAECH et al. (1997) haben zusätzlich mittels in vitro Untersuchungen eine ligandenabhängige, jedoch für ER $\alpha$  und ER $\beta$  individuelle, transkriptionsaktivierende und -hemmende Aktivität nachgewiesen. COUSE und KORACH (1999) beschreiben komplexe, ligandenunabhängige Aktivitäten der Östrogen- und Progesteronrezeptoren.

ER und PR werden, nachdem sie im Zytoplasma synthetisiert wurden, über aktive ATP- und temperaturabhängige Transportmechanismen in den Zellkern transportiert (GUICHON-MANTEL et al. 1996). Die Rezeptoren unterliegen einem kontinuierlichen Wechsel zwischen Diffusion aus dem Nukleus in das Zytoplasma und aktivem Rück-Transport (GUICHON-MANTEL et al. 1991, YONEDA 2000).

Steroidhormone diffundieren in die Zelle und binden an den Rezeptor. Dieser Komplex wird in Folge in den Zellkern transloziert. Dort wird die Synthese von RNA gestartet. Es gibt jedoch Hinweise, dass die Östrogenrezeptoren partiell auch ohne hormonelle Stimulation im Kern vorzufinden sind. Die Transkription kann nur durch ein Steroidhormon initiiert werden. Nachdem eine Steroidbindung stattgefunden hat,

kommt es zur Dimerisierung und Konformationsänderung des Rezeptors. Dies überträgt sich auf die DNS-Bindungsdomäne. Der Gesamtkomplex bindet an spezifische „regulatorische Elemente“ der DNS (BEATO et al. 1987, SCHÜTZ 1988). Lokalisiert sind die Östrogenrezeptoren bei männlichen und weiblichen Tieren im Reproduktionstrakt, in der weiblichen Mamma, in den Knochen, dem kardiovaskulären System und in verschiedenen Regionen des Gehirns.

Das Verhältnis der beiden Rezeptoren zueinander variiert sowohl organspezifisch als auch zum Teil speziesspezifisch (COUSE et al. 1997, SHUGHRUE et al. 1998, MURAMATSU und INOUE 2000). Veränderungen in der Dichte und der Relation der Rezeptoren zueinander werden unter anderem durch die Geschlechtsentwicklung prämaturer Tiere und auch durch den Zyklusstand und das Reproduktionsstadium maturaer weiblicher Tiere hervorgerufen (LI 1994, SAJI et al. 2000, WEIHUA et al. 2000, WU et al. 2000, CARPINO et al. 2004). Zudem haben Untersuchungen an Labornagern auf der Ebene von ER-mRNA das Aufstellen verschiedener Theorien über Wirkung und Interaktion von ER $\alpha$  und ER $\beta$  ermöglicht (SAJI et al. 2000, WEIHUA et al. 2000, SHUGHRUE et al. 2002). ER $\alpha$  und ER $\beta$  weisen in Abhängigkeit von den natürlichen oder synthetisch hergestellten Liganden eine die individuelle Transkription stimulierende und/oder hemmende Aktivität auf (PAECH et al. 1997).

### **2.4.3       EFFEKTE VON ÖSTROGENEN AUF UTERUS UND EILEITER BEIM SCHWEIN**

Die Gewebe von Uterus und Eileiter proliferieren und differenzieren sich aktiv unter dem Einfluss der Steroidhormone Östrogen und Progesteron während des Östrus (MARCUS 1974, JANSEN 1980).

Östrogene üben generell über eine Hyperämie und die Stimulierung der Proteinbiosynthese, an der auch Wachstumsfaktoren beteiligt sind, einen das Wachstum und die Aktivität des Genitaltraktes fördernden Effekt aus. Im Gegensatz dazu verringern Gestagene die Durchblutung und rufen eine Ruhigstellung der Muskulatur hervor (BRENNER und WEST 1975). Es ist bewiesen, dass in der Gefäßmuskulatur der Arterien in Uterus, Tuben und Vagina Östrogen- und Progesteronrezeptoren vorhanden sind. Dies ist außerhalb des Genitaltraktes nicht der Fall. Somit können die Ovarialhormone die Blutzirkulation in den weiblichen Geschlechtsorganen über den direkten Ansatz an der Gefäßwand kontrollieren

(DÖCKE 1994). Für den Menschen ist nachgewiesen, dass die Proliferation tumorös entarteter Drüsenepithelien der Mamma eine deutliche östrogene Abhängigkeit aufweist. Das Wachstum unveränderter Drüsenzellen ist jedoch unabhängig von östrogenen Einflüssen (WARNER et al. 2000).

### Uterus

Der Uterus reagiert besonders stark auf die Einwirkungen der Sexualhormone. Die Effekte, die Östrogene auf den Uterus ausüben, beinhalten einen Anstieg der Gefäßpermeabilität, der Proteinsynthese, der Sekretion und der Zellteilung. Außerdem sind sie verantwortlich für das gehäufte Auftreten von Ödemen im Gewebe (CLARK et al. 1985).

Vom Proöstrus bis zur Hochrausche erhöht sich beim Schwein die Anzahl der zytoplasmatischen Östrogenrezeptoren in Myometrium und Endometrium und fällt danach wieder ab. Dagegen steigt die Anzahl der Kernrezeptoren bis in die frühe Lutealphase an und verringert sich erst signifikant nach dem achten Zyklustag.

Im Myometrium tritt unter Östrogeneinfluss zunächst eine durch Histamin- und Acetylcholinfreisetzung bedingte Hyperämie auf. Darauf folgt eine verstärkte Natriumaufnahme und vermehrte extrazelluläre Wassereinlagerungen. Anschließend werden Enzyme über eine verstärkte RNA-Synthese induziert. Diese bewirken eine Stimulation des Phospholipid- und Kohlenhydratstoffwechsels und damit eine Bereitstellung von Energiereserven in Form von Glykogen, ATP und Kreatinphosphat (DÖCKE 1994). Über die Synthese von Struktureiweiß und eine Erhöhung der Mitoserate kommt es zur Hypertrophie und Hyperplasie, also zum Wachstum der Uterusmuskulatur. Dabei haben wahrscheinlich unterschiedliche Wachstumsfaktoren, deren Produktion durch die Ovarialhormone kontrolliert wird, eine wesentliche Bedeutung (BRIGSTOCK et al. 1989).

Gestagene können alleine keine wesentliche Beeinflussung von Uteruswachstum und des Energiestoffwechsels hervorrufen. Jedoch sind sie in der Lage den wachstumsfördernden Effekt der Östrogene in der Gravidität zu verstärken. Bei entsprechender Dosierung können sie die durch Östrogene bedingten Veränderungen auch hemmen (SALLOCH 1969). Weiterhin sind Östrogene in hohem Maße für die Kontraktilität des Myometriums verantwortlich, dessen Bedeutung für den Spermientransport bei der Befruchtung und für die Wehentätigkeit bei der Geburt liegt (DÖCKE 1994). Mit der erhöhten Spontankontraktilität des

Uterus geht eine verstärkte Ansprechbarkeit des Myometriums auf die kontraktionsfördernde Wirkung endo- und exogener Faktoren einher (JUNG 1965). Dabei stellt die Paarung einen starken Stimulus dar. Bei Schwein und Rind treten im Östrus kräftige, langanhaltende Kontraktionswellen auf, die sich mit einer Geschwindigkeit von etwa 1 cm pro Sekunde vom zervikalen Uterusabschnitt in Richtung auf die Tuben fortpflanzen. Auf diese Weise fördern die Kontraktionswellen den Transport der Spermien zum Ort der Befruchtung (DÖCKE 1962, ZEROBIN 1968).

Bei den Haussäugetieren bestehen die Wirkungen der Sexualsteroiden auf das Endometrium darin, dass sich die Höhe des Epithels verändert. Bei ihnen stehen schnell induzierbare Vorgänge, wie Hyperämie, Ödembildung, eine gesteigerte Proteinsynthese und eine erhöhte Mitoserate im Endometrium und Stroma im Vordergrund (MARTIN 1980). KURTZ et al. (1969) injizierten sechs Wochen alten weiblichen Schweinen über vier Tage Östradiol und konnten dadurch bestätigen, dass Östrogene eine Hypertrophie des Uterus bewirken.

In einem Versuch, bei dem ovariektomierten Sauen über längere Zeit Östrogene zugeführt wurden, konnte festgestellt werden, dass das Uterusgewicht anstieg, der Durchmesser der Uterushörner zunahm, der Durchmesser der Uterindrüsen anstieg und das luminale Epithel sich verdickte (CÁRDENAS und POPE 2004).

Östrogene lösen eine Proliferation der Schleimhaut aus. Diese geht von den während des zyklischen Geschehens unverändert bleibenden Drüsen der Basalschicht aus (DÖCKE 1994). Des Weiteren verdickt sich das Epithel des Endometriums, indem es mehrschichtig wird (MEHLHORN et al. 1975, KAEOKET et al. 2002), und die Schleimhautdrüsen vergrößern sich. Dies geschieht, indem sie sich strecken und deren Epithel sich erweitert, dicker wird und beginnt Glykogen einzulagern. Dabei besteht ein Synergismus von Östrogenen und dem unter ihrer Einwirkung gebildeten Epidermal growth factor (DÖCKE 1994).

Für die östrogenbedingte Erhöhung der Mitoserate im Endometrium ist dessen Kontakt mit dem Stroma notwendig, da Östrogenrezeptoren, deren Bildung durch Östrogene selbst induziert wird, vor allem in diesem lokalisiert sind. Des Weiteren entwickeln sich eine Hyperämie und ein Ödem des Stromas aus den Blutgefäßen. Bei deren Proliferation spielt der Fibroblast growth factor eine Rolle (DÖCKE 1994). Im Stroma endometrii sind zur Zeit des Östrus vor allem subepithelial Lymphozyten, wenige neutrophile Granulozyten und Monozyten zu finden (MEHLHORN et al. 1975,

LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002). Diese Zellen signalisieren die erhöhte Abwehrbereitschaft des Endometriums, da bei der Paarung über die geöffnete Cervix Keime eindringen können, welche daraufhin mit den überzähligen Spermien phagozytiert werden (KAEOKET et al. 2002).

Weiterhin induzieren Östrogene die Bildung von Progesteronrezeptoren im Endometrium und im Stroma. Durch die Progesteronsekretion aus dem Corpus luteum wird das Endometrium zum Sekretionsstadium transformiert, das die Grundlage für die Ernährung der freien Blastozysten und die Implantation darstellt. Für eine physiologische Sekretionsfunktion ist ein fein abgestimmtes Progesteron-Östrogen-Verhältnis erforderlich (DÖCKE 1994).

### Eileiter

Um die Zeit des Östrus ist die Eileitermotilität am stärksten. Dies wird durch die Stimulation der Östrogene hervorgerufen. Primär treten Kontraktionen der Längsmuskulatur des Isthmus auf. Kontraktionen der Zirkulärmuskulatur sind direkt im Östrus zu registrieren. Oxytocin unterstützt dabei, ebenso wie im Uterus, die stimulatorische Wirkung der Östrogene (DÖCKE 1994).

Des Weiteren stimuliert Östradiol  $17\beta$  die Proliferation des Epithels in Eileiter und Uterus (GALAND et al. 1971). Im ovarseitigen Abschnitt des Eileiters wird unter dem präovulatorischen Einfluss der Östrogene die Bildung von Zilien auf den Epithelzellen induziert. Die Zilien transportieren nach der Ovulation die Eizelle vom Infundibulum zur Ampulle, den Ort der Befruchtung. Durch hohe Östrogenkonzentrationen wird bei den landwirtschaftlichen Nutztieren das sog. tube locking hervorgerufen. Dies bewirkt einen weitgehenden Verschluss der utero-tubalen Verbindung, was den Transport der Spermien in den Eileiter verzögert, und es somit zur Bildung eines Spermienreservoirs kommt. Das vom Corpus luteum gebildete Progesteron hebt das tube blocking später wieder auf (DÖCKE 1994).

MC DONALD und BELVE (1970) fanden durch Untersuchungen am Schaf über den Sekretaustritt aus den beiden Eileiterenden und die nach einer Superovulation beschleunigte Passage der Eizellen durch die Tuben heraus, dass unter Einfluss von Östrogenen die Kontraktionswellen vorwiegend in Richtung Ovar ablaufen. Unter Progesteroneinfluss verlaufen diese Kontraktionswellen genau entgegengesetzt in Richtung Uterus. Auf diese Weise wird der Spermien- bzw. der Zygotenttransport unterstützt. Bei Östrogendominanz ist die sekretorische Eileiteraktivität am höchsten.

Unter Gestageneinfluss ist sie wesentlich geringer und am niedrigsten nach einer Ovariectomie. Dementsprechend sind die Osmolarität des Eileitersekrets und der Gehalt an Tockensubstanz unter Östrogeneinfluss niedrig, unter Progesteronwirkung und nach einer Ovariectomie erhöht (DÖCKE 1994).

Der für den Stoffaustausch zwischen Eileitersekret und den Spermien bzw. der Zygote erforderliche Gehalt des Tubensekrets an Enzymen, Mucopolysacchariden, Proteinen, Lipiden und Glykogen unterliegt, ebenso wie der pH-Wert und die O<sub>2</sub>-Spannung, zyklischen Schwankungen, die durch die Ovarialhormonspiegel im Blut bedingt sind (JOHNSON und FOLEY 1974, SIEGLER 1986).

Außerdem steht fest, dass der Kapazitationsvorgang der Spermien bei ovariectomierten Tieren wesentlich länger dauert als beim intakten Tier. Dies beruht auf der Wirkung der ovariellen Östrogene (BEDFORD 1970).

#### **2.4.4 ENDOKRINE DISRUPTOREN MIT ÖSTROGENARTIGER WIRKUNG**

Grundsätzlich werden unter der Bezeichnung endokrine Disruptoren (EDs) Substanzen zusammengefasst, die den normalen Ablauf physiologischer Vorgänge verändern, indem sie Hormonaktivitäten imitieren, blockieren oder modulieren (BARTOL 2002). Es sind in der Umwelt vorkommende chemische Verbindungen, die die Entwicklung und Funktion von Geweben der Fortpflanzungsorgane beeinträchtigen können. Unter diesen chemischen Verbindungen sind vor allem solche von Bedeutung, die ähnliche Effekte wie Steroidhormone auslösen können. In der Umwelt vorkommende EDs, mit denen Tiere in Kontakt kommen können, werden in verschiedene Kategorien eingeteilt:

1. Arzneimittel, wie endokrine Modulatoren, die für therapeutische Zwecke hergestellt wurden. Hier sind zum Beispiel die oralen Kontrazeptiva zu erwähnen (BARTOL 2002).

2. natürlich vorkommende endokrin aktive chemische Verbindungen.

Zu dieser Gruppe werden Isoflavone, Lignane, Cumestane,  $\beta$ -Sitosterol und die Mykotoxine gezählt. Viele von diesen Verbindungen können als natürlich-selektive Östrogenrezeptormodulatoren fungieren (BARTOL 2002).

3. industriell hergestellte Xenochemikalien (GUILLETTE und GUILLETTE 1996). Dazu gehören Pestizide, Fungizide, Weichmacher, Siloxane, Polystyrene, polychlorierte Biphenyle, polychlorierte Dibenzodioxine und alkylphenolische

Verbindungen (DANZO 1998, SHARARA et al. 1998, NILSSON 2000, HOYER 2001, MCLACHLAN 2001, CUNHA 1999, CASSIDY 2000).

Grundsätzlich kann jeder durch einen Steroidrezeptor vermittelte Weg von einer oder mehreren dieser chemischen Verbindungen aktiviert oder moduliert werden (COOPER und KAVLOCK 1997, NILSSON 2000, HOYER 2001, SAFE et al. 1998).

Da sich therapeutische, natürliche und industrielle Bereiche oft überschneiden, besteht für Tiere die Gefahr gleichzeitig mehreren EDs ausgesetzt zu sein. Dies kann bereits intrauterin beginnen und sich durch das ganze Leben fortsetzen.

Viele dieser Verbindungen können sowohl als Rezeptoragonisten als auch als Antagonisten ihre Wirkung entfalten. Dies hängt davon ab, in welchem Gewebe sie wirken und in welchem Kontext (COOPER und KAVLOCK 1997, SHARARA et al. 1998, NILSSON 2000, HOYER 2001).

Außerdem können Rezeptoren unterschiedliche Liganden binden. Je nach Umständen kann eine einzige Verbindung mehr als einen Rezeptor vermittelten Effekt auslösen (COOPER und KAVLOCK 1997, DANZO 1998, HOYER 2001).

Viele Differenzierungsvorgänge und Abläufe im weiblichen Geschlechtstrakt sind steroidempfindlich und an Steroidrezeptoren gebunden. Aus diesem Grund können in der Umwelt vorkommende EDs über Steroidrezeptor vermittelte Mechanismen Läsionen im sich entwickelnden Reproduktionstrakt hervorrufen (BARTOL 2002).

Somit steht fest, dass während der kritischen prä- und postnatalen Periode sich entwickelnde Gewebe besonders empfindlich gegenüber den disruptiven Effekten von Verbindungen, die an Steroidrezeptoren binden können, sind.

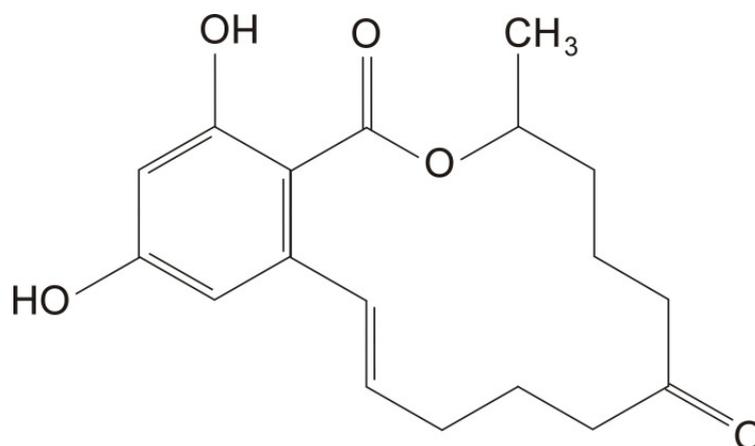
Während dieser Phase kann eine Exposition mit EDs die Entwicklung der Geschlechtsorgane maßgeblich beeinflussen und zu permanenten Veränderungen in den Geweben führen. Folglich kann es zu langwierigen Konsequenzen für Reproduktionsleistung und Gesundheit der Tiere kommen (BARTOL 2002).

#### **2.4.4.1 STRUKTUR UND VORKOMMEN VON ZEARALENON**

Zearalenon (ZEA) ist ein Resorcylsäurelactonderivat mit der Summenformel  $C_{18}H_{22}O_5$  und einem Molekulargewicht von 318 (PATHRE und MIROCHA 1976). Es gilt als relativ hitzestabil, der Schmelzpunkt des Toxins liegt bei 164 - 165 °C (GEDEK 1980). Es ist eine nichtsteroidale, organische Verbindung und gehört zu der

Stoffgruppe der phenolischen Makrolide (KURTZ und MIROCHA 1978) (Abb. 2.4.4.1.1).

Von URRY et al. (1966) wird es als 6-(10-Hydroxy-6-oxo-trans-1-undecenyl)- $\beta$ -Resorcylsäurelacton charakterisiert. ZEA ist eine weiße, kristalline Substanz, die unter UV-Licht blaugrün fluoresziert. Außerdem besitzt es eine starke UV-Absorption, mit Absorptionsmaxima in Methanol bei  $\lambda$  236, 274 und 316 nm (YOSHIZAWA 1983). In Alkoholen und alkalischen Lösungen ist Zearalenon gut löslich, in Wasser unlöslich (URRY et al. 1966, MIROCHA et al. 1977).



**Abb. 2.4.4.1.1:** Strukturformel von Zearalenon

ZEA gehört zu den Mykotoxinen und wurde von STOB et al. (1962) erstmals auf Maispflanzen nachgewiesen und isoliert. Sie gaben ihm den Namen F-2 Toxin. Den Namen Zearalenon erhielt das Toxin von URRY et al. (1966), da es hauptsächlich auf Maispflanzen gebildet wird und sich der Name Zearalenon aus dem lateinischen Wort für Mais (*zea mays*) ableiten lässt (GEDEK 1985). Der Toxinnachweis gelang später auch auf Gerste, Weizen und anderen Ährengetreiden (BECK et al. 1997, OLDENBURG et al. 2000).

Die östrogene Aktivität des Zearalenons wird auf seine Molekülgeometrie, welche der der Östrogene sehr ähnlich ist, und die Hydroxylgruppe am C<sub>2</sub> zurückgeführt (GEDEK 1980, HABERMEHL 1989).

Synthetisiert wird Zearalenon und seine Derivate, wie z.B. Zearalanon (ZAN),  $\alpha$ -Zearalenol ( $\alpha$ -ZOL),  $\beta$ -Zearalenol ( $\beta$ -ZOL),  $\alpha$ -Zearalanol ( $\alpha$ -ZAL) und  $\beta$ -Zearalanol

( $\beta$ -ZAL) von Feldpilzen der Gattung *Fusarium*, hauptsächlich von *Fusarium roseum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* und *Fusarium roseum-graminearum* sowie der perfekten Form *Gibberella zeae* (CHRISTENSEN et al. 1965, GEDEK 1980).

Es gibt über 100 *Fusarium*-Toxine, von denen drei Gruppen, die Trichothecene, die Fumonisine und das Lacton-Derivat Zearalenon, als wichtigste Kontaminanten von Futtermitteln angesehen werden müssen (NELSON et al. 1994).

Auf fast allen Getreidearten in Europa, Afrika, Asien und Nordamerika kann Zearalenon nachgewiesen werden und gehört somit zu den am weitesten verbreiteten Fusarientoxinen. Insbesondere tritt es jedoch in kühlgemäßigten Regionen auf (REIß 1998). Eine ausreichende Feuchtigkeit in Form einer mikrolokal verfügbaren Wassermenge ist für das Wachstum und die Entwicklung der Fusarien unerlässlich (HALAMA 1982). Außentemperatur und Substratfeuchte stehen bezüglich der Zearalenonproduktion in einem direkten Zusammenhang (GEDEK 1985). Es steht somit fest, dass die Frequenz, mit der Fusarien auf Getreide zu finden sind, regional und auch saisonalitätsabhängig ist (NIJS et al. 1996).

In einer Studie von ŠKRINJAR et al. (1995) wird beschrieben, dass insgesamt elf verschiedene *Fusarienspezies* regelmäßig auf Getreide in Jugoslawien angetroffen werden. Von insgesamt 275 untersuchten Futtermitteln wiesen 35 Zearalenon auf. Jedoch wurden in nur elf Proben Zearalenon produzierende Pilze und Zearalenon gleichzeitig nachgewiesen.

Einen Hinweis auf das mögliche Vorkommen von Toxinen kann eine Futtermitteluntersuchung auf sein Pilzwachstum liefern. Dies ist jedoch nicht ausschlaggebend für die Kontamination mit Pilzgiften.

Der Pilznachweis einer Probe korreliert nicht mit dem Mykotoxingehalt. Pflanzen, die makroskopisch nicht mit Pilzen befallen sind, können trotzdem „praxisrelevante“ Mykotoxinkonzentrationen aufweisen (BHATNAGAR et al. 2002).

Fusarien können direkt auf der Pflanze aber auch später bei der Lagerung ihre Toxine bilden. Es hängt weitgehend von verschiedenen Umweltfaktoren, wie Temperatur und Luft- bzw. Substratfeuchte ab, ob und in welcher Menge die Pilzgifte produziert werden (ENARI et al. 1981). Das Auftreten und das Ausmaß eines Fusarienbefalls ist folglich ein multifaktorielles Geschehen (MASTEL u. MICHELS

2000). Eine Übersicht der unterschiedlichen Einflussfaktoren stellte GOLLUB (1987) in ihrer Arbeit zusammen.

Außer ZEA können Fusarien auch andere Mykotoxine synthetisieren. Hauptsächlich handelt es sich dabei um Deoxynivalenol (DON), Moniliformin, Fumonisine, T-2 Toxin und Diacetoxyscirpenol. Die am häufigsten in der Landwirtschaft vorkommenden Toxine stellen jedoch ZEA und DON dar (DÄNICKE et al. 2001).

#### **2.4.4.2 ZEARALENON-REZEPTOR INTERAKTION**

Die Strukturformeln von Zearalenon und seiner Derivate ähneln entfernt der des körpereigenen Östrogens. Sie sind somit in der Lage, an die sonst hormonspezifischen Östrogenrezeptoren kompetitiv zu binden und durch den entstandenen Substrat-Rezeptor-Komplex eine, dem Östrogen entsprechende, biologische (z. B. Zellproliferation) und biochemische (z. B. Proteinsynthese) Wirkung auszulösen (UENO und YAGASAKI 1975, KIANG et al. 1978, KATZENELLENBOGEN et al. 1979, BAUER et al. 1987).

Als Metabolit des Sekundärstoffwechsels von oben erwähnten Pilzen wirkt ZEA auch bei diesen als Sexualhormon, indem es die Perithezienbildung anregt (GEDEK 1980).

Anhand von Studien wird belegt, dass Zearalenon und seine Metaboliten auf Grund ihrer strukturellen Unterschiede eine hohe Varianz in ihrer östrogenen Wirksamkeit aufweisen. Das ist darauf zurückzuführen, dass sie in ihrer Bindungsaffinität zu den Östrogenrezeptoren alpha ( $ER\alpha$ ) und beta ( $ER\beta$ ) stark variieren. Es ist jedoch eine deutlich stärkere Affinität zu  $ER\alpha$  festzustellen (KIANG et al. 1978, KATZENELLENBOGEN et al. 1979, FITZPATRICK et al. 1989). Des Weiteren weist der ZEA-Metabolit  $\alpha$ -Zearalenol eine wesentlich höhere Bindungsaffinität zu den Östrogenrezeptoren des Cytosols auf als  $\beta$ -Zearalenol und ZEA als Muttertoxin (TIEMANN et al. 2003, FITZPATRICK et al. 1989).

Zearalenon und Estradiol  $17\beta$  konkurrieren um die Cytosolrezeptoren der Uteruszellen. Dabei ist die Bindungsaffinität des Mykotoxins zum Rezeptor 10-fach niedriger (KIANG et al. 1978). Von KUIPER-GOODMAN et al. (1987) wurde eine ca. 20-fach geringere Affinität zur Rezeptorbindung von ZEA im Vergleich zu  $17\beta$ -

Estradiol festgestellt. Jedoch scheint Zearalenon eine längere biologische Halbwertszeit aufzuweisen (KIANG et al. 1978, BIEHL et al. 1993).

ZEA hat wahrscheinlich beim Schwein die größte Affinität zu den Östrogen-Rezeptoren (ERIKSEN und ALEXANDER 1998). Nach DROCHNER (1990) ist das Schwein die empfindlichste Tierart für eine Zearalenonintoxikation.

Innerhalb dieser Tierart sind jedoch altersabhängige Unterschiede in Bezug auf die Sensibilität gegenüber Zearalenon festzustellen. Präpubertäre Zuchtschweine reagieren gegenüber dem Mykotoxin sensibler als Zuchsaunen und Mastschweine, die einer vergleichbaren Toxinmenge ausgesetzt sind (DÄNICKE et al. 2000).

Der Spiegel natürlicher Östrogene im Blut als Konkurrenz zum Zearalenon um die Rezeptoren ist neben dem Alter des Tieres, der Konzentration des Toxins im Futter und der Dauer der Aufnahme entscheidend für die zearalenonbedingten Auswirkungen (DROCHNER 1998).

#### **2.4.4.3 METABOLISMUS VON ZEARALENON BEIM SCHWEIN**

Grundsätzlich haben mehrere Studien gezeigt, dass die Metabolisierung von Zearalenon hauptsächlich auf zwei Wegen erfolgt (OLSEN et al. 1981).

Einmal wird ZEA nach der oralen Aufnahme im Gastrointestinaltrakt resorbiert. Daraufhin erfolgt in Darmmukosa und Leber eine Reduktion zu den zum Teil stärker östrogen wirksamen Metaboliten  $\alpha$ - und  $\beta$ -ZOL sowie  $\alpha$ - und  $\beta$ -ZAL. Dies geschieht durch die Enzyme  $3\alpha$ - und  $3\beta$ -Hydroxy-Steroid-Dehydrogenase ( $3\alpha$ -,  $3\beta$ -HSD).

Bei dem zweiten Weg findet in der Leber eine Konjugation an Glucuronsäure oder Sulfate statt (KIESSLING und PETTERSSON 1978, MIROCHA et al. 1981, UENO und KOBAYASHI 1983). Katalysiert wird diese Konjugation durch das Enzym Uridin Diphosphat Glucuronyltransferase (OLSEN et al. 1981). Die Konjugate werden auch als „maskierte Metaboliten“ bezeichnet, da sie in routinemäßig durchgeführten Futtermittelanalysen und/oder Rückstandsuntersuchungen im Tierkörper häufig nicht erfasst werden (GAREIS et al. 1990). Eine zusätzliche Reduktion der ZONs findet bei Wiederkäuern durch Protozoen der Pansenflüssigkeit statt (HUSSEIN und BRASEL 2001).

Die hauptsächlich beim Schwein vorkommenden Metabolite sind an Glucuronsäure konjugiertes Zearalenon und  $\alpha$ -Zearalenol (MIROCHA et al. 1981, FARNWORTH und TRENDHOLM 1983, OLSEN et al. 1985).

MALEKINEJAD et al. (2006) stellten bezüglich der Biotransformation von ZEA in der Leber Speziesunterschiede fest. Beim Schwein wird ZEA hauptsächlich in  $\alpha$ -Zearalenol umgewandelt, beim Rind ist  $\beta$ -Zearalenol der dominante Lebermetabolit, wohingegen beim Schaf ZEA zum größten Teil zu  $\alpha$ -Zearalenol metabolisiert wird.

Beim Schwein besitzt  $\alpha$ -Zearalenol gefolgt von dem ursprünglichen ZEA die höchste Bindungsaffinität zu den Östrogenrezeptoren und somit die größte östrogene Wirksamkeit im Vergleich zu den anderen Metaboliten (CELIUS et al. 1999, SHIER et al. 2001).

Sulfat-Konjugate und  $\beta$ -Zearalenol konnten beim Rind, nicht beim Schwein, nachgewiesen werden (MIROCHA et al. 1981, BIEHL et al. 1993). Jedoch wurde bei in vitro Versuchen auch bei Schweinen eine Reduktion zu  $\beta$ -Zearalenol beobachtet (UENO und KOBAYASHI 1983, OLSEN 1989), allerdings konnten keine konjugierten Metabolite festgestellt werden.

Nach BIEHL et al. (1993) erfolgen Reduktions- und Glucuronidierungsreaktionen bei Schweinen sowohl in der Darmschleimhaut als auch in der Leber. Dabei ist die Reduktaseaktivität der Darmschleimhaut zwar wesentlich geringer als die der Leber, aber aufgrund der großen Darmfläche nicht zu unterschätzen (OLSEN 1989).

KOLLARCZIK et al. (1994) konnten durch Versuche mit Chymus eine Beteiligung der Mikroorganismen des Verdauungstraktes am Zearalenon-Metabolismus bei Schweinen ermitteln. Dabei wurde festgestellt, dass die Umwandlungsvorgänge zu  $\alpha$ -Zearalenol und einem unbekanntem Zearalenonmetaboliten ausschließlich durch Mikroben der hinteren Darmabschnitte, wie Blind-, Dick- und Enddarm vollzogen werden.

Die Metaboliten werden grundsätzlich über Urin und Fäzes aus dem Tierkörper eliminiert. Dabei gelangt der größte Teil des in der Leber glucuronidierten und zu  $\alpha$ -Zearalenol reduzierten Zearalenons mit der Gallenflüssigkeit in den Darm zurück und wird so über die Fäzes abgegeben. Dagegen wird nur ein geringer Teil wieder resorbiert und renal ausgeschieden (SANDOR und VANYI 1990). Diese Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von MIROCHA et al. (1981), wonach weniger als 7 % der aufgenommenen Toxinmenge als  $\alpha$ -Zearalenol und Zearalenon im Harn nachgewiesen werden.

Dagegen stellen FARNWORTH und TRENHOLM (1983) fest, dass Zearalenon hauptsächlich über die Niere eliminiert wird.

BIEHL et al. (1993) können bei Versuchen mit radioaktiv markiertem Zearalenon mehr als 45 % der aufgenommenen Toxinmenge im Gallensaft als vorwiegend glucuronidiertes Zearalenon/ $\alpha$ -Zearalenol nachweisen. Daraufhin kommt es zur Reabsorption im Verdauungstrakt und Zirkulation im Organismus, wobei 85 % der Toxinmenge über die Niere ausgeschieden werden und nur 6,56 % im Kot auftauchen. FRIEND et al. (1990) stellten bei steigender Fütterungsdosis von Zearalenon ein lineares Ansteigen der ZEA- und  $\alpha$ -Zearalenolkonzentrationen in Urin und Gallenflüssigkeit fest.

Bei Rind und Schwein findet ebenfalls eine Elimination über die Milch statt (MIROCHA et al. 1981, FARNWORTH und TRENHOLM 1983, MINERVINI et al. 2001). Beim Schwein werden Zearalenon sowie  $\alpha$ -Zearalenol und  $\beta$ -Zearalenol mit der Sauenmilch ausgeschieden. Die Mykotoxine erscheinen dabei erstmals nach 42 bis 44 Stunden nach der Zearalenonfütterung und sind bis zu fünf Tage nach der letzten Zearalenonaufnahme in der Milch nachweisbar (PALYUSIK et al. 1980).

Im Blut ist das Toxin schon eine Stunde später nach oraler Aufnahme nachzuweisen, da es innerhalb kürzester Zeit resorbiert wird (FARNWORTH und TRENHOLM 1981, BIEHL et al. 1993).

Maximal sieben Stunden nach Aufnahme der letzten Toxinmenge können im Harn  $\alpha$ -Zearalenol und glucuronidiertes Zearalenon nachgewiesen werden, wohingegen im Blut geringe Mengen freien Zearalenons und hohe Konzentrationen konjugierten Zearalenons sowie  $\alpha$ -Zearalenols vorhanden sind (FARNWORTH und TRENHOLM 1981). Dahingegen werden Zearalenon und  $\alpha$ -Zearalenol bis zu sieben Tage nach der letzten Toxinaufnahme im Harn und Kot nachgewiesen, im Serum sind innerhalb der ersten 24 Stunden nach der letzten Toxingabe nur noch sehr geringe Zearalenonkonzentrationen feststellbar (ENDERS 1984).

#### **2.4.4.4 MOLEKULARE EFFEKTE VON ZEARALENON AUF FORTPFLANZUNGSFUNKTIONEN BEIM SCHWEIN**

Das Mykotoxin Zearalenon besitzt eine östrogenartige Struktur. Jedoch lässt es sich nicht, wie Steroide, vom Steran-Grundgerüst ableiten. Aus diesem Grund ist ZEA in der Lage mit den körpereigenen Östrogenen um die Bindungsstellen an den

Östrogenrezeptoren zu konkurrieren (KUIPER-GOODMAN et al. 1987). Insbesondere der Zearalenonmetabolit  $\alpha$ -Zearalenol besitzt eine wesentlich höhere Bindungsaffinität zu den Östrogenrezeptoren und damit eine größere östrogene Wirksamkeit, als ZEA in seiner Ausgangsform (TIEMANN et al. 2003). Verantwortlich für diese höhere Bindungsaffinität des  $\alpha$ -Zearalenol gegenüber den Östrogenrezeptoren ist eine Reduktion der 6-Keto- und Vinyl-Gruppen des Moleküls (KUIPER-GOODMAN et al. 1987).

Die Effekte von ZEA und seinen Metaboliten hängen im Wesentlichen vom Reproduktionsstatus des Tieres ab. Das bedeutet, dass es einen Unterschied macht, ob das Tier präpubertär, schon zyklisch aktiv oder tragend ist (LOPEZ et al. 1988, DIEKMANN und GREEN 1992). Vor allem präpubertäre Jungsauen sind empfindlich gegenüber einer Intoxikation mit dem Pilzgift (KURTZ et al. 1969, SCHNURRBUSCH 1999). LUSKY et al. (1997) stellten bei heranwachsenden Schweinen, deren Futter mit 250  $\mu$ g ZEA pro kg Futter versetzt wurde, histopathologische Anzeichen eines Hyperöstrogenismus fest. BAUER et al. (1987) konnten sogar bei 50  $\mu$ g ZEA pro kg Futter Anzeichen eines Hyperöstrogenismus beobachten. Diese östrogene Wirkung ist an das Vorhandensein von Östrogenrezeptoren gebunden.  $\alpha$ -Östrogenrezeptoren wurden von TARLETON et al. (1998) ab dem 15. Lebenstag bei Ferkeln nachgewiesen. Hingegen konnten NIELSEN et al. (2001) das Auftreten von Östrogenrezeptoren im kompletten Geschlechtstrakt bei neugeborenen Ferkeln bereits am ersten Lebenstag nachweisen.

ZEA und seine Metaboliten sind in der Lage über Beeinflussung der RNS- und Proteinsynthese dysregulierte Östrogeneffekte zu vermitteln (DÄNICKE et al. 2008). ZEA besitzt eine 20-fach geringere Affinität zur Rezeptorbindung als 17- $\beta$ -Östradiol (KUIPER-GOODMAN et al. 1987). Aus diesem Grund kann vermutet werden, dass präpubertäre weibliche Schweine deshalb eine höhere Empfindlichkeit gegenüber ZEA und seinen Metaboliten aufweisen, weil sie im Vergleich zu zyklischen Sauen sehr niedrige Östrogenspiegel im Blut zeigen. Somit müsste das Toxin nicht in hohem Maße mit den endogenen Östrogenen um die Rezeptorbindungsstellen konkurrieren (DÄNICKE et al. 2008).

Mikroskopisch sind bei präpubertären Sauen vor allem Veränderungen am Uterus festzustellen. Diese Veränderungen beinhalten Ödeme und Größenzunahme vom Uterus, verursacht durch eine Kombination aus Hypertrophie und Hyperplasie von Endometrium und Myometrium (DIEKMANN und GREEN 1992). Diese Hypertrophie

des Uterus wird durch Ödeme und zelluläre Proliferation in allen Schichten der Gebärmutter hervorgerufen (KURTZ et al. 1969). WYLLIE und MOREHOUSE (1978) stellten ein durch Zearalenon verursachtes interstitielles Ödem der uterinen Submukosa und eine Hyperplasie der Endometriumdrüsen fest. KURTZ et al. (1980) berichten über Epithelschäden in der Schleimhaut von Eileiter, Uterus, Cervix und Vagina, die durch das Mykotoxin hervorgerufen wurden. Außerdem wurde von ihnen ein stark ausgeprägtes Endometriumsödem, verbunden mit zystischen und degenerierten Uterindrüsen festgestellt.

In einem Versuch, bei dem 70 Tage alten Ferkeln über das Futter Zearalenon und Deoxynivalenol in aufsteigenden Konzentrationen verabreicht wurden, konnte zum Zeitpunkt der Schlachtung ein signifikant erhöhtes Uterusgewicht festgestellt werden, wohingegen histologisch keine Beeinflussung des Uterusepithel, der Uterindrüsen und des Vaginalepithel festgestellt wurde (DÖLL et al. 2004). Hingegen stellte REISCHAUER (2006) durch morphometrische Untersuchung der Uteri von 70 Tage alten Ferkeln, die unterschiedlich stark mit ZEA über das Futter belastet wurden, eine mykotoxinbedingte Zunahme der untersuchten Parameter bei den am stärksten belasteten Gruppen fest. Diese Parameter waren Uterusdurchmesser, Dicke der Lamina muscularis und ihrer strukturellen Anteile.

In der Mukosa des Oviduktes dominieren bei Aufnahme von ZEA Proliferationsvorgänge. Hier wurden hyperplastische und hypertrophe Veränderungen ermittelt (CHANG et al. 1979).

Bei Mäusen bewirkt ZEA einen Anstieg der epithelialen Differenzierung und der Epitheldichte der Uterindrüsen (HILAKIVI-CLARKE et al. 1998). Des Weiteren wird eine verstärkte Infiltration der Mukosa mit Lymphozyten, neutrophilen und am häufigsten mit eosinophilen Granulozyten beschrieben (BAUER et al. 1987, HÖRÜGEL und VERGARA 2003).

#### **2.4.4.5 KLINISCHE EFFEKTE VON ZEARALENON AUF FORTPFLANZUNGSFUNKTIONEN BEIM SCHWEIN**

Das Schwein gilt als die empfindlichste Tierart gegenüber den negativen östrogenen Effekten des Fusariumtoxins Zearalenon und seinem hauptsächlichen Metaboliten  $\alpha$ -Zearalenol (CHANG et al. 1979, PESTKA und SMOLINSKI 2005). Darauf folgen Hund und Nager als weitere monogastrische Tiere (EHLING et al. 1998).

Nach BAUER (1993) ist ZEA aufgrund der Tatsache, dass es direkt an den Reproduktionsorganen seine Wirkungen entfaltet, das die Fruchtbarkeit am stärksten beeinflussende Mykotoxin. ZEA und  $\alpha$ -Zearalenol lösen dieselben Effekte wie natürliche Östrogene aus (DIECKMANN und GREEN 1992). Wobei  $\alpha$ -Zearalenol in seiner Wirksamkeit wesentlich potenter ist als das Toxin in seiner ursprünglichen Form (MINERVINI et al. 2001). Grundsätzlich entsprechen die klinischen Symptome denen, die sich durch Injektion von Östradiol oder Stilbenpräparaten auslösen lassen (PLONAIT 1997).

Als Folge der östrogenen Wirkungen, die durch Interaktion mit den Rezeptoren von ZEA und seinen Metaboliten hervorgerufen werden, kommt es zum klinischen Erscheinungsbild des Hyperöstrogenismus. Dieses Krankheitsbild wird auch als Östrogen- oder Zearalenonsyndrom bezeichnet. Da im Anfang ZEA noch als F2-Toxin benannt wurde, wird das Syndrom gelegentlich auch F2-Toxicosis genannt.

Charakteristisch für dieses Syndrom, welches vor allem beim weiblichen Schwein beschrieben wurde, sind Störungen innerhalb der hormonellen Regelkreise und Veränderungen an den Fortpflanzungsorganen (BAUER und GEDEK 1978, BAUER 1982). Durch ZEA kann das Östrogen-Progesteron-Verhältnis gestört werden, wodurch es zu einer Dysregulation im Ablauf des Sexualzyklus kommt. Die Folgen können verzögerter Pubertätseintritt, langanhaltende Rauschesymptome, Azyklie, Pseudogravidität, schlechte Befruchtungsergebnisse und niedrigere Wurfgrößen sein, da einzelne oder alle Embryonen während der Embryonalentwicklung absterben können (HÖRÜGEL und VERGARA 2003, ETIENNE und JEMMALI 1982, FLOWERS et al. 1987). Werden Sauen während der Gravidität dem Mykotoxin ausgesetzt sind die Folgen eine reduzierte Entwicklung von Uterus, Plazenta und Feten. Außerdem nimmt die Heterogenität innerhalb eines Wurfs zu (ETIENNE und JEMMALI 1982). Des Weiteren werden die intrauterinen toxischen Wirkungen von ZEA für die klinischen Erscheinungen des Hyperöstrogenismus beim Ferkel verantwortlich gemacht (VANYI et al. 1994).

Präpubertäre Sauen reagieren gegenüber Schweinen anderer Altersklassen am empfindlichsten auf Zearalenon. Der Genitaltrakt von Jungsauen zeigt nach einer Exposition mit ZEA schwerwiegende und histologische Veränderungen. Diese Veränderungen beinhalten eine Schwellung der Vulva, Vergrößerung des Uterus, Gewichtszunahme des Uterus und eine Vergrößerung der Gesäugeleiste (STOB et al. 1962, KURTZ et al. 1969, NELSON et al. 1973, YOUNG et al. 1981). Weiterhin

werden Ovaratrophie (MIROCHA et al. 1968) und Follikelatresie (KURTZ et al. 1969) bei päpubertären Sauen beschrieben. In extremen Fällen kann auch ein Rektumprolaps oder Vaginalprolaps auftreten (YOUNG et al. 1981, BLANEY et al. 1984). Außerdem kann das Auftreten von Endometritiden durch Fusarientoxinverabreichung während der Jungsauenaufzucht begünstigt werden (HÖRÜGEL und VERGARA 2003). Ausgewachsene Sauen zeigen ähnliche oder gleiche Symptome wie präpubertäre Tiere. Sie können ebenfalls auf hohe Zearalenonkonzentrationen mit Ovaratrophie, Dauerrausche, Pseudogravidität und morphologischen Veränderungen des Endometriums reagieren (ETIENNE und JEMMALI 1982). Das Auftreten von Hyperöstrogenismussymptomen ist von der Konzentration des aufgenommenen Zearalenons abhängig. Eine hohe Dosierung bewirkt vor allem klinische Erscheinungen, während niedrige Dosen keine klinischen Erscheinungen hervorrufen, hier stehen histologische Veränderungen im Vordergrund (LEITNER et al. 2001, BOYENS 2001). MEYER et al. (2000) konnten hingegen in ihren Versuchen keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von ZEA und seinen Derivaten in der Galle von Sauen und nicht infektiösen Reproduktionsstörungen herstellen.

Bei Ferkeln äußern sich die Erscheinungen des Hyperöstrogenismus in einer Rötung und Schwellung der Vulva (HÖRÜGEL und VERGARA 2003). DÖLL et al. (2003) bestätigen diese Beobachtungen bei bereits abgesetzten Ferkeln. Durch Verfütterung von Mais, der mit ZEA kontaminiert wurde, konnten sie vermehrt geschwollene Vulvae an den Ferkeln feststellen. Außerdem wird das Spreizen der Hinterbeine bei Ferkeln mit einer Zearalenonintoxikation in Verbindung gebracht (MIROCHA und CHRISTENSEN 1974).

Männliche Schweine, die vor dem Erreichen der Pubertät stehen, sind ebenfalls empfindlich gegenüber einer Zearalenonintoxikation. Vergrößerung von Präputium und Gesäugeleiste sowie eine Abnahme der Hodengröße und eine verringerte Libido sind mögliche Effekte des Mykotoxins (RUHR et al. 1983).

Weiterhin werden eine Verschlechterung der Spermaqualität und Verringerung des Spermavolumens beschrieben (OSWEILER 2000, STEIN 2000). STOLLA et al. (1987) beschreiben ein verringertes Volumen der spermienfreien Fraktion des Ejakulates und zusätzlich ein gehäuftes Auftreten von sekundären Spermienanomalien im Bereich der Kopfkappe. Adulte Eber werden gegenüber ZEA als relativ resistent beschrieben (RUHR et al. 1983).

Des Weiteren wirkt sich ZEA negativ auf das Immunsystem bei Schweinen aus. In einer Studie wurden mittels Vollblut von Schweinen, die in vitro Effekte verschiedener Fusarientoxine, wie Fumonisin B<sub>1</sub>,  $\alpha$ -Zearalenol, Nivalenol und Deoxynivalenol, einzeln und in Kombination, auf die Zellproliferation ermittelt. LUONGO et al. (2008) stellten dabei fest, dass  $\alpha$ -Zearalenol, ebenso wie die Kombination von Fumonisin B<sub>1</sub> und  $\alpha$ -Zearalenol, eine Inhibition auf die Zellproliferation der porcinen Immunzellen hervorruft.

### **3 TIERE, MATERIAL UND METHODE**

#### **3.1 ZIELSTELLUNG**

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob eine perinatale Zearalenonexposition die Entwicklung des Genitaltraktes von weiblichen Ferkeln beeinflusst. Dazu wurden Ferkel entweder intrauterin 14 Tage ante partum bis zur Geburt, postnatal über Kolostrum bzw. Milch vom Tag der Geburt bis zum 21. Tag post natum, prä- und postnatal oder zu keinem Zeitpunkt mit Zearalenon exponiert.

Im ersten Versuchsabschnitt wurden die Muttersauen einer hohen Dosis von Zearalenon ausgesetzt. In einem zweiten Versuchsabschnitt, der ein Jahr später stattfand, wurden die Tiere mit einer niedrigeren Dosis von Zearalenon exponiert.

Im Anschluss an diese beiden Versuche fand eine histomorphologische Untersuchung des Genitaltraktes der Ferkel statt. Es wurden Cervix, Uterus und Eileiter histologisch untersucht und einer histometrischen Auswertung unterzogen.

Beide Versuchsabschnitte wurden auf demselben Betrieb unter identischen Bedingungen durchgeführt. Alle an diesem Projekt beteiligten Tiere stammten von diesem Betrieb, so dass Tiere und Versuchsbedingungen vergleichbar waren. Die Untersuchungen waren als genehmigungspflichtige Tierversuche mit der Nummer Reg.-Nr. 29-101/07 genehmigt.

#### **3.2 VERSUCHSZEITRAUM, ANGABEN ZUM VERSUCHSBETRIEB**

Die Versuche wurden in einem Ferkelerzeugerbetrieb in Thüringen mit eigener Jungsauenaufzucht durchgeführt. Dieser Betrieb verfügte über 3.500 Sauenplätze und praktiziert das System des gruppenweisen Abferkelns im Sieben-Tage-Rhythmus.

Der erste Abschnitt des Versuches fand von Anfang Juni bis Ende Juli 2007 statt. Im darauf folgenden Jahr 2008 fand der zweite Versuchsabschnitt von Ende Juni bis Mitte August statt.

### 3.3 VERSUCHSTIERE

In beiden Versuchsabschnitten wurden tragende Jungsaueen, die vom Mitteldeutschen Schweinezuchtverband bezogen wurden, in die Untersuchungen einbezogen. Die Jungsaueen stammten aus einer Wechselkreuzung aus "Deutscher Landrasse" und "Deutschen Large White". Für die erste Belegung wurde die Rasse "Duroc" angepaart.

Alle Tiere waren bei ihrer Besamung 246 Tage ( $\pm 7$  Tage) alt und hatten mindestens einen Zyklus durchlaufen und ein Körpergewicht von 130 kg.

Einzig nicht zuvor mit Zearalenon kontaminierte Tiere oder Tiere, die Mykotoxine in solchen Konzentrationen aufgenommen hatten, die als gesundheitlich unbedenklich zu bewerten sind, wurden als Muttertiere für das Projekt ausgewählt. Um dies gewährleisten zu können wurde etwa einen Monat vor der geplanten Besamung der Urin von anfangs über 30 Jungsaueen auf Mykotoxine, insbesondere Zearalenon, untersucht. Die Urinuntersuchung erfolgte nach einer Standardmethode bei der  $\alpha$ -Zearalenol,  $\beta$ -Zearalenol und Zearalenon mittels LC-MS/MS bestimmt wurden. Dabei steht LC für Flüssigchromatographie und MS/MS für das Detektionsverfahren. Die Untersuchungen wurden im Institute of Bioanalytical Sciences (IBAS) der Anhalt University of Applied Sciences in Bernburg durchgeführt.

Das Futter der Jungsaueen wurde zu Beginn der Einnistung in den Besamungsstall und bei jedem weiteren Futterwechsel mykotoxikologisch untersucht um eine Toxinfreiheit des Futters gewährleisten zu können. Diese Untersuchungen wurden mittels ELISA von der Firma BioCheck (Labor für Veterinärmedizinik und Umwelthygiene GmbH, Leipzig-Holzhausen) durchgeführt. Die Futtermittel sollten frei von Zearalenon (ZEA) sein und außerdem keinen Gehalt an Deoxynivalenol (DON) aufweisen, da Interaktionen mit Zearalenon nicht ausgeschlossen werden können.

Die Termine der Futterprobenentnahme waren:

1. zur Einnistung in den Besamungsstall
2. bei der Umstellung auf Futter für niedertragende Saueen
3. bei Umstellung auf Futter für hochtragende Saueen
4. bei der Umstellung auf Futter für laktierende Saueen

Des Weiteren wurden die Jungsauen einer allgemeinen klinischen Untersuchung unterzogen. Einzig solche Tiere wurden für das Projekt ausgewählt, die die nachfolgenden Kriterien erfüllten

- guter Ernährungszustand (Zuchtkondition)
- ungestörtes Allgemeinbefinden
- keine Anzeichen für eine infektiöse Erkrankung

Aufgrund dieser Kriterien standen im Jahr 2007 fünfzehn Tiere für das Projekt zur Verfügung.

Im darauffolgenden Jahr 2008 konnten achtzehn Tiere für den zweiten Versuchsabschnitt aufgestellt werden.

### **3.4 VERSUCHSDESIGN**

Alle Jungsauen, die in den Versuch einbezogen wurden, gehörten jeweils einer Abferkelgruppe an, wobei deren Östrus synchronisiert wurde.

Dies geschah, indem den Tieren 1000 IE eCG (Pregmagon, IDT Biologika GmbH) zur Pubertätsinduktion verabreicht wurden. Daraufhin erfolgte eine sonographische Untersuchung der Sauen. Wenn dabei ein Gelbkörper festgestellt werden konnte, erhielten die Tiere ein Prostaglandin-Analoga (PGF Veyx, Veyx-Pharma GmbH) um danach mit 1000 IE eCG (Pregmagon, IDT Biologika GmbH) das Follikelwachstum anzuregen. Daraufhin wurde die Ovulation der Jungsauen mit der Gabe von 50 µg D-Phe<sup>6</sup> (Gonavet Veyx Depherelin, Veyx-Pharma GmbH) induziert. Auf diese Weise konnte gewährleistet werden, dass die Geburten in einem engen Zeitraum stattfanden.

Die Konzentration von Zearalenon sollte im ersten Versuchsabschnitt in der Ration 1,50 mg pro kg Futter betragen. Im zweiten Versuchsabschnitt waren es 0,25 mg pro kg Futter. Diese Zearalenonmengen wurden daraufhin für die durchschnittliche Futteraufnahme pro Tier und Tag hochgerechnet. Für Sauen in der späten Gravidität (101. bis 114. Trächtigkeitstag) wurde von 3 kg Futteraufnahme am Tag ausgegangen, da individuell für jedes Tier berechnete ZEA-Mengen, die sich an der Futteraufnahme des Einzeltiers orientieren würden, eine spätere Interpretation schwierig machen würden.

Für Tiere, die sich in der Laktation befanden, wurde sich bezüglich der Futteraufnahme an die Empfehlungen der "Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft" zur Fütterung laktierender Sauen gehalten und aufgrund dieser Daten die entsprechenden ZEA-Mengen errechnet (Tab. 3.4.1 und Tab. 3.4.2).

Die errechneten ZEA-Mengen wurden auf zwei Gaben pro Tag verteilt. Es wurde morgens und abends die Hälfte der jeweiligen Tagesration ZEA an die Jungsauen verabreicht. Zwischen den Applikationen lagen immer zwölf Stunden.

Das Zearalenon wurde von der Sigma-Aldrich GmbH in kristalliner Form bezogen. Da jedoch eine Einmischung des Zearalenons in das Sauenfutter aufgrund einer automatisierten Flüssigfütterung und der Tatsache, dass im Wartestall keine separaten Tröge für die Jungsauen zur Verfügung standen, nicht möglich war, wurde das Zearalenon aus seiner kristallinen Form mittels Lösung in Alkohol in eine flüssige Form überführt. Daraufhin wurde es unter kontrollierten Bedingungen in der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig in das Zentrum eines Muffins injiziert.

Die Verabreichung des Zearalenons per Muffin bot den Vorteil, dass die Tiere den Muffin als Ganzes zu sich nahmen und somit eine erfolgreiche Zearalenonaufnahme kontrolliert werden konnte.

Die tragenden Jungsauen der ZEA-Gruppe erhielten nach einer einwöchigen Adaptationsphase an den Muffin erstmalig am 101. Trächtigkeitstag (TKT) das Zearalenon per Muffin. Zeitgleich erhielten die Tiere der Kontrollgruppen Muffins des gleichen Herstellers, denen jedoch kein Zearalenon zugesetzt wurde. Diese nicht-kontaminierten Muffins wurden ebenfalls zweimal täglich an die Tiere verabreicht. Dieser frühe Zeitpunkt wurde gewählt um sicherzustellen, dass die Ferkel schon intrauterin dem Zearalenon ausgesetzt waren und dass die Milch bzw. das Kolostrum mit Beginn der Laktation Zearalenon enthielt. Die Fütterung der kontaminierten und nicht-kontaminierten Muffins wurde bis zum 21. Tag post natum fortgeführt.

### Erster Versuchsabschnitt

Der erste Versuchsabschnitt wurde im Jahr 2007 durchgeführt. In ihn wurden insgesamt fünfzehn Jungsauen einbezogen. Diese Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Somit erhielten sieben Jungsauen der ersten Gruppe Zearalenon in einer hohen Dosierung (ZEA-H). Die verbleibenden acht Tiere dienten als Kontrollgruppe. Da diese Tiere als Kontrollgruppe für die Jungsauen dienten, die eine hohe

Zearalenonmenge erhielten (ZEA-H), wurde sie dementsprechend als KON-H bezeichnet. Tiere der Kontrollgruppe erhalten kein Zearalenon während des gesamten Versuchszeitraumes.

Während der Trächtigkeit wurde den Jungsauen der ZEA-H-Gruppe 4,50 mg ZEA je Sau und Tag verabreicht. Nach dem Partus wurde die Dosis in Abhängigkeit zur steigenden Futteraufnahme einer laktierenden Sau erhöht und lag zwischen 3,75 bis 11,25 mg ZEA pro Sau und Tag (Tab. 3.4.1).

**Tab. 3.4.1:** Verabreichte ZEA-Mengen im ersten Versuchsabschnitt  
(ZEA H, hohe Dosierung)

<b>Trächtigkeitstag (TKT) Laktationstag (LKT)</b>	<b>Futteraufnahme in kg pro Tier und Tag</b>	<b>ZEA-Gabe in mg pro Tier und Tag</b>
101. bis 114. TKT	3,0 kg	4,50 mg
1. LKT	2,5 kg	3,75 mg
2. LKT	3,0 kg	4,50 mg
3.LKT	3,5 kg	5,25 mg
4.LKT	4,0 kg	6,00 mg
5.LKT	4,5 kg	6,75 mg
6.LKT	5,0 kg	7,50 mg
7.LKT	5,5 kg	8,25 mg
8. und 9. LKT	6,0 kg	9,00 mg
10. bis 12. LKT	6,5 kg	9,75 mg
13. und 14. LKT	7,0 kg	10,50 mg
15. bis 21. LKT	7,5 kg	11,25 mg

### Zweiter Versuchsabschnitt

Im Jahr 2008 folgte der zweite Versuchsabschnitt. Es standen achtzehn Jungsauen zur Verfügung. Die Tiere wurden wieder in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei jeweils neun Tiere für die ZEA-Gruppe und neun Tiere für die Kontrollgruppe zur Verfügung standen.

In diesem zweiten Versuchsabschnitt wurde das Zearalenon in einer niedrigeren Dosierung an die Tiere verabreicht. Aus diesem Grund wird die Jungsauengruppe, die Zearalenon erhielt, als ZEA-N bezeichnet und die neun Tiere der Kontrollgruppe

als KON-N. Während der Gravidität erhielt jede Jungsau der ZEA-N-Gruppe 0,75 mg pro Tag. Nach dem Partus wurden die ZEA-Mengen der Futtermittelaufnahme einer laktierenden Sau angepasst. Hier lag die Dosis zwischen 0,625 und 1,875 mg ZEA pro Sau und Tag (Tab. 3.4.2).

**Tab. 3.4.2:** Verabreichte ZEA-Mengen im zweiten Versuchsabschnitt  
(ZEA-N, niedrige Dosierung)

<b>Trächtigkeitstag (TKT) Laktationstag (LKT)</b>	<b>Futtermittelaufnahme in kg</b>	<b>ZEA-Gabe in mg pro Tier und Tag</b>
101. bis 114. TKT	3,0 kg	0.750 mg
1. LKT	2,5 kg	0,625 mg
2. LKT	3,0 kg	0,750 mg
3.LKT	3,5 kg	0,875 mg
4.LKT	4,0 kg	1,000 mg
5.LKT	4,5 kg	1,125 mg
6.LKT	5,0 kg	1,250 mg
7.LKT	5,5 kg	1,375 mg
8. und 9. LKT	6,0 kg	1,500 mg
10. bis 12. LKT	6,5 kg	1,625 mg
13. und 14. LKT	7,0 kg	1,750 mg
15. bis 21. LKT	7,5 kg	1,875 mg

Da die durchschnittliche Wurfgröße einer Jungsau in Europa zehn lebend geborene Ferkel beträgt und unterstellt wurde, dass bei gleichem Geschlechtsverhältnis fünf Ferkel des Wurfs männlich und fünf Ferkel weiblich sind, wurde folgendes Schema zum Austausch der weiblichen Ferkel entwickelt:

Weibliche Ferkel wurden direkt nach der Geburt zwischen Zearalenon-exponierten (ZEA-H bzw. ZEA-N) und Kontrolltieren (KON-H bzw. KON-N) ausgetauscht. Durch diesen Austausch der Ferkel wurden Versuchsgruppen generiert, die zu unterschiedlichen perinatalen Zeitpunkten Zearalenon ausgesetzt waren bzw. völlig frei von Zearalenon aufgezogen wurden. Damit in jeder Gruppe eine ausreichende Anzahl Ferkel vorhanden war, wurden mindestens zwei weibliche Ferkel pro Wurf ausgetauscht. Insgesamt sollten 48 weibliche Ferkel pro Versuchsabschnitt zur

Verfügung stehen. Diese 48 Tiere setzen sich aus jeweils 12 Tieren der vier nachfolgend aufgezählten Gruppen zusammen.

Nachfolgende Versuchsgruppen wurden auf diese Weise generiert (Tab. 3.4.3):

1. Ferkel, die sowohl prä- als auch postnatal Zearalenon ausgesetzt waren.  
Ferkel, die von ZEA-Sauen stammten und nicht umgesetzt wurden.  
(Gruppe 1)
2. Ferkel, die nur postnatal, d. h. über Kolostrum bzw. Milch Zearalenon ausgesetzt waren.  
Diese Ferkel wurden direkt post natum von einer KON-Sau an eine ZEA-Sau umgesetzt (Gruppe 2).
3. Ferkel, die nur pränatal, d.h. intrauterin Zearalenon erhielten.  
Dafür wurden Ferkel von ZEA-Sauen sofort nach der Geburt zu den jeweiligen KON-Sauen umgesetzt (Gruppe 3).
4. Ferkel die zu keinem Zeitpunkt des Versuchs mit Zearalenon exponiert wurden. Die Ferkel, die von Kontrollsaugen stammten und ihre Mutter nicht wechselten. (Gruppe 4)

**Tab. 3.4.3:** Kennzeichnung der Ferkelgruppen mit unterschiedlicher ZEA-Belastung

Gruppe	ZEA während der Trächtigkeit	ZEA während der Laktation	Gruppenbezeichnung nach ZEA-Applikation
1	+	+	während der Trächtigkeit, während der Laktation
2	-	+	nicht während der Trächtigkeit, während der Laktation
3	+	-	während der Trächtigkeit, nicht während der Laktation
4	-	-	nicht während der Trächtigkeit, nicht während der Laktation

Der Wurfaustausch erfolgte unmittelbar nach der Geburt bevor die erste Kolostrumaufnahme stattfinden konnte. Um das gewährleisten zu können wurden die Geburten in der Abferkelwoche durchgehend überwacht.

Direkt nach der Geburt wurden die Ferkel von Nachgeburtsanteilen befreit, gewogen und mit einer Ohrmarke, die das Geschlecht kennzeichnete, versehen. Daraufhin wurden die Neonaten durch eine Ferkelbox, in die sie verbracht wurden und die neben dem Muttertier aufgestellt wurde, vom Gesäuge der Mutter ferngehalten. Erst

wenn parallel zu dieser Jungsau innerhalb eines Zeitraumes von fünf Stunden ein Tier aus der jeweiligen anderen Gruppe mit der Abferkelung begonnen hatte, konnte der Wurfaustausch vollzogen werden. Den Ferkeln wurden daraufhin entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit farbige Ohrmarken eingezogen.

### **3.4.1 HALTUNG DER SAUEN UND FERKEL**

Die Jungsaunen wurden kurz vor der Besamung in den Besamungsstall verbracht. Dort waren die Tiere in Kastenständen mit Teilspaltenboden aufgestellt. Tiere derselben Abferkelgruppe wurden in benachbarten Buchten untergebracht.

Um den Besamungszeitpunkt wurde wiederholt ein Eber zur Stimulation und Brunstkontrolle vor den Jungsaunen entlang geführt. Nach der Besamung der Tiere wurden die Sauen in einen Wartestall verbracht, wo sie bis eine Woche vor dem errechneten Geburtstermin aufgestellt waren. Im Wartestall standen die Tiere wie auch im Besamungsstall in Kastenständen mit teilperforiertem Boden.

Die Umstallung der hochtragenden Tiere in den Stall für abferkelnde und laktierende Jungsaunen erfolgte am 108. Trächtigkeitstag. Hier wurden die Tiere in Einzelbuchten untergebracht, in denen die Jungsaunen in Kastenständen aufgestellt sind, um so deren eigene Ferkel vor dem Erdrücken zu bewahren. Der Boden in diesen Abferkelbuchten ist ein gummiummantelter Vollspaltenboden, bei dem die Spaltenbreite wesentlich schmaler als im Besamungsstall und Wartestall ist. Für die Ferkel stehen innerhalb der Einzelbuchten beheizbare Ferkelnester mit planbefestigtem Boden und bei Bedarf Wärmelampen zur Verfügung.

### **3.4.2 FÜTTERUNG UND TRÄNKUNG DER SAUEN**

Das Futter, welches die Jungsaunen im Besamungsstall erhielten, war ein selbst hergestelltes Alleinfuttermittel, welches außerdem an niedertragende und an hochtragende Sauen verfüttert wird. Es wurde den Tieren in Form einer automatisierten Nassfütterung verabreicht, welche zweimal täglich in einen Gruppentrog geleitet wurde. Folgende Komponenten wurden zur Erstellung des Futters verwendet: Gerste, Treber, Weizen, Schlempe, Hefe und EM. Bei EM handelt es sich um effektive Mikroorganismen. Nach dem 35. Trächtigkeitstag wurden die

Jungsauen in den Wartestall umgestallt, wobei deren Rationszusammensetzung die Gleiche, wie im Besamungsstall war.

Ein Futterwechsel erfolgte am 108. Trächtigkeitstag, hier wurden die Tiere in den Abferkelstall verbracht und das Futter den Bedürfnissen einer sich kurz vor dem Partus befindenden Jungsau angepasst. Im Abferkelstall stand den Jungsauen für ihre Rationen jeweils ein Einzeltrög zur Verfügung. Als Rationsbestandteile wurden Weizen, Gerste, Treber, Hefe, Soja, Schlempe, Mineralfutter, Mirakel, Fischmehl und EM verwendet. Mirakel ist ein Ergänzungsfuttermittel mit Anteilen aus Sojabohnen und Weizen (WiMa Mirakel Spezialfutter GmbH, Obersulm). Diese Ration erhielten die Tiere in der ersten Woche im Abferkelstall als Nassfütterung. Ab der zweiten Woche und somit auch nach deren Abferkelung wurde auf Trockenfütterung umgestellt, bei der die Ration aus Gerste, Weizen, Hamburger Leistungsfutter, Molcolac (MILEI GmbH, Leutkirch), Mineralfutter und Mirakel bestand. Das eingesetzte Mineralfuttermittel enthielt Calcium, Phosphor, Natrium, Lysin, Methionin und Magnesium (Basu-Mineralfutter GmbH, Bad Sulza).

Die Tiere erhielten bis zwei Tage nach der Abferkelung die halbe Ration (2,5 kg pro Tag), verteilt auf zwei Mahlzeiten am Tag. In der Zeit darauf wurde durch individuelle Handfütterung die Ration in ihrer Menge den Bedürfnissen des Einzeltieres angepasst, wobei sich an den Empfehlungen der "Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft" orientiert wurde.

So wurde die Rationsmenge im Durchschnitt um 5 - 10 % von Tag zu Tag gesteigert. Im Besamungsstall und im Wartestall wurde der Flüssigkeitsbedarf der Tiere über die Nassfütterung abgedeckt. Im Abferkelstall stand den Tieren Wasser ad libitum zur Verfügung, welches sie über Zapfentränken beziehen konnten.

### **3.4.3 FÜTTERUNG UND TRÄNKUNG DER FERKEL**

Die Ferkel erhielten ab dem zweiten Lebenstag zusätzlich zum Kolostrum bzw. der Milch ihrer Mutter den Milchaustauscher Bi-Lactal premium (H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg). Beim Auftreten einer Durchfallproblematik erhielten die Neonaten basu-kraft Diättränke (BASU Mineralfutter GmbH, Bad Sulza).

Zudem standen den Tieren während der gesamten drei Wochen im Abferkelstall eigene Zapfentränken zur Verfügung. Mit dem Erreichen der zweiten Lebenswoche

erhielten die Ferkel ihr eigenes Festfutter, welches aus Soja, Weizen, Gerste, Panto Pre Mehl (Hamburger Leistungsfutter GmbH, Hamburg) und Molcolac (MILEI GmbH, Leutkirch) bestand. Dies wurde ihnen bis zum 21. Lebenstag zusätzlich zur Sauenmilch angeboten.

#### **3.4.4 IMPFREGIME**

Die Sauen wurden gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* (M+Pac, Essex Tierarznei, München) und Porcine reproductive and respiratory syndrome (Ingelvac PRRS MLV, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, München) geimpft. Eine Impfung gegen Rhinitis atrophicans (Respiporc ART + EP, IDT Biologika GmbH, Dressau-Roßlau) erhielten die Tiere in der 7. und 10. Woche, die dann alle vier Monate wiederholt wurde.

Im Alter von vier Monaten wurde die Impfung gegen Porcine reproductive and respiratory syndrome aufgefrischt (Porcilis PRRS, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim). Eine Impfung gegen Parvovirus und Rotlauf erfolgte im Alter von sechs und sieben Monaten mit Porcilis Ery + Parvo (Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim).

#### **3.5 MATERIALGEWINNUNG**

Insgesamt wurden 48 weibliche Ferkel in jeden der beiden Versuchsabschnitte einbezogen. Diese 48 Tiere kamen dadurch zustande, dass von jeder der vier oben erwähnten Gruppen jeweils 12 Ferkel eingebracht wurden.

Die Ferkel wurden am 21. Tag post natum in der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen in Leipzig (LUA) euthanasiert. Hierfür wurde das Präparat Release<sup>®</sup> ad us.vet. (WdT eG, Garbsen) verwendet. Es handelt sich hierbei um ein Pentobarbital, welches durch intravenöse oder intraperitoneale Injektion zu einer Lähmung des Atemzentrums führt und damit zum Tod durch Erstickung.

Daraufhin wurde unverzüglich mit der isolierenden Präparation des Genitaltraktes begonnen. Die Genitalorgane der 48 Ferkel (Vulva, Vagina, Cervix, Uterus, Ovarien, Eileiter) wurden entnommen, auf Eis gelagert und gekühlt seziiert. Dafür wurden die

Organe vom umliegenden Gewebe befreit, an den Übergängen von Eileiter zu Uterus, Uterus zu Cervix und Cervix zu Vagina getrennt, so dass Eileiter, Uterus und Cervix als separate Gebilde vorlagen. Die Ovarien wurden entfernt und die Funktionskörper dokumentiert. Alle Strukturen wurden gewogen und das jeweilige Gewicht notiert.

### **3.6 FIXIERUNG UND EINBETTUNG DES PROBENMATERIALS**

Die separierten Genitaltrakte der weiblichen Ferkel wurden für mindestens 24 Stunden bei Raumtemperatur in 4% igem (w/v) Paraformaldehyd fixiert.

Vor der Paraffineinbettung (tissuewax, Medite Histotechnik Gesellschaft für Medizinprodukte GmbH, Burgdorf) war zur Entfernung des Formalins eine vierstündige Reinigung der Proben in Leitungswasser nötig, welches alle 30 Minuten gewechselt wurde. Zuvor wurden die Proben bereits in die gewünschten Kompartimente, Uterus und Eileiter separiert.

Daraufhin folgte eine Entwässerung und Einbettung der Gewebeschnitte in Paraffin mittels eines Einbettautomaten (Paraffin Einbettsystem, Medite Histotechnik Gesellschaft für Medizinprodukte GmbH, Burgdorf) der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.

Das Protokoll zur Entwässerung und Einbettung der Schnitte findet sich in der Tabelle 9.1.1 im Anhang.

### **3.7 HERSTELLUNG DER GEWEBESCHNITTE**

Nach der Entwässerung erfolgte die Einbettung der Gewebeschnitte in Paraffin. Danach mussten die Proben für mindestens zwölf Stunden bei 4°C im Kühlschrank aushärten. Kurz bevor die Paraffinpräparate dem Schneidevorgang zugeführt wurden, mussten sie auf einer, bei 7°C eigestellten Kühlplatte, noch weiter gehärtet werden, um die Bearbeitung zu erleichtern.

Anschließend wurden bei Raumtemperatur mittels eines Mikrotoms (Jung SM 2000R, Leica Instruments GmbH, Nussloch) 3 - 4 µm dicke Scheiben von den

Blöcken geschnitten. Als Messer fanden Einmalklingen (Disposable Mikrotome Blades Model 819 50 PCS, Leica Instruments GmbH, Nussloch) Verwendung.

Um die Dicke und Unversehrtheit der Schnitte beurteilen zu können, wurden die Schnitte zuerst in eine Schale mit destilliertem Wasser bei Raumtemperatur verbracht. Daraufhin wurden die Schnitte, die weitere Verwendung fanden, zur Streckung in ein 45 °C temperiertes zweites Wasserbad (Typ 1052, Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel) überführt.

Vor dem Auftragen der Gewebe auf die Objektträger (Objektträger 76 x 26 mm, VEB Glaswerk, Gräfenroda) wurde jeweils ein Tropfen Chromalaun-Gelatine auf jeden entfetteten und trockenen Objektträger verrieben, so dass eine gleichmäßige und dünne Beschichtung entstand. Dieser Vorgang erhöht die Haftung der histologischen Schnitte auf dem Glas. Bevor die histologischen Präparate gefärbt wurden mussten sie mindestens 24 Stunden zuvor in einen 45°C warmen Heizschrank (Typ 11, VEB Laborgeräte, Berlin) verbracht werden um dort erwärmt zu werden.

### **3.8 FÄRBUNG DER GEWEBESCHNITTE**

Für die histologische Untersuchung der Gewebeschnitte fanden zwei verschiedene Färbungen Anwendung.

Als erstes wurde eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung angefertigt, die zur Übersichtsdarstellung dienen sollte (BÖCK 1989). Des Weiteren wurde zur selektiven Bindegewebsdarstellung die Masson-Goldner Trichromfärbung angewandt. Nachfolgend sind die Protokolle aufgeführt, die den verwendeten Färbungen zugrunde liegen.

**Hämatoxylin-Eosin-Färbung**

Rotihistol:	Zweimal 15 Minuten
Absteigende Alkoholreihe:	Ethanol absolut, Ethanol 96 %, Ethanol 80 %, Ethanol 70 %, Ethanol 60 %, Ethanol 50 % jeweils 5 Minuten
Aqua destillata:	5 Minuten
Hämatoxylin:	1,5 Minuten
Leitungswasser:	15 Minuten wässern
Eosin 1 %:	4 Minuten
Aqua destillata:	3 x tauchen
Ethanol 70 %:	1 x tauchen
Ethanol 80 %:	2 Minuten
Ethanol 96 %:	30 Sekunden
Rotihistol:	Zweimal 10 Minuten

**Masson-Goldner Trichromfärbung**

1. Schnitte entparaffinieren
2. Hämatoxylin nach Weigert 8 Minuten
3. Leitungswasser, fließend 5 Minuten
4. Spülen in Essigsäure 1% 30 Sekunden
5. Bläuen 5 Minuten
6. Säurefuchsin-Ponceau 10 Minuten
7. Leitungswasser, fließend 30 Sekunden
8. Spülen in Essigsäure 1% 30 Sekunden
9. Phosphormolybdänsäure-Orange G 5-15 Minuten
10. Spülen in Essigsäure 1% 30 Sekunden
11. Gegenfärben mit Lichtgrün 3 Minuten
12. Spülen in Essigsäure 1% 30 Sekunden
13. Entwässern und eindecken

### **3.9 LICHTMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN**

#### **3.9.1 AUSWERTUNG DER GEWEBESCHNITTE**

Zuerst wurden die histologischen Präparate hinsichtlich ihrer Färbung und Darstellung der typischen Gewebestruktur, ihrer Intaktheit sowie der Schnittführung kontrolliert. Aufgrund dieser Kriterien gelangten nur solche Schnitte in die Auswertung, die eine ausreichend gute Qualität aufwiesen.

In jedem der beiden Versuchsabschnitte wurden Uterus, Cervix und Eileiter von 48 Ferkeln ausgewertet. Folglich wurden insgesamt 96 Tiere in die histologische Auswertung einbezogen. Von diesen Tieren wurden jeweils zwei Präparate von Cervix, Uterus und Eileiter pro Ferkel und Organ lichtmikroskopisch untersucht und die nachfolgend aufgeführten Parameter erfasst.

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Präparate wurde mit einem Leica DM R Lichtmikroskop (Leica Microsystems, 35578 Wetzlar, Deutschland) durchgeführt. Dabei fanden 4er, 10er, 20er und 40er Objektive Verwendung.

Bei diesen mikroskopischen Untersuchungen wurde die Gruppenzugehörigkeit zunächst nicht berücksichtigt. Zuerst wurden die histologischen Befunde dokumentiert und im Anschluss erfolgte die Zuordnung der einzelnen Ferkel zu einer der vier Versuchsgruppen. Danach wurden die histologischen Befunde der Cervices, Uteri und Eileiter vergleichend betrachtet. Dabei wurde die Zugehörigkeit der Tiere zur jeweiligen Gruppe mit berücksichtigt. Im Anschluss fand eine Auswertung der Befunde mit Hilfe biostatistischer Untersuchungsverfahren statt.

#### **3.9.2 ERHOBENE PARAMETER**

##### **3.9.2.1 UTERUS**

Für jedes Ferkel wurden zwei Uterusschnitte ausgewertet und für den jeweiligen Parameter der Mittelwert für jedes Tier errechnet.

Folgende Parameter wurden erhoben:

##### Epithel

- Höhe: Die Messung erfolgte an acht verschiedenen Stellen des Uterus. Jeweils Zwei Stellen lagen sich gegenüber.

### Lamina propria mucosae

- Dicke: Die Messung erfolgte von der Basalmembran des Epithels bis zum Beginn des Myometriums an acht verschiedenen Stellen. Diese Stellen lagen in Verlängerung zu den oben erwähnten Messpunkten des Epithels.
- Verhältnis der Bindegewebszellen zu den Bindegewebsfasern. Dafür wurde ein Kreis mit einem Radius von 60 µm an vier Stellen in das Stroma hineingelegt und die sich darin befindenden Fibrozyten und Fibroblasten ausgezählt und notiert.

### Uterindrüsen

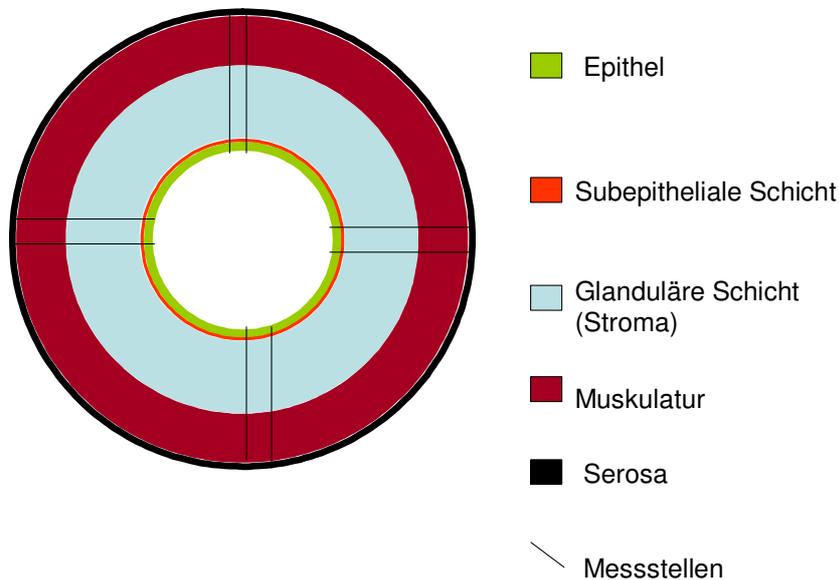
- Anzahl: Die Anschnitte der Uterindrüsen wurden pro Präparat ausgezählt.
- Drüsenepithel: Hier wurde an vier verschiedenen Drüsenanschnitten die Höhe des Drüsenepithels an jeweils zwei unterschiedliche Stellen ermittelt, die sich gegenüber lagen.

### Myometrium

- Dicke: Die Messung erfolgte von der Grenze zwischen Lamina propria mucosae und Myometrium bis zum Beginn der Serosa. Es wurde wieder an acht Stellen gemessen, die in Verlängerung zu den Stellen der vorherigen Dickenmessungen lagen.

### Serosa

- Dicke: Die Messung erfolgte vom Ende des Myometriums bis zum Ende der Serosa. Hier wurden nur sechs Stellen gemessen, da zwei Messstellen auf den Adnexen lagen.



**Abb. 3.9.2.1.1:** Uterus mit Messstellen schematisch

### 3.9.2.2 EILEITER

Folgende Parameter wurden erhoben:

#### Epithel

- Höhe: die Messung erfolgte an vier verschiedenen Stellen des Eileiterepithels. Jeweils zwei Messstellen lagen sich gegenüber.
- Strecke zwischen Epithel und Serosa: ausgehend von der Basalmembran des Eileiterepithels bis zum Beginn der Serosa wurde die Strecke zwischen beiden Schichten an vier verschiedenen Stellen ermittelt.

#### Zotten

- Anzahl: alle Primärzotten wurden für jedes histologische Präparat ausgezählt.
- Sekundärzotten: an vier verschiedenen Primärzotten wurde die Anzahl der Sekundärzotten ermittelt.

### 3.9.2.3 CERVIX

Folgende Parameter wurden erhoben:

#### Epithel

- Höhe: die Messung erfolgte an acht verschiedenen Stellen des Cervixepithels. Die Messstellen lagen sich gegenüber.

### 3.10 BIOSTATISTISCHE AUSWERTUNG

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Unterstützung eines Statistikers der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik der Universität Leipzig und unter Zuhilfenahme des Statistical Package for the Social Sciences SPSS 14.0 (SPSS Software GmbH München. Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test sowie dem Shapiro-Wilk-Test. Für alle normalverteilten Parameter wurde der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung ( $\pm s$ ) für die deskriptive Statistik berechnet. Die Signifikanzprüfung zwischen den Gruppen erfolgte bei Normalverteilung mit der einfaktoriellen univariaten Varianzanalyse und dem Scheffé-Test.

Die Vergleiche zwischen den Gruppen beider Experimente bezüglich der erhobenen Parameter erfolgten bei Normalverteilung mit dem t-Test für gepaarte Stichproben. Für die Korrelationsberechnungen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Als statistisch signifikant galt dabei ein P-Wert von  $<0,05$ . Mit Hilfe von Säulengrafiken und Box-Plots erfolgte die grafische Darstellung. Box-Plots sind Plots der Verteilung einer abhängigen Variablen für jede im Design spezifizierte Gruppe. Dabei werden die unteren und oberen Quartile durch die unteren und oberen Grenzen der "Boxen" dargestellt. Eine Box enthält die mittleren 50% der Werte einer Gruppe, da die Länge der Box dem Interquartilbereich entspricht. Die Lage des Medians wird durch die Linie in der Box veranschaulicht. Je stärker die Beobachtungswerte streuen, desto länger ist die Box. Die von den Boxen auslaufenden Linien (whiskers) reichen jeweils bis zum letzten Wert, der weniger als einen Interquartilbereich außerhalb der Box liegt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 CERVIX

#### 4.1.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG

Die Cervix aller Ferkel weist drei Wochen post natum nicht den typischen Schichtenaufbau der Cervix adulter Tiere auf. Eine Differenzierung der Gewebestruktur ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht lichtmikroskopisch zu erkennen. Bei allen Tieren der vier Versuchsgruppen sind Bindegewebe- und Muskelschicht nicht voneinander unterscheidbar (Abb. 4.1.1.1). Die Schleimhaut ist in Falten gelegt. Diese stellen sich in Form von Primär- und Sekundärfalten dar. Das Epithel ist einschichtig hochprismatisch (Abb. 4.1.1.2). Das unter dem Epithel gelegene Gewebe setzt sich aus Bindegewebs- und Muskelzellen zusammen, welche sich dicht gepackt zwischen den kollagenen Bindegewebsfasern befinden. Insgesamt stellt sich diese Schicht der Ferkelcervix als sehr zellreich und dicht gelagert dar. In diesem Bereich sind keinerlei Drüsen zu finden.



**Abb. 4.1.1.1:** Cervixquerschnitt eines drei Wochen alten Ferkels aus der zweiten Versuchsgruppe (postnatal mit Zearalenon belastet). Das Lumen, angrenzendes Stroma und die Serosa sind zu erkennen. (Balkenlänge = 500  $\mu\text{m}$ ; H.E. - Färbung)



**Abb. 4.1.1.2:** Einschichtiges Cervixepithel eines drei Wochen alten Ferkels aus der ersten Versuchsgruppe (prä- und postnatal mit Zearalenon belastet). Von der linken Bildhälfte erstreckt sich das Lumen der Cervix bis in die Bildmitte. Darauf folgen das Epithel und das Stroma. (Balkenlänge = 100  $\mu\text{m}$ ; H.E.-Färbung)

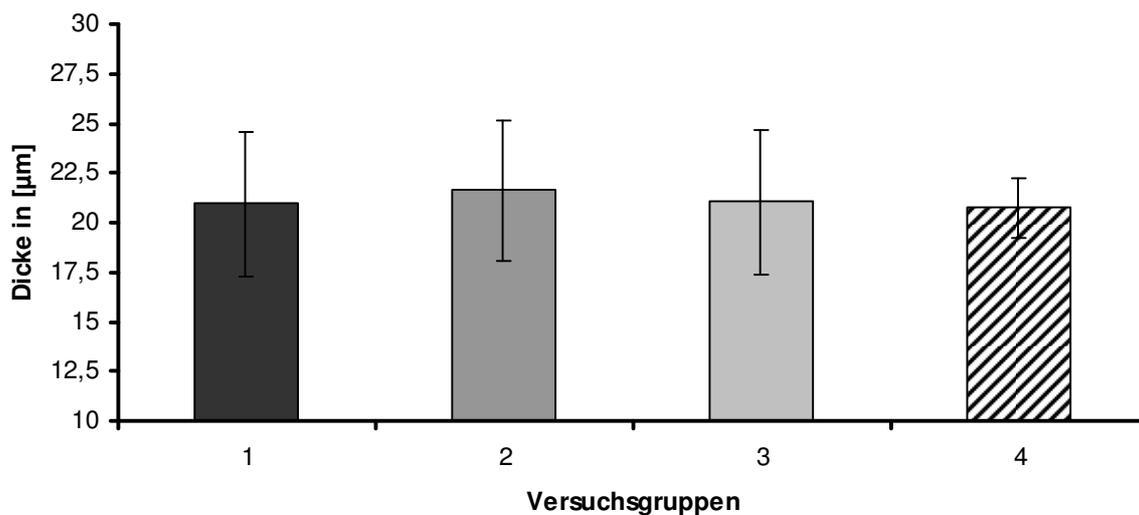
#### 4.1.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN CERVICES DER VIER VERSUCHSGRUPPEN

Die Ergebnisse der Untersuchungen des ersten und zweiten Versuchsabschnittes sind in Tabelle 4.1.2.1 und 4.1.2.2 zusammengefasst. Statistisch signifikante Unterschiede konnten nicht gefunden werden (Abb. 4.1.2.1 und Abb. 4.1.2.2).

**Tab. 4.1.2.1:** Cervixepitheldicke der Versuchsgruppen 1 (n = 13), 2 (n = 11), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des ersten Versuchsabschnittes. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung (SD).

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
Epitheldicke ( $\mu\text{m}$ )	$\bar{x}_a$	20,94	21,62	21,02	20,74
	SD	$\pm 3,65$	$\pm 3,54$	$\pm 3,66$	$\pm 1,48$

ZEA = Zearalenon,  $\mu\text{m}$  = Mikrometer, n = Anzahl Tiere pro Gruppe



**Abb. 4.1.2.1:** Cervixepitheldicke in  $\mu\text{m}$  der Ferkel des ersten

Versuchsabschnittes der vier Versuchsgruppen. Gruppe 1 =

Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren,

Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 =

Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu

keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren. Dargestellt sind der

arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung. Die

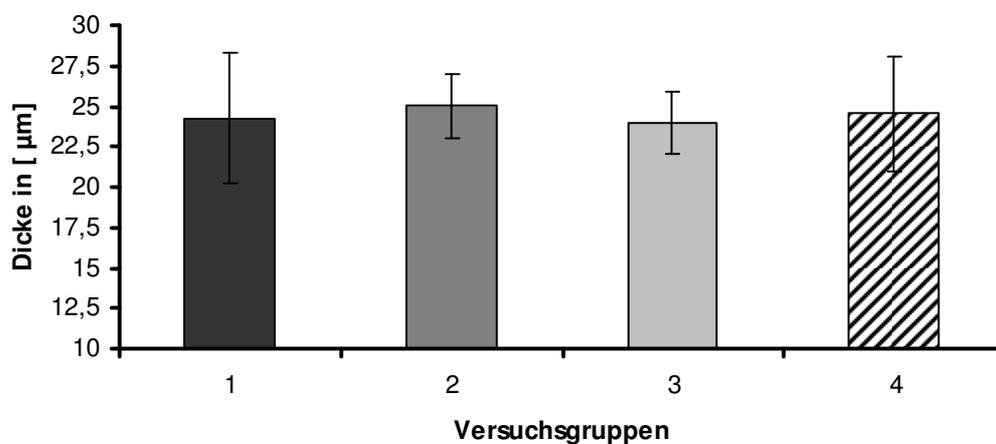
Unterschiede in der Epitheldicke zwischen den Gruppen sind nicht

signifikant ( $p > 0,05$ ).

**Tab. 4.1.2.2:** Cervixepitheldicke der Versuchsgruppen 1 (n = 12), 2 (n = 12), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des zweiten Versuchsabschnittes. Angegeben sind der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung (SD). ZEA = Zearalenon

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
Epitheldicke (µm)	$\bar{x}_a$	24,27	25,03	23,96	24,54
	SD	± 4,00	± 1,97	± 2,96	± 3,58

ZEA = Zearalenon, µm = Mikrometer, n = Anzahl Tiere pro Gruppe



**Abb. 4.1.2.2:** Dicke des Cervixepithels in µm drei Wochen alter Ferkel des zweiten Versuchsabschnittes der vier Versuchsgruppen. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren. Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung. Der Vergleich der vier Versuchsgruppen ergab keine statistisch signifikante Differenz ( $p > 0,05$ ).

## **4.2 UTERUS**

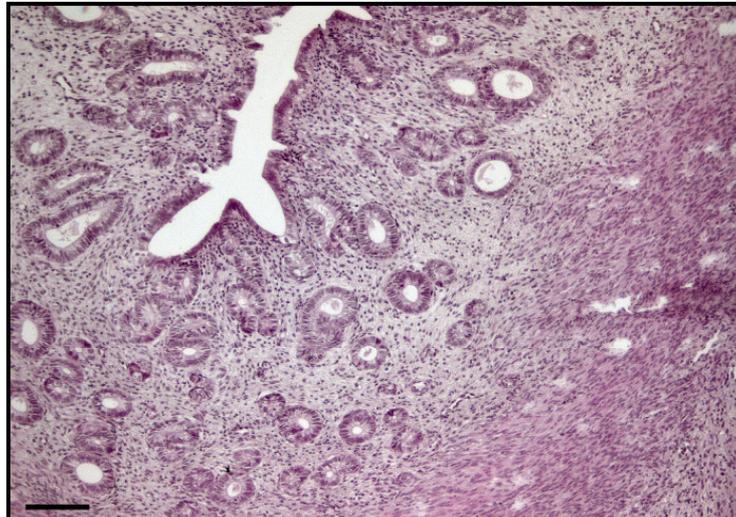
### **4.2.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG**

Die Uterusquerschnitte der drei Wochen alten Ferkel weisen eine rundovale Form auf (Abb. 4.2.1.1). Bei allen Tieren stellt sich das Lumen der Gebärmutter als schmaler Spalt dar. Das luminale Epithel ist geringgradig bis mittelgradig gefältelt. Es ist als ein- bis zweireihig mit iso- bis hochprismatischen Zellen zu beschreiben. Die Zellen weisen deutliche Grenzen auf und die Zellkerne liegen meist basal.

Im Bereich der Basalmembran sind vereinzelt Lymphozyten zu finden. Die darunter liegende Lamina propria mucosae besteht aus spinozellulärem Bindegewebe (Abb. 4.2.1.2). Fibrozyten und Fibroblasten liegen dicht gepackt in der Interzellulärsubstanz. Somit stellt sich die Lamina propria mucosae als sehr zellreich und faserarm dar. Insbesondere im Bereich direkt unter der Basalmembran sind die Bindegewebszellen sehr dicht gelagert. In Richtung des Myometriums nimmt diese Zelldichte ab und Bindegewebsfasern treten in den Vordergrund. Des Weiteren wird der gesamte Bereich der Lamina propria mucosae von tubulär verzweigten Uterindrüsen durchzogen (Abb. 4.2.1.2 und Abb. 4.2.1.3). Die Anschnitte der uterinen Drüsen sind von runder bis länglicher Gestalt und vermehrt lumennah zu finden, wobei einige Uterindrüsen bis an das Myometrium heranreichen. Teilweise sind senkrecht zur Schleimhautoberfläche verlaufende Ausführungsgänge, die in das Gebärmutterlumen münden, zu finden. Die Uterusmuskulatur besteht aus glatten Muskelfaserbündeln. Eine innere Ringmuskel- und äußere Längsmuskelschicht lässt sich nicht differenzieren. Dem Myometrium liegt die Serosa an. Sie umgibt den Uterus von außen und stellt sich bei allen Ferkeluteri bezüglich ihrer Dicke als sehr gleichmäßig dar.



**Abb. 4.2.1.1:** Uterusquerschnitt eines drei Wochen alten Ferkels aus der dritten Versuchsgruppe (pränatal mit Zearalenon belastet). Zu erkennen ist das Uteruslumen, worauf nach außen Epithel, Lamina propria mucosae mit Uterindrüsen, Myometrium und Serosa folgen. (Balkenlänge = 500  $\mu\text{m}$ ; H.E.-Färbung)



**Abb. 4.2.1.2:** Uterus eines drei Wochen alten Ferkels aus der zweiten Versuchsgruppe (postnatal mit Zearalenon belastet). In der oberen linken Bildhälfte ist das, vom Epithel begrenzte, Lumen dargestellt. Es wird von zahlreichen, in der Lamina propria mucosae gelegenen, Drüsenanschnitten umgeben. Am rechten Bildrand sind das Myometrium und Anfänge der Serosa zu erkennen. (Balkenlänge = 100  $\mu\text{m}$ ; H.E.-Färbung)



**Abb. 4.2.1.3:** In der Lamina propria mucosae des Uterus gelegene Uterindrüsen bei einem drei Wochen alten Ferkel der ersten Versuchsgruppe (prä- und postnatal mit Zearalenon belastet). Die Drüsenanschnitte lassen zum Teil ein Lumen erkennen, welches vom einschichtigen, hochprismatischen Drüsenepithel mit basal gelegenen Kernen umgeben ist. (Balkenlänge = 50 µm; H.E.-Färbung)

#### **4.2.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN UTERI DER VIER VERSUCHSGRUPPEN**

Die Ergebnisse des ersten Versuchsabschnittes sind in Tabelle 4.2.2.1.1 und in den Abbildungen 4.2.2.1.1, 4.2.2.1.2 und 4.2.2.1.3 dargestellt. Die Ergebnisse des zweiten Versuchsabschnittes werden in Tabelle 4.2.2.2.1 und in den Abbildungen 4.2.2.2.1, 4.2.2.2.2 und 4.2.2.2.3 veranschaulicht.

#### **4.2.2.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON-KONZENTRATION)**

Die Dicke des Epithels weist keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf ( $p > 0,05$ ). Die Vermessung der Lamina propria mucosae ergab, dass es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Dicke zwischen den vier Versuchsgruppen gibt ( $p > 0,05$ ).

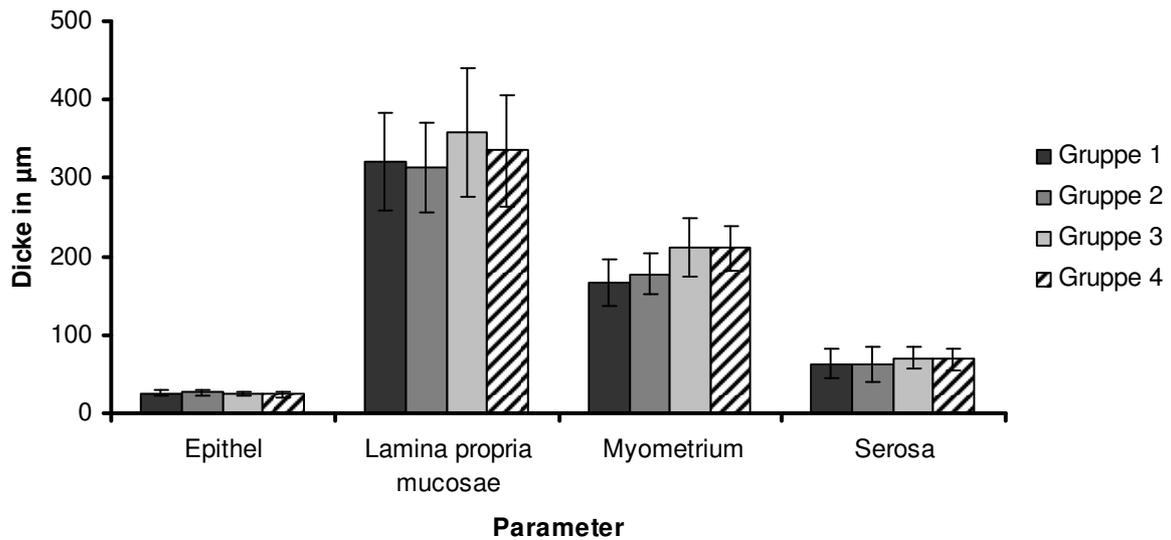
Die Dicke des Myometriums beträgt bei der ersten Versuchsgruppe im Mittel 165,55  $\mu\text{m}$ . Die zweite Gruppe liegt mit einem Mittelwert von 177,55  $\mu\text{m}$  sehr nah an diesem Ergebnis. Hingegen ist der Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 3 mit 211,21  $\mu\text{m}$  signifikant ( $p = 0,007$ ). Die Differenz zwischen den Mittelwerten der komplett mit ZEA belasteten Gruppe und der Kontrollgruppe mit 210,23  $\mu\text{m}$  ist ebenfalls signifikant ( $p = 0,008$ ). Die Vermessung der Serosa ergab, dass zwischen den Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich ihrer Dicke vorliegen ( $p > 0,05$ ).

Mit 55,67 Bindegewebszellen liegt die Gruppe 1 dicht an den Mittelwerten der anderen drei Gruppen, da Gruppe 2 bei der Auszählung im Mittel 54,06, die Gruppe 3 55,79 und die Kontrollgruppe 58,33 Bindegewebszellen erreicht. Somit sind bei diesem Parameter keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen ( $p > 0,05$ ). Das gleiche gilt für die Anzahl der Uterindrüsen und die Dicke des Drüsenepithels ( $p > 0,05$ ).

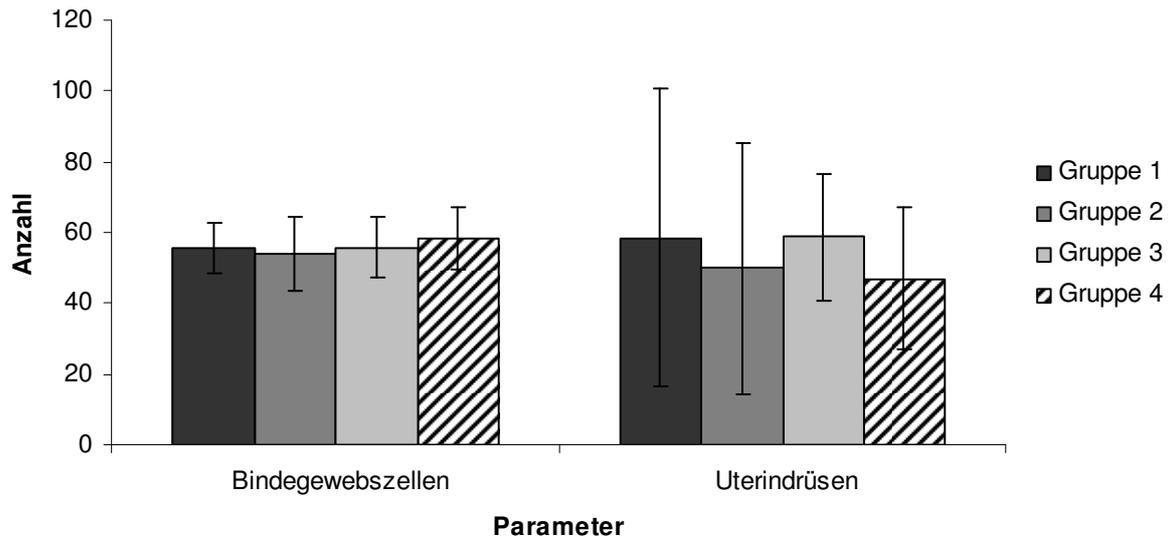
**Tab. 4.2.2.1.1:** Histologische Parameter am Uterus der Versuchsgruppen 1 (n = 13), 2 (n = 11), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des ersten Versuchsabschnittes (hohe ZEA-Dosierung). Zu jedem Parameter ist für die jeweilige Versuchsgruppe der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung (SD) angegeben.

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
<b>Dicke Epithel (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	25,56	26,98	24,25	24,01
	SD	$\pm 3,68$	$\pm 3,71$	$\pm 2,29$	$\pm 3,65$
<b>Dicke L. prop. muc. (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	321,28	314,37	357,70	334,91
	SD	$\pm 61,62$	$\pm 57,27$	$\pm 82,17$	$\pm 70,88$
<b>Dicke Myometrium (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	165,55	177,55	211,21	210,23
	SD	$\pm 29,87$	$\pm 26,93$	$\pm 36,34$	$\pm 28,11$
<b>Dicke Serosa (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	63,39	62,39	70,35	68,57
	SD	$\pm 19,35$	$\pm 21,59$	$\pm 14,12$	$\pm 12,97$
<b>Anzahl BDGWZ</b>	$\bar{x}_a$	55,67	54,06	55,79	58,33
	SD	$\pm 7,19$	$\pm 10,39$	$\pm 8,55$	$\pm 8,63$
<b>Anzahl Uterindrüsen</b>	$\bar{x}_a$	58,61	49,86	58,79	47,04
	SD	$\pm 42,16$	$\pm 35,29$	$\pm 17,97$	$\pm 20,14$
<b>Dicke Drüsenepithel (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	17,76	18,85	18,30	19,42
	SD	$\pm 2,17$	$\pm 2,42$	$\pm 1,88$	$\pm 1,97$

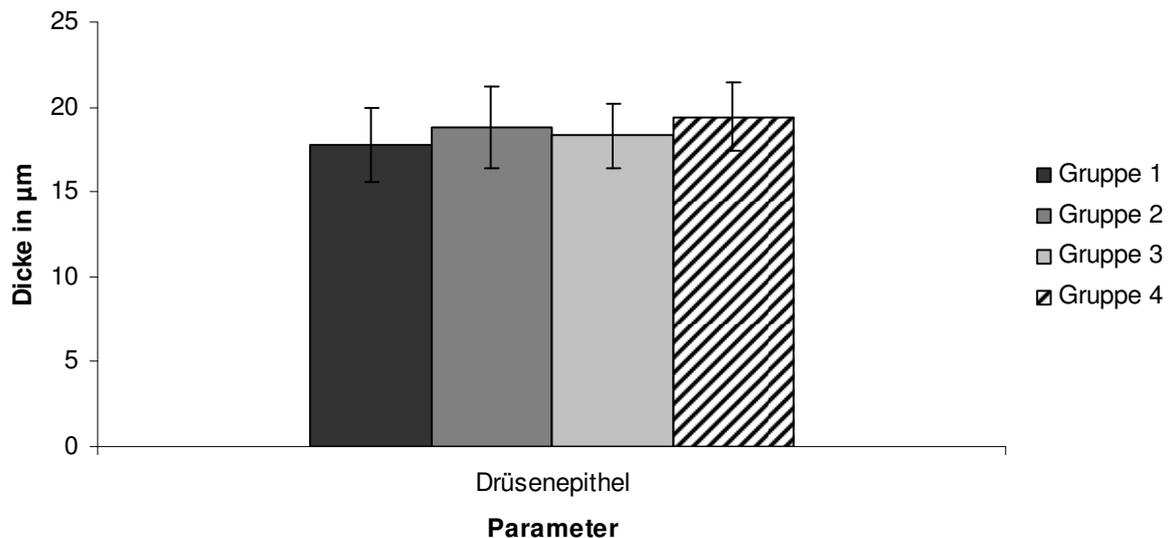
ZEA = Zearalenon,  $\mu\text{m}$  = Mikrometer, L. prop. muc. = Lamina propria mucosae, BDGWZ = Bindegewebszellen, n = Anzahl Tiere pro Gruppe



**Abb. 4.2.2.1.1:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Dicke der verschiedenen Kompartimente des Uterus. Einbezogen sind die Ferkel ( $n = 48$ ) aus dem ersten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



**Abb. 4.2.2.1.2:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Anzahl der Bindegewebszellen und der Uterindrüsen. Einbezogen sind die Ferkel ( $n = 48$ ) aus dem ersten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



**Abb. 4.2.2.1.3:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Dicke des Drüsenepithels. Einbezogen sind die Ferkel ( $n = 48$ ) aus dem ersten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.

#### 4.2.2.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON-KONZENTRATION)

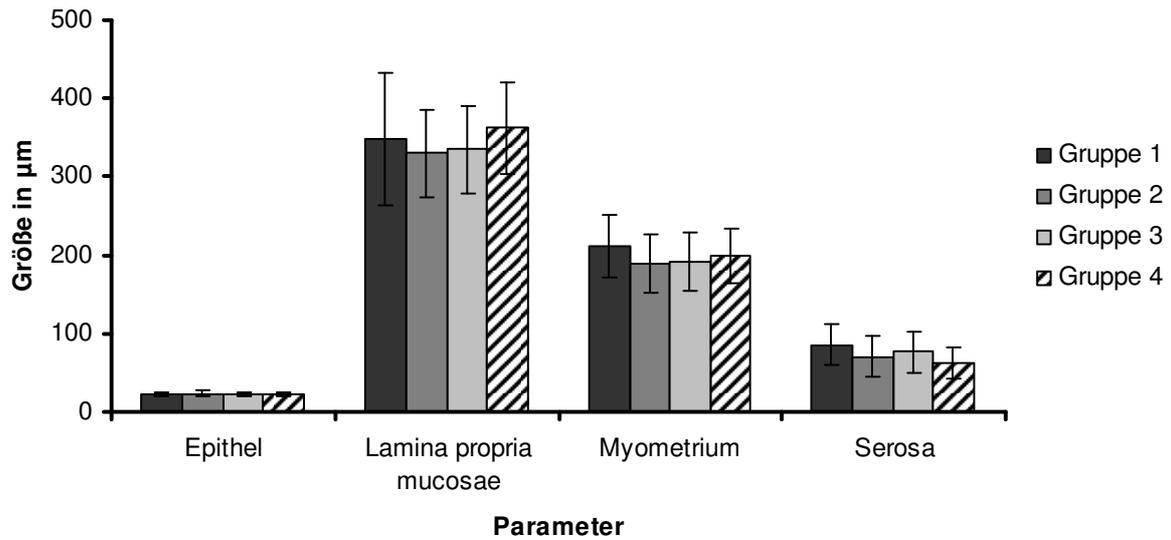
Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen konnten für die Dicke des Uterusepithels, des Stromas, des Myometriums und der Serosa nicht gefunden werden ( $p > 0,05$ ). Die Auszählung der Bindegewebszellen ergibt ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ( $p > 0,05$ ). Das gleiche gilt für die Anzahl der Uterindrüsen ( $p > 0,05$ ).

Die Vermessung des Drüsenepithels ergab, dass die Epitheldicke der dritten Versuchsgruppe deutlich über dem Wert der Kontrollgruppe liegt. Dieser Unterschied ist als statistisch signifikant zu bewerten ( $p = 0,025$ ).

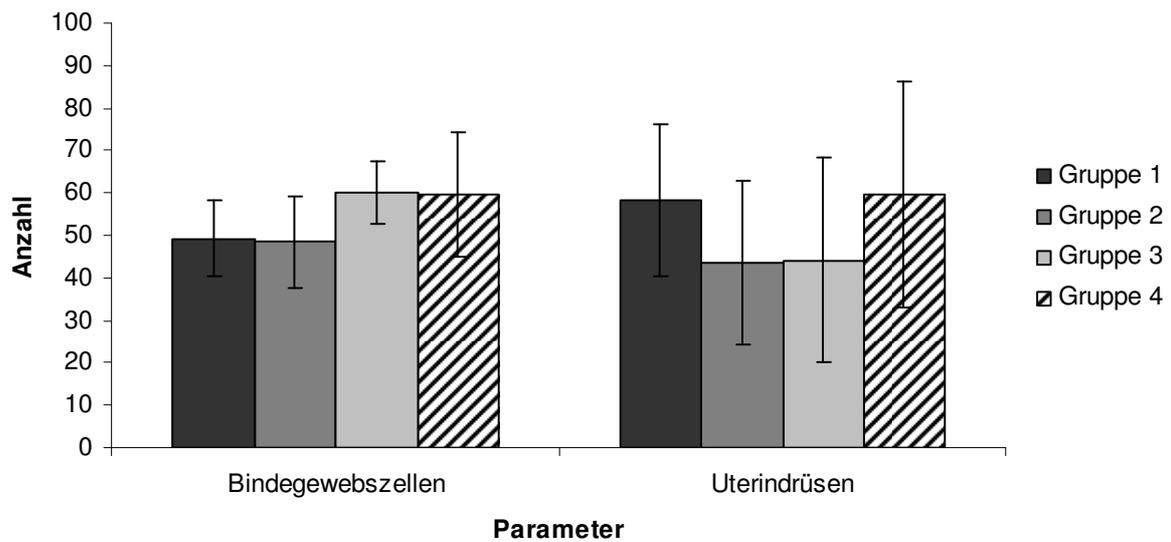
**Tab. 4.2.2.2.1:** Gemessene Parameter am Uterus der Versuchsgruppen 1 (n = 12), 2 (n = 12), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des zweiten Versuchsabschnittes (niedrige ZEA-Dosierung). Zu jedem Parameter sind für die jeweilige Versuchsgruppe der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung (SD) angegeben.

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
<b>Dicke Epithel (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	22,04	23,14	22,19	23,16
	SD	$\pm 2,40$	$\pm 3,22$	$\pm 3,66$	$\pm 2,91$
<b>Dicke L. prop. muc. (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	348,33	329,81	335,01	362,61
	SD	$\pm 85,72$	$\pm 55,60$	$\pm 83,07$	$\pm 58,94$
<b>Dicke Myometrium (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	211,39	188,49	190,45	198,69
	SD	$\pm 39,12$	$\pm 37,41$	$\pm 31,50$	$\pm 34,72$
<b>Dicke Serosa (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	85,77	69,93	76,13	61,99
	SD	$\pm 25,04$	$\pm 26,38$	$\pm 23,66$	$\pm 19,04$
<b>Anzahl BDGWZ</b>	$\bar{x}_a$	49,29	48,41	60,08	59,62
	SD	$\pm 8,95$	$\pm 10,99$	$\pm 7,20$	$\pm 14,8$
<b>Anzahl Uterindrüsen</b>	$\bar{x}_a$	58,16	43,50	44,25	59,58
	SD	$\pm 17,78$	$\pm 19,27$	$\pm 24,08$	$\pm 26,65$
<b>Dicke Drüsenepithel (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	$\bar{x}_a$	20,21	21,17	21,62	18,72
	SD	$\pm 1,94$	$\pm 2,76$	$\pm 2,12$	$\pm 1,87$

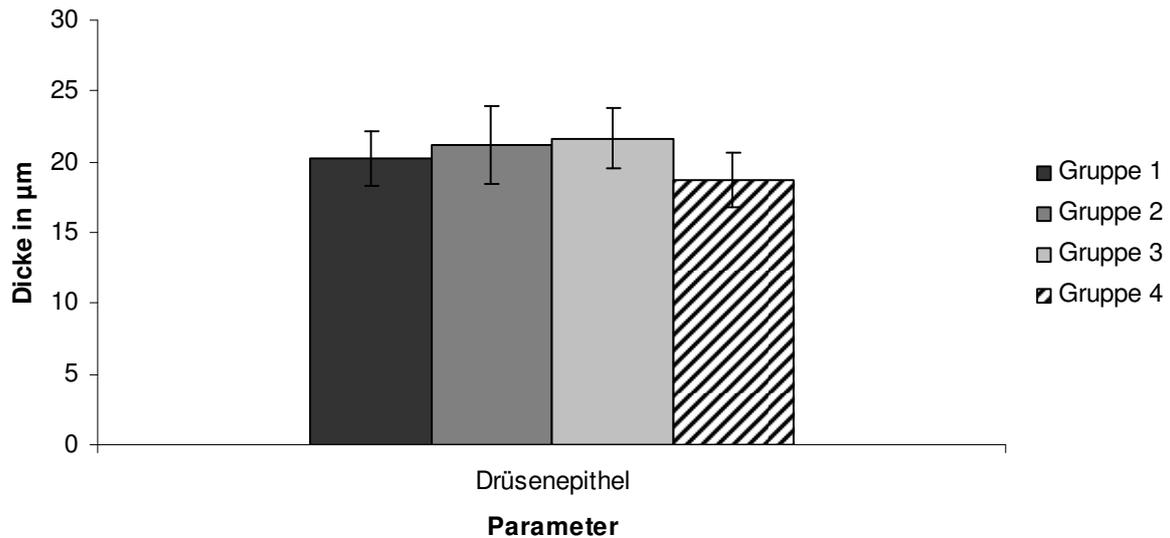
ZEA = Zearalenon, L. prop. muc. = Lamina propria mucosae, BDGWZ = Bindegewebszellen, n = Anzahl Tiere pro Gruppe



**Abb. 4.2.2.2.1:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Dicke der verschiedenen Kompartimente des Uterus. Einbezogen sind die Ferkel (n = 48) aus dem zweiten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



**Abb. 4.2.2.2.2:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Anzahl der Bindegewebszellen und der Uterindrüsen. Einbezogen sind die Ferkel ( $n = 48$ ) aus dem zweiten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



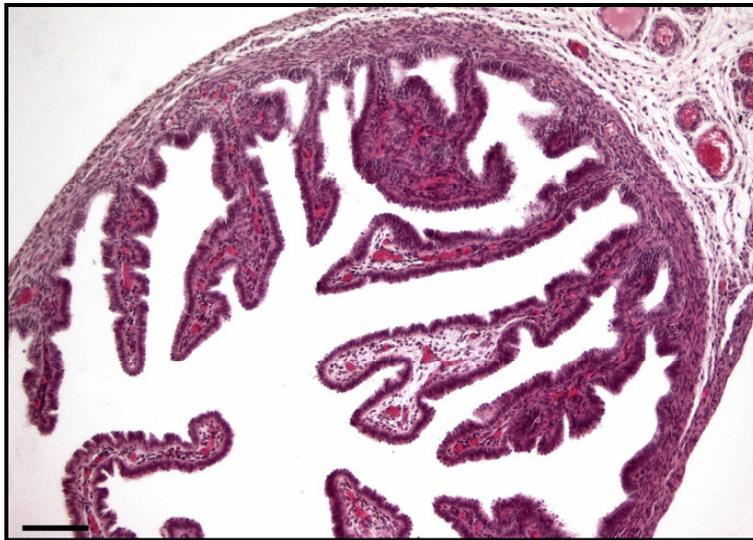
**Abb. 4.2.2.2.3:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Dicke des Drüsenepithels. Einbezogen sind die Ferkel (n = 48) aus dem ersten Versuchsabschnitt. Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.

## 4.3 EILEITER

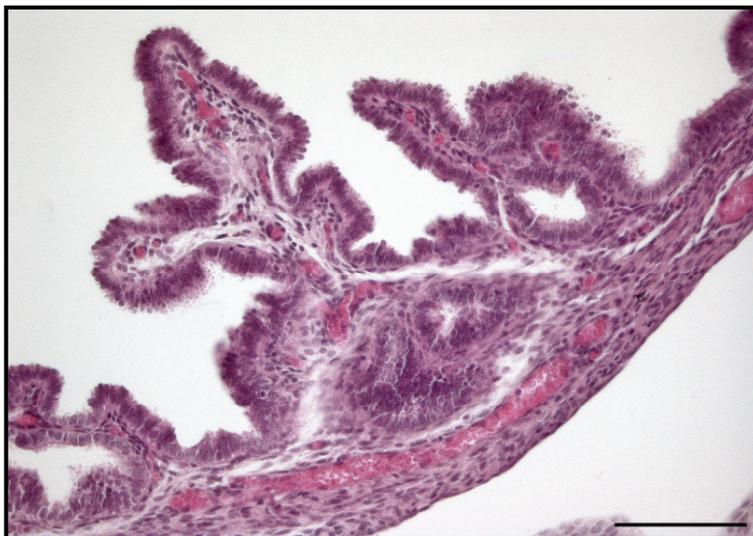
### 4.3.1 ALLGEMEINE HISTOLOGISCHE BESCHREIBUNG

Der Eileiter der drei Wochen alten weiblichen Ferkel hat in allen vier Versuchsgruppen ein ähnliches Erscheinungsbild. Meist stellt er sich als rundliches bis längsoval gebildetes Gebilde dar. Das Eileiterepithel bildet Primärzotten aus, die in das Lumen des Eileiters ragen und dort in unterschiedlichem Maße Sekundärzotten ausbilden. Das Epithel des Eileiters ist einschichtig mit zumeist hochprismatischen Zellen. Unter der Basallamina folgt die Lamina propria mucosae, die aus einem zellreichen faserigen Bindegewebe besteht. Die Lamina propria mucosae geht ohne eine erkennbare Grenze direkt in die Tunica muscularis über. Teilweise sind glatte Muskelzellen zu erkennen, die jedoch nur selten eine sehr dünne Tunica muscularis formen. Eine deutliche Schichtung ist in diesem Bereich bei den meisten

Versuchstieren nicht zu erkennen. Außen liegt dem Eileiter die Serosa auf. Sie stellt sich bei allen Ferkeln als gleichmäßige den Eileiter überziehende Schicht dar.



**Abb. 4.3.1.1:** Eileiter eines drei Wochen alten Ferkels aus der ersten Gruppe (prä- und postnatal mit Zearalenon belastet). Zu sehen ist das Lumen des Eileiters, in welches Primär- und Sekundärzotten hineinragen. (Balkenlänge = 100  $\mu$ m; H.E.-Färbung)



**Abb. 4.3.1.2 :** Eileiter eines drei Wochen alten Ferkels aus der ersten Gruppe (prä- und postnatal mit Zearalenon belastet). In der Primärzotte im Zentrum des Bildes ist deutlich das Stroma zu erkennen. (Balkenlänge = 100  $\mu$ m; H.E.-Färbung)

#### **4.3.2 HISTOLOGISCHE UNTERSCHIEDE ZWISCHEN DEN EILEITERN DER EINZELNEN VERSUCHSGRUPPEN**

Die Ergebnisse des ersten Versuchsabschnittes werden in Tabelle 4.3.2.1.1 und in den Abbildungen 4.3.2.1.1 und 4.3.2.1.2 veranschaulicht. Die Ergebnisse des zweiten Versuchsabschnittes sind in Tabelle 4.3.2.2.1 und in den Abbildungen 4.3.2.2.1 und 4.3.2.2.2 dargestellt.

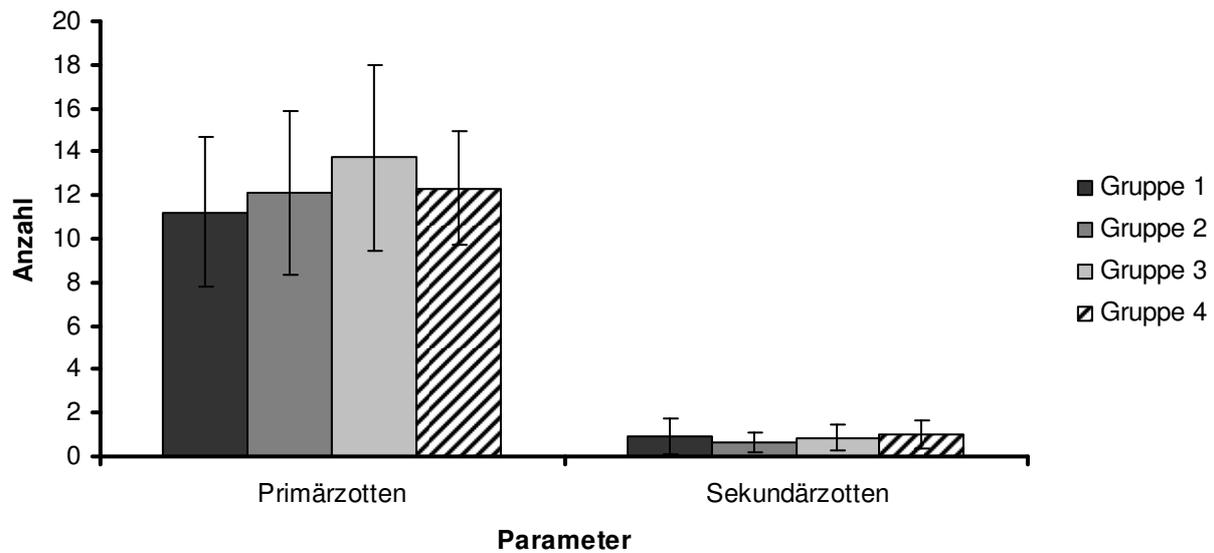
##### **4.3.2.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON-KONZENTRATION)**

Die Anzahl der Primär- und Sekundärzotten unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht ( $p > 0,05$ ). Das gleiche gilt für die Epithelhöhe des Eileiters und der Strecke zwischen Basallamina des Eileiterepithels und dem Beginn der Serosa ( $p > 0,05$ ).

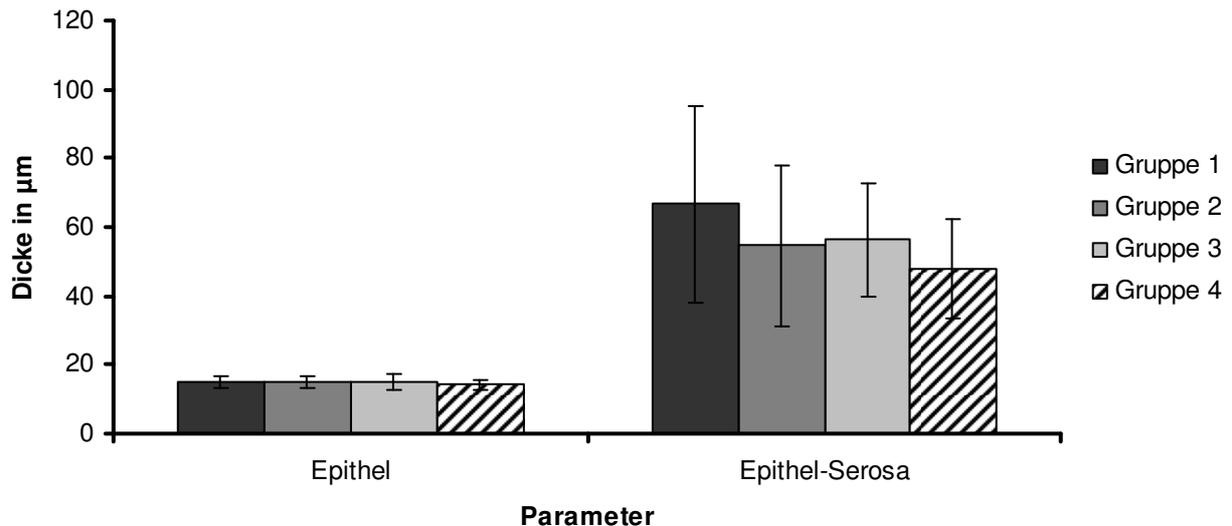
**Tab. 4.3.2.1.1:** Gemessene Parameter am Eileiter der Versuchsgruppen 1 (n = 13), 2 (n = 11), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des ersten Versuchsabschnittes (hohe ZEA-Dosierung). Zu jedem Parameter ist für die jeweilige Versuchsgruppe der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) angegeben

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
<b>Anzahl Primärzotten</b>	$\bar{x}_a$	11,23	12,09	13,75	12,33
	SD	± 3,44	± 3,78	± 4,26	± 2,60
<b>Anzahl Sek. Z. / 4 Pr. Z.</b>	$\bar{x}_a$	0,90	0,68	0,87	1,02
	SD	± 0,81	± 0,46	± 0,61	± 0,64
<b>Epitheldicke (µm)</b>	$\bar{x}_a$	14,95	15,04	14,91	14,19
	SD	± 1,93	± 1,82	± 2,32	± 1,64
<b>Dicke zw. Epithel u. Serosa (µm)</b>	$\bar{x}_a$	66,82	54,65	56,46	47,70
	SD	± 28,53	± 23,22	± 16,51	± 14,40

ZEA = Zearalenon, L. prop. muc. = Lamina propria mucosae, BDGWZ = Bindegewebszellen, n = Anzahl Tiere pro Gruppe, Sek. Z. = Sekundärzotten, Pr. Z. = Primärzotten, zw. = zwischen, u. = und



**Abb. 4.3.2.1.1:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Anzahl der Primär- und Sekundärzotten des Eileiters der Ferkel ( $n = 48$ ) des ersten Versuchsabschnittes (hohe ZEA-Konzentration). Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



**Abb. 4.3.2.1.2:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung der Dicken verschiedener Kompartimente des Eileiters der Ferkel (n = 48) des ersten Versuchsabschnittes (hohe ZEA-Konzentration). Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.

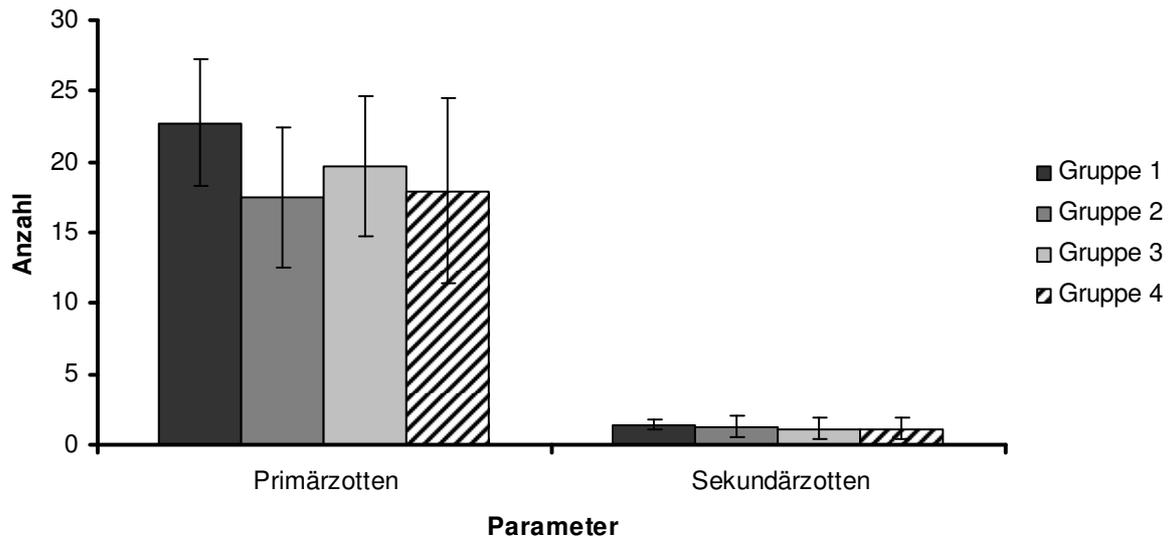
#### 4.3.2.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON-KONZENTRATION)

Für alle erhobenen Parameter dieses Versuchsabschnittes konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden.

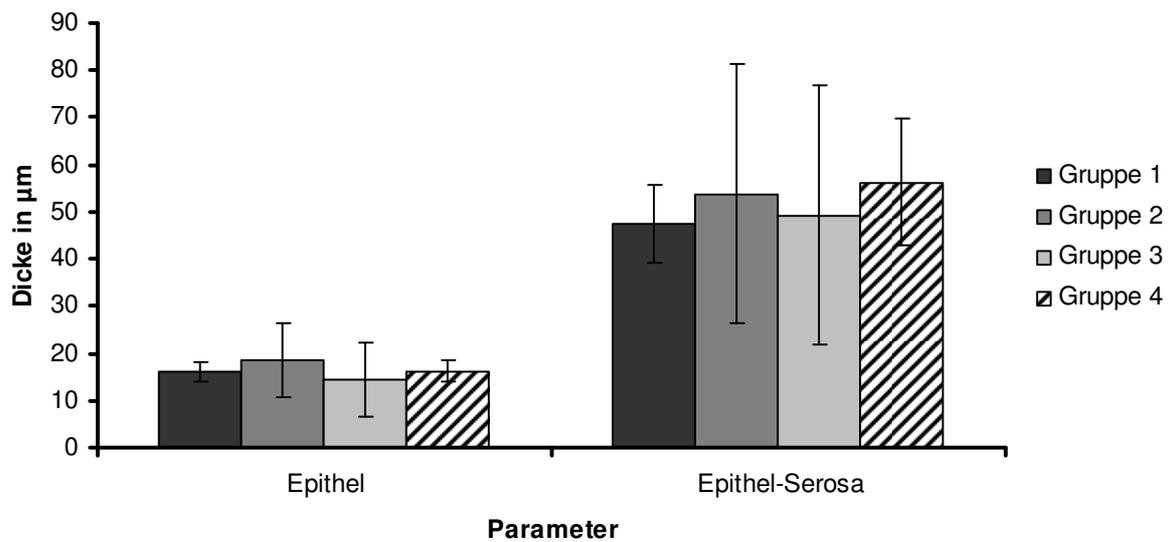
**Tab. 4.3.2.2.1:** Gemessene Parameter am Eileiter der Versuchsgruppen 1 (n = 12), 2 (n = 12), 3 (n = 12) und 4 (n = 12) des zweiten Versuchsabschnittes (niedrige ZEA-Dosierung). Zu jedem Parameter sind für die jeweilige Versuchsgruppe der arithmetische Mittelwert ( $\bar{x}_a$ ) und die Standardabweichung (SD) angegeben.

		Versuchsgruppen			
		1 prä- und postnatal mit ZEA belastet	2 postnatal mit ZEA belastet	3 pränatal mit ZEA belastet	4 nicht mit ZEA belastet
<b>Anzahl Primärzotten</b>	$\bar{x}_a$	22,75	17,50	19,66	17,91
	SD	± 4,51	± 5,00	± 5,44	± 6,52
<b>Anzahl Sek. Z. / 4 Pr. Z.</b>	$\bar{x}_a$	1,43	1,29	1,14	1,14
	SD	± 0,37	± 0,73	± 0,65	± 0,73
<b>Epitheldicke (µm)</b>	$\bar{x}_a$	15,93	18,72	14,50	16,18
	SD	± 2,03	± 1,45	± 7,87	± 2,31
<b>Dicke zw.Epithel u. Serosa (µm)</b>	$\bar{x}_a$	47,47	53,79	49,18	56,31
	SD	± 8,06	± 27,45	± 13,78	± 13,32

ZEA = Zearalenon, L. prop. muc. = Lamina propria mucosae, BDGWZ = Bindegewebszellen, n = Anzahl Tiere pro Gruppe, Sek. Z. = Sekundärzotten, Pr. Z. = Primärzotten, zw. = zwischen, u. = und



**Abb. 4.3.2.2.1:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung von der Anzahl der Primär- und Sekundärzotten des Eileiters der Ferkel ( $n = 48$ ) des ersten Versuchsabschnittes (niedrige ZEA-Konzentration). Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.



**Abb. 4.3.2.2.2:** Darstellung des arithmetischen Mittelwertes und der Standardabweichung der Dicke der verschiedenen Kompartimente des Eileiters. Einbezogen sind die Ferkel ( $n = 48$ ) des ersten Versuchsabschnittes (niedrige ZEA-Konzentration). Gruppe 1 = Ferkel, die prä- und postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 2 = Ferkel, die postnatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 3 = Ferkel, die pränatal ZEA ausgesetzt waren, Gruppe 4 = Ferkel, die zu keinem Zeitpunkt ZEA ausgesetzt waren.

#### 4.4 ERGEBNISSE DER PEARSON KORRELATION UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT

In den nachfolgenden Ausführungen wird unter Berücksichtigung des Versuchsabschnittes und der Gruppenzugehörigkeit der Tiere auf statistisch signifikante Korrelationen zwischen den untersuchten Parametern an Cervix, Uterus und Eileitern eingegangen.

#### **4.4.1 ERSTER VERSUCHSABSCHNITT (HOHE ZEARALENON-KONZENTRATION)**

##### **4.4.1.1 CERVIX**

Die Korrelationsanalyse zeigt, dass eine signifikante positive Korrelation zwischen Epitheldicke der Cervix und der Anzahl der Bindegewebszellen im Uterus ausschließlich in Gruppe 2 nachgewiesen werden kann ( $r = 0,62$ ;  $p = 0,042$ ).

##### **4.4.1.2 UTERUS**

In der ersten und zweiten Versuchsgruppe besteht eine positive Korrelation zwischen der Drüsenzahzahl pro histologischem Uteruspräparat und der Dicke der Lamina propria mucosae (Gruppe 1:  $r = 0,82$ , Gruppe 2:  $r = 0,87$ ). Diese erweist sich in beiden Gruppen als hoch signifikant ( $p < 0,001$ ). Die erste Gruppe weist ebenfalls eine hoch signifikante positive Korrelation zwischen der Drüsenzahzahl und der Dicke der Serosa des Uterus auf ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,001$ ). Außerdem besteht in dieser Gruppe eine positive Korrelation zwischen der Dicke der Serosa und der Lamina propria mucosae ( $r = 0,66$ ), sowie zwischen der Anzahl der Uterindrüsen und der Dicke des Myometriums ( $r = 0,57$ ). In beiden Fällen lässt sich dieser Zusammenhang statistisch belegen ( $p < 0,05$ ). In der zweiten und dritten Versuchsgruppe korreliert die Dicke des Myometriums deutlich positiv mit der Dicke der Lamina propria mucosae (Gruppe 2:  $r = 0,63$ , Gruppe 3:  $r = 0,71$ ). Diese Korrelation ist in beiden Gruppen statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Ausschließlich in der Gruppe 3 besteht eine signifikante positive Korrelation zwischen der Dicke des Drüsenepithels und der Anzahl der Bindegewebszellen ( $r = 0,59$ ;  $p = 0,040$ ).

In der Kontrollgruppe besteht eine signifikante negative Korrelation zwischen der Dicke des Myometriums und der Anzahl der Bindegewebszellen ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,018$ ) und eine signifikante positive Korrelation zwischen der Anzahl der Uterindrüsen und der Dicke der Lamina propria mucosae ( $r = 0,70$ ;  $p = 0,010$ ). Des Weiteren besteht in Gruppe 4 eine positive Korrelation zwischen der Serosadicke des Uterus und der Dicke des Myometriums ( $r = 0,69$ ). Diese erweist sich als statistisch signifikant ( $p = 0,013$ ).

#### 4.4.1.3 EILEITER

In der ersten Versuchsgruppe ist die Dicke zwischen Eileiterepithel und Serosa mit der Dicke des Uterusepithels signifikant positiv korreliert ( $r = 0,78$ ;  $p = 0,002$ ) und mit der Anzahl an Primärzotten ( $r = -0,69$ ;  $p = 0,009$ ) und Sekundärzotten ( $r = -0,67$ ;  $p < 0,05$ ) signifikant negativ korreliert. Eine signifikante positive Korrelation besteht des Weiteren zwischen der Sekundärzottenanzahl und der Anzahl an Primärzotten ( $r = 0,72$ ;  $p = 0,005$ ). Zwischen der Sekundärzottenanzahl und der Dicke des Uterusepithels besteht in der durchgehend mit ZEA belasteten Gruppe hingegen ein negativer Zusammenhang ( $r = -0,60$ ), welcher sich als statistisch signifikant erweist ( $p < 0,05$ ). In Gruppe 2 korrelieren die Parameter Drüsenepitheldicke und Anzahl der Sekundärzotten signifikant positiv miteinander ( $r = 0,63$ ;  $p < 0,05$ ). Ebenso verhält es sich in dieser Gruppe mit den Parametern Eileiterepitheldicke und der Dicke der Serosa des Uterus ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ). Ein signifikanter positiver Zusammenhang besteht in der dritten Gruppe zwischen der Anzahl an Sekundär- und Primärzotten ( $r = 0,79$ ;  $p = 0,002$ ). Die positive Korrelation zwischen der Dicke zwischen Eileiterepithel und Serosa und der Eileiterepitheldicke ist in der Gruppe 3 ebenfalls statistisch signifikant ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,05$ ). Hingegen besteht zwischen Primärzottenanzahl und der Dicke des Eileiterepithels eine signifikante negative Korrelation ( $r = -0,73$ ;  $p = 0,006$ ). Das Gleiche gilt in der vierten Gruppe für die Dicke zwischen Eileiterepithel und Serosa und der Anzahl an Sekundärzotten ( $r = -0,57$ ;  $p = 0,05$ ).

**Tab. 4.4.1.3.1:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson der Gruppe 1

	U.E.	U. L.p.m.	U. Myo.	U. Ser.	U. Bgz.	U. Da.	E. Pr.Z.	E. Sek.Z.	E. E.-S.
U.E.	--								
U. L.p.m.	n.s.	--							
U. Myo.	n.s.	n.s.	--						
U. Ser.	n.s.	pos.	n.s.	--					
U. Bgz.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--				
U. Da.	n.s.	pos.	pos.	pos.	n.s.	--			
E. Pr.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--		
E. Sek.Z.	neg.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--	
E. E.-S.	pos.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	neg.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.E.: Dicke Uterusepithel, U.: Uterus, L.m.p.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, Da.: Anzahl Drüsen, E.: Eileiter, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

**Tab. 4.4.1.3.2:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson der Gruppe 2

	C.E.	U. L.p.m.	U. Myo.	U. Ser.	U. Bgz.	U. Da.	U. D.E.	E. Sek.Z.	E.E.
C.E.	--								
U. L.p.m.	n.s.	--							
U. Myo.	n.s.	pos.	--						
U. Ser.	n.s.	n.s.	n.s.	--					
U. Bgz.	pos.	n.s.	n.s.	n.s.	--				
U. Da.	n.s.	pos.	n.s.	n.s.	n.s.	--			
U. D.E.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--		
E. Sek.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--	
E.E.	n.s.	n.s.	n.s.	pos	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), C.E.: Dicke Cervixepithel, U.: Uterus, L.m.p.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, Da.: Drüsenanzahl, D.E.: Dicke Drüsenepithel, E.: Eileiter, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.E.: Dicke Eileiterepithel

**Tab. 4.4.1.3.3:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson der Gruppe 3

	U. L.p.m.	U. Myo	U. Bgz	U. D.E.	E. Pr.Z.	E. Sek.Z.	E.E.	E. E.-S.
U. L.p.m.	--							
U. Myo	pos.	--						
U. Bgz.	n.s.	n.s.	--					
U. D.E.	n.s.	n.s.	pos.	--				
E. Pr.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--			
E. Sek.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--		
E.E.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	n.s.	--	
E. E.-S.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.: Uterus, L.p.m.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, D.E.: Dicke Drüsenepithel, E.: Eileiter, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.E.: Dicke Eileiterepithel, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

**Tab. 4.4.1.3.4:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson der Gruppe 4

	U. L.p.m.	U. Myo	U. Ser.	U. Bgz.	U. Da.	E. Sek.Z.	E. E.-S.
U. L.p.m.	--						
U. Myo	n.s.	--					
U. Ser.	n.s.	pos.	--				
U. Bgz.	n.s.	neg.	n.s.	--			
U. Da.	pos.	n.s.	n.s.	n.s.	--		
E. Sek.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	
E. E.-S.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.: Uterus, L.m.p.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, Da.: Drüsenanzahl, E.: Eileiter, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

#### 4.4.2 ZWEITER VERSUCHSABSCHNITT (NIEDRIGE ZEARALENON-KONZENTRATION)

##### 4.4.2.1 CERVIX

Die positive Korrelation zwischen der Dicke des Cervixepithels und der Anzahl der Primärzotten des Eileiters ist in der zweiten Gruppe statistisch signifikant ( $r = 0,65$ ;  $p = 0,02$ ). Des Weiteren besteht in dieser Gruppe eine negative Korrelation zwischen der Dicke zwischen Eileiterepithel und Serosa und der Cervixepitheldicke ( $r = -0,61$ ), welche ebenfalls signifikant ist ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4.2.2 UTERUS

In der ersten Gruppe besteht eine hoch signifikante positive Korrelation zwischen der Dicke von Myometrium und Serosa ( $r = 0,87$ ;  $p < 0,001$ ). Die Anzahl der Uterindrüsen ist in dieser Gruppe mit der Dicke des Myometriums signifikant positiv korreliert ( $r = 0,75$ ;  $p = 0,005$ ). Das Gleiche gilt für den Zusammenhang zwischen Uterindrüsenanzahl und der Dicke der Lamina propria mucosae ( $r = 0,57$ ;  $p = 0,049$ ) und der Dicke der Serosa ( $r = 0,61$ ;  $p = 0,034$ ). Die Dicke des Myometriums weist in Gruppe 1 eine negative Korrelation zu der Anzahl der Bindegewebszellen auf ( $r = -0,60$ ). Diese lässt sich statistisch belegen ( $p < 0,05$ ). Ebenfalls signifikant negativ miteinander korreliert sind die Drüsenepitheldicke und die Dicke der Lamina propria mucosae ( $r = -0,060$ ;  $p = 0,037$ ). Der Zusammenhang zwischen der Dicke des Epithels und der Uterindrüsenanzahl ist in der zweiten Gruppe signifikant negativ ( $r = -0,76$ ;  $p = 0,004$ ).

In der dritten Versuchsgruppe ist die positive Korrelation zwischen der Anzahl der Uterindrüsen und der Dicke von Serosa ( $r = 0,71$ ;  $p = 0,009$ ) und Lamina propria mucosae ( $r = 0,81$ ;  $p = 0,001$ ) statistisch signifikant. In dieser Gruppe gilt dies ebenfalls für die Dicke des Drüsenepithels und die Dicke des Myometriums ( $r = 0,70$ ;  $p = 0,010$ ). Die Kontrollgruppe weist eine signifikante negative Korrelation zwischen den beiden Parametern Dicke des Drüsenepithels und Anzahl der Bindegewebszellen auf ( $r = -0,68$ ;  $p = 0,014$ ). Hingegen korrelieren die Anzahl der Uterindrüsen und die Dicke der Lamina propria mucosae signifikant positiv miteinander ( $r = 0,66$ ;  $p = 0,017$ ).

#### 4.4.2.3 EILEITER

Eine positive Korrelation zwischen den Parametern Dicke des Eileiterepithels und Anzahl der Primärzotten zum einen ( $r = 0,62$ ) und der Strecke zwischen Eileiterepithel und Serosa zum anderen ( $r = 0,66$ ) kann ausschließlich in Gruppe 1 nachgewiesen werden. Diese erweist sich in beiden Fällen als statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ). Einzig in der vierten Gruppe besteht ebenfalls eine Korrelation zwischen Eileiterepitheldicke und der Strecke zwischen Eileiterepithel und Serosa. Diese beiden Parameter sind hier jedoch signifikant negativ korreliert ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,019$ ). In der Gruppe 2 ist ein negativer Zusammenhang zwischen der Anzahl der

Sekundärzotten und der Dicke des Uterusepithels zu verzeichnen ( $r = -0,59$ ), dieser ist statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

In der dritten Versuchsgruppe ist die Anzahl der Primärzotten mit mehreren Uterusparametern signifikant positiv korreliert: Die Dicke der Lamina propria mucosae ( $r = 0,77$ ;  $p = 0,003$ ), die Dicke der Serosa ( $r = 0,63$ ;  $p = 0,026$ ) und die Anzahl der Uterindrüsen ( $r = 0,66$ ;  $p = 0,018$ ). Des Weiteren ist in dieser Gruppe zwischen der Anzahl der Sekundärzotten und den folgenden Parametern ein signifikanter positiver Zusammenhang zu verzeichnen: der Dicke des Myometriums ( $r = 0,80$ ;  $p = 0,002$ ), der Anzahl an Uterindrüsen ( $r = 0,60$ ;  $p = 0,037$ ) und der Dicke des Drüsenepithels ( $r = 0,84$ ;  $p = 0,001$ ). Die Parameter Strecke zwischen Eileiterepithel und Serosa und Dicke des Myometriums sind signifikant negativ korreliert ( $r = -0,70$ ;  $p = 0,01$ ). In dieser Gruppe sind die Strecke zwischen Eileiterepithel und Serosa und Sekundärzottenanzahl ebenfalls negativ korreliert ( $r = -0,74$ ). Dieser Zusammenhang ist signifikant ( $p = 0,006$ ). In der Kontrollgruppe ist die Sekundärzottenanzahl mit der Anzahl der Bindegewebszellen des Uterus ( $r = -0,59$ ) ebenso wie die Anzahl der Primärzotten mit der Uterusepitheldicke ( $r = -0,58$ ) signifikant negativ korreliert ( $p < 0,05$ ). Zwischen der Sekundärzottenanzahl und der Uterusserosadicke besteht in dieser Gruppe ein signifikant positiver Zusammenhang ( $r = 0,78$ ;  $p = 0,003$ ). Die Korrelation zwischen Primärzottenanzahl und der Dicke der Lamina propria mucosae des Uterus ist in der vierten Gruppe ebenfalls signifikant positiv ( $r = 0,75$ ;  $p = 0,005$ ).

**Tab. 4.4.2.3.1:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson (r) der Gruppe 1

	U. L.p.m.	U. Myo	U. Ser.	U. Bgz.	U. Da.	U. D.E.	E. Pr.Z.	E.E.	E. E.-S.
U. L.p.m.	--								
U. Myo.	n.s.	--							
U. Ser.	n.s.	pos.	--						
U. Bgz.	n.s.	neg.	n.s.	--					
U. Da.	pos.	pos..	pos.	n.s.	--				
U. D.E.	neg.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--			
E. Pr.Z.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--		
E.E.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--	
E. E.-S.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	pos.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.: Uterus, L.m.p.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, Da.: Drüsenanzahl, D.E.: Dicke Drüsenepithel, E.: Eileiter, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, E.E.: Dicke Eileiterepithel, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

**Tab. 4.4.2.3.2:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson (r) der Gruppe 2

	<b>C.E.</b>	<b>U.E.</b>	<b>U. Da.</b>	<b>E. Pr.Z.</b>	<b>E. Sek.Z.</b>	<b>E. E.-S.</b>
<b>C.E.</b>	--					
<b>U.E.</b>	n.s.	--				
<b>U. Da.</b>	n.s.	neg.	--			
<b>E. Pr.Z.</b>	pos.	n.s.	n.s.	--		
<b>E. Sek.Z.</b>	n.s.	neg	n.s.	n.s.	--	
<b>E. E.-S.</b>	neg	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), C.E.: Dicke Cervixepithel, U.E.: Dicke Uterusepithel, U.: Uterus, Da.: Drüsenanzahl, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

**Tab. 4.4.2.3.3:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson (r) der Gruppe 3

	U. L.p.m.	U. Myo	U. Ser.	U. Da.	U. D.E.	E. Pr.Z.	E. Sek.Z.	E. E.-S.
U. L.p.m.	--							
U. Myo	n.s.	--						
U. Ser.	n.s.	n.s.	--					
U. Da.	pos.	n.s.	pos.	--				
U. D.E.	n.s.	pos.	n.s.	n.s.	--			
E. Pr.Z.	pos.	n.s.	pos.	pos.	n.s.	--		
E. Sek.Z.	n.s.	pos.	n.s.	pos.	n.s.	n.s.	--	
E. E.-S.	n.s.	neg.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.: Uterus, L.p.m.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Da.: Drüsenzanzahl, D.E.: Dicke Drüsenepithel, E.: Eileiter, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

**Tab. 4.4.2.3.1:** Tabelle der statistisch signifikanten ( $p \leq 0,05$ ) positiven und negativen Korrelationen nach Pearson ( $r$ ) der Gruppe 4

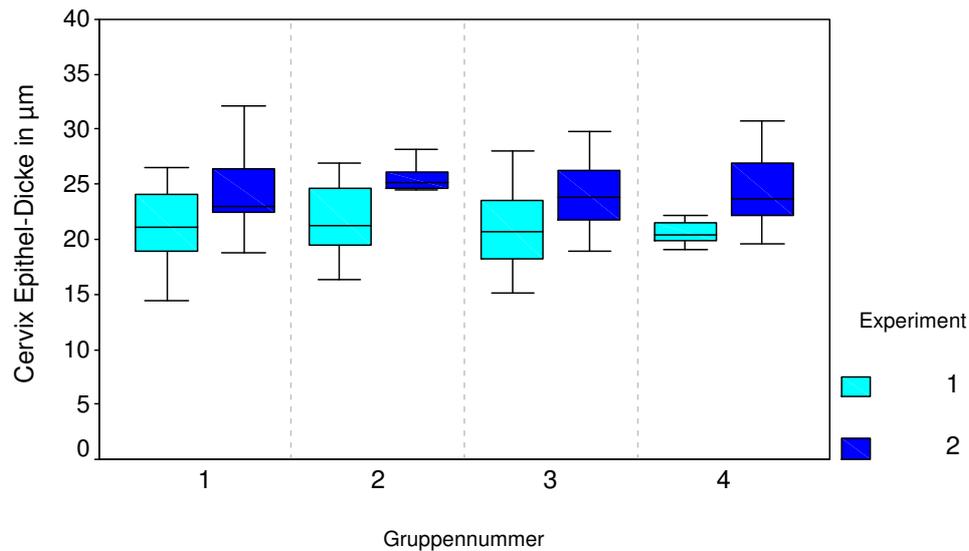
	U.E.	U. L.p.m.	U. Ser.	U. Bgz.	U. Da.	U. D.E.	E. Pr.Z.	E. Sek.Z.	E.E.	E. E.-S.
U.E.	--									
U.L.p.m.	n.s.	--								
U.Ser.	n.s.	n.s.	--							
U.Bgz.	n.s.	n.s.	n.s.	--						
U.Da.	n.s.	pos.	n.s.	n.s.	--					
U.D.E.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	n.s.	--				
E.Pr.Z.	neg.	pos.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--			
E.Sek.Z.	n.s.	n.s.	pos.	neg.	n.s.	n.s.	n.s.	--		
E.E.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	--	
E.E.-S.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	neg.	--

pos.: statistisch signifikante positive Korrelation, neg.: statistisch signifikante negative Korrelation, n.s.: nicht statistisch signifikant ( $p > 0,05$ ), U.E.: Dicke Uterusepithel, U.: Uterus, L.m.p.: Dicke Lamina propria mucosae, Myo.: Dicke Myometrium, Ser.: Dicke Serosa, Bgz.: Anzahl Bindegewebszellen, Da.: Anzahl Drüsen, E.: Eileiter, Pr.Z.: Anzahl Primärzotten, Sek.Z.: Anzahl Sekundärzotten, E.-S.: Dicke zwischen Epithel und Serosa

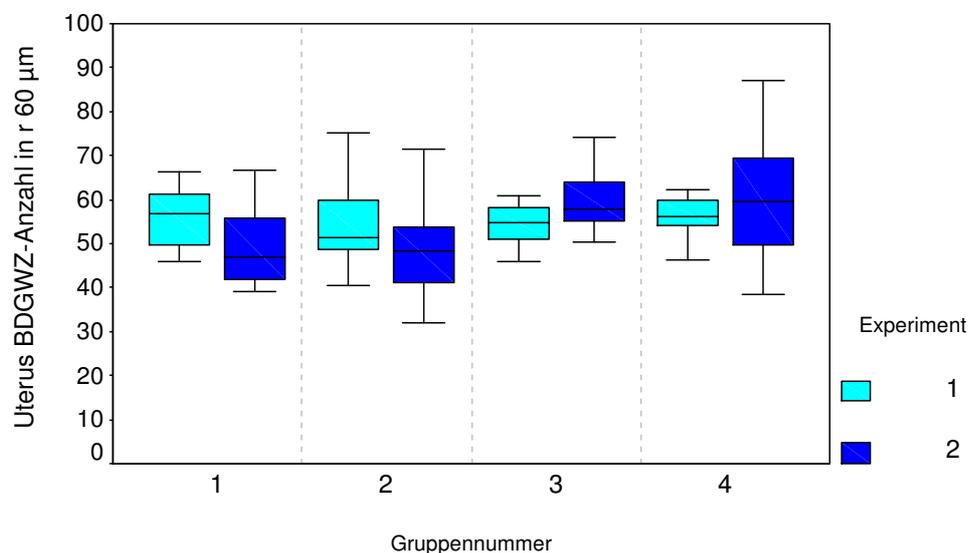
#### **4.5 ERGEBNISSE DES VERGLEICHS BEIDER VERSUCHSABSCHNITTE BEZÜGLICH DER GRUPPENZUGEHÖRIGKEIT UND DER ERHOBENEN PARAMETER**

Der Vergleich beider Versuchsabschnitte ergibt in allen vier Versuchsgruppen einen signifikanten Unterschied bezüglich der Cervixepitheldicke ( $p < 0,05$ ). Der Mittelwert der Ferkel des zweiten Versuchsabschnittes liegt deutlich über dem der Tiere des ersten Versuchsabschnittes (Abb. 4.5.1). Im Gegensatz dazu stehen die Mittelwerte, die sich durch die Vermessung des Epithels des Uterus ergeben. Eine signifikante Abnahme der Epitheldicke ist im zweiten Versuchsabschnitt bei der ersten und zweiten Gruppe zu verzeichnen ( $p = 0,010$ ) (Abb. 4.5.3). Die mittlere Dicke von Myometrium und Serosa des Uterus ist wiederum in der ersten Versuchsgruppe des zweiten Versuchsabschnittes signifikant höher ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5.5 und Abb. 4.5.6). Das Gleiche gilt in der ersten, zweiten und dritten Versuchsgruppe für die Drüsenepitheldicke ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5.8). Bezogen auf die Anzahl der Primärzotten des Eileiters ist eine hochsignifikante Zunahme in der ersten Gruppe ( $p < 0,001$ ) und eine signifikante Zunahme in der zweiten und dritten Gruppe im zweiten Versuchsabschnitt ersichtlich ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5.9). Die Sekundärzottenanzahl nimmt im zweiten Versuchsabschnitt in den Gruppen 1 und 2 signifikant zu ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5.10). Ein signifikanter Unterschied besteht bei den Tieren der Kontrollgruppe bezüglich der Epitheldicke des Eileiters ( $p < 0,05$ ). Die Ferkel dieser Gruppe erreichen im Versuchsabschnitt 2 im Mittel eine größere Dicke als die Kontrolltiere des ersten Versuches (Abb. 4.5.11). Bei den Tieren des ersten Versuchsabschnittes ist hingegen in Gruppe 1 die Dicke zwischen dem Epithel und der Serosa des Eileiters signifikant höher als bei den Ferkeln des zweiten Versuchsabschnittes ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5.12).

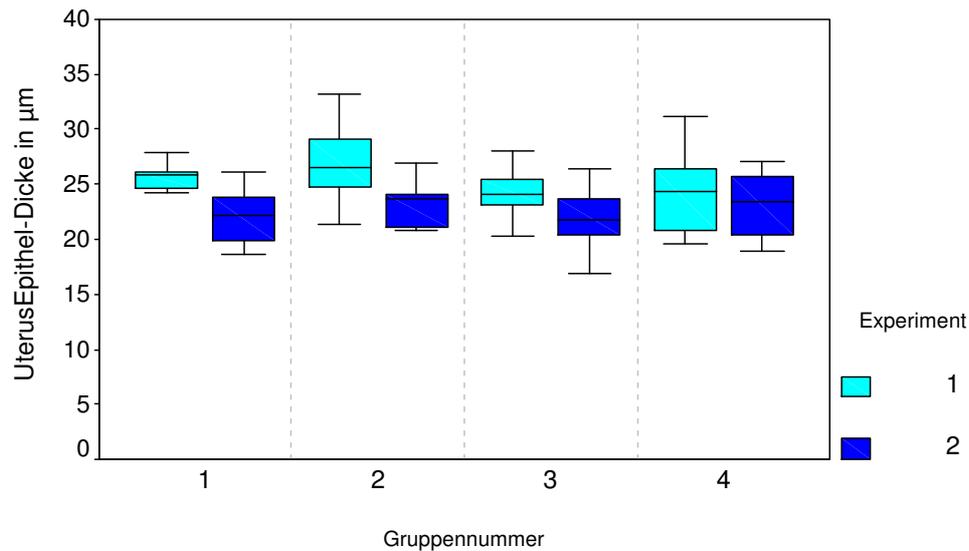
Die statistischen Untersuchungen der beiden Versuchsabschnitte ergeben keine signifikanten Gruppenunterschiede bezüglich der Anzahl der Bindegewebszellen, der Dicke der Lamina propria mucosae und der Anzahl der Uterindrüsen ( $p > 0,05$ ) (Abb. 4.5.2, 4.5.4, 4.5.7).



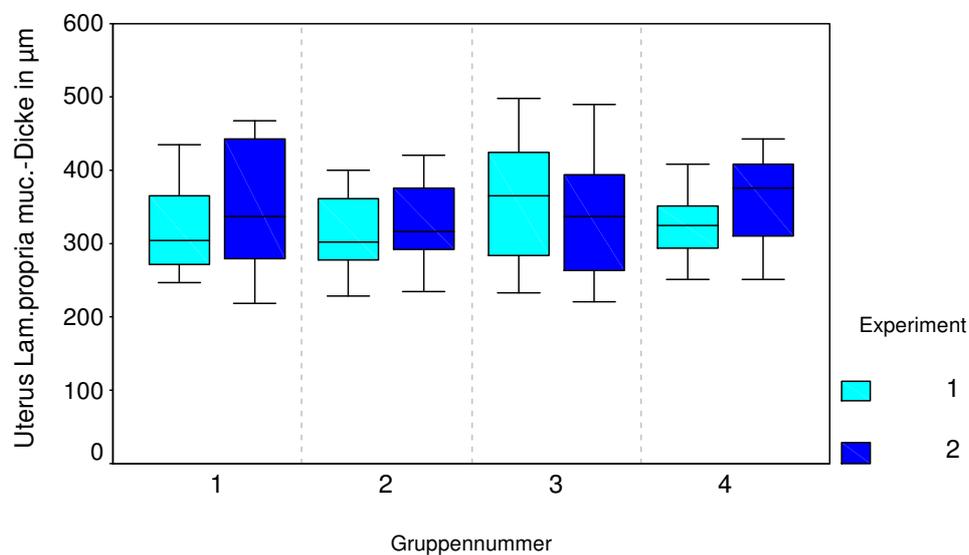
**Abb. 4.5.1:** Vergleich der Cervixepitheldicke der Ferkel aus beiden Experimenten bezogen auf die jeweilige Gruppenzugehörigkeit, dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Anstieg der Cervixepitheldicke der Tiere des zweiten Experiments ist in allen vier Versuchsgruppen statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).



**Abb. 4.5.2. :** Vergleich der Anzahl der Bindegewebszellen in der Lamina propria mucosae des Uterus aus beiden Experimenten bezogen auf die jeweilige Gruppenzugehörigkeit, dargestellt als Box and Whisker Plot. Die Unterschiede beider Experimente sind in allen vier Gruppen nicht signifikant ( $p > 0,05$ ).

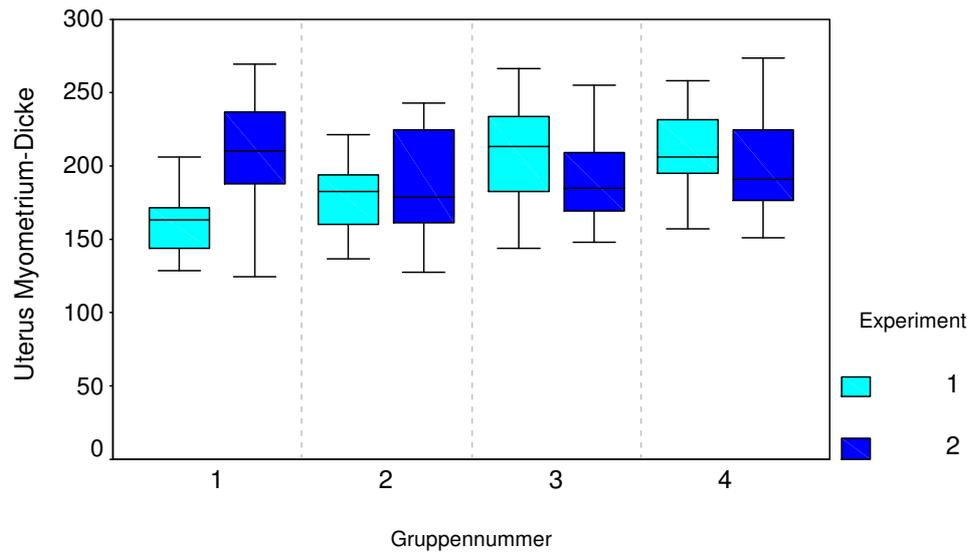


**Abb. 4.5.3:** Dicken des Uterusepithels. Verglichen werden die Mittelwerte der Gruppen bezogen auf das jeweilige Experiment, dargestellt als Box and Whisker Plot. In der ersten und zweiten Versuchsgruppe des ersten Experiments liegt die Uterusepitheldicke signifikant über der aus dem zweiten Experiment ( $p = 0,010$ ).

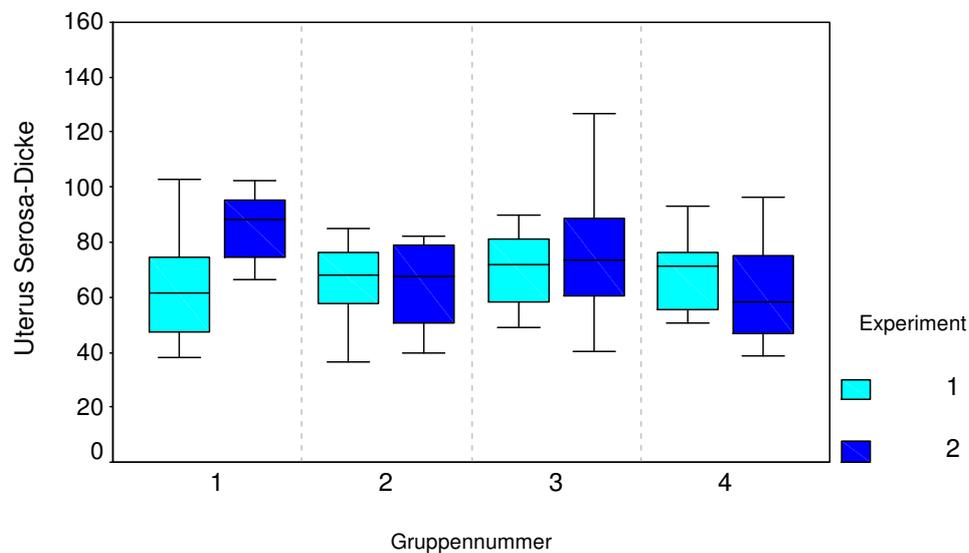


**Abb. 4.5.4:** Dicken der Lamina propria mucosae des Uterus. Dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Vergleich beider Experimente ergab bei allen vier Versuchsgruppen keine statistisch belegbare Differenz ( $p > 0,05$ ).

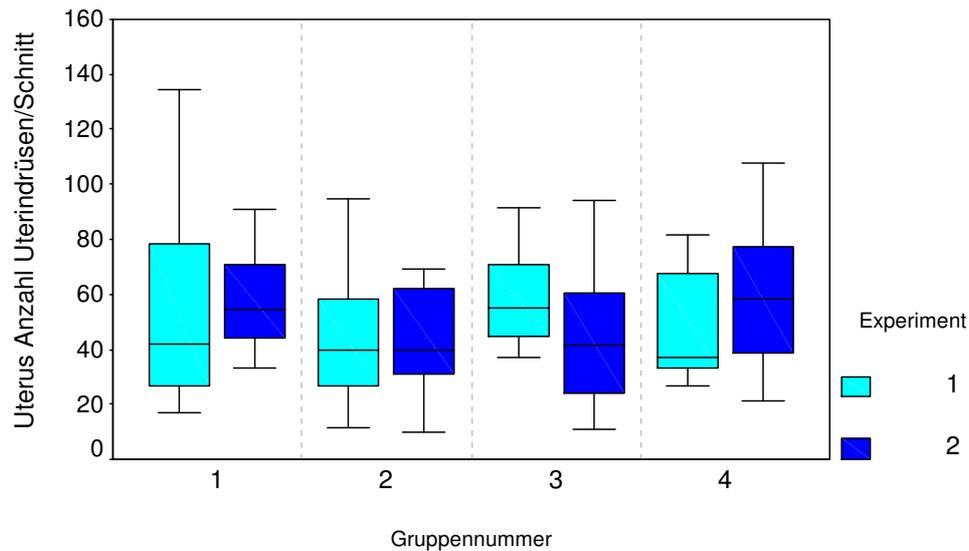
Abb.



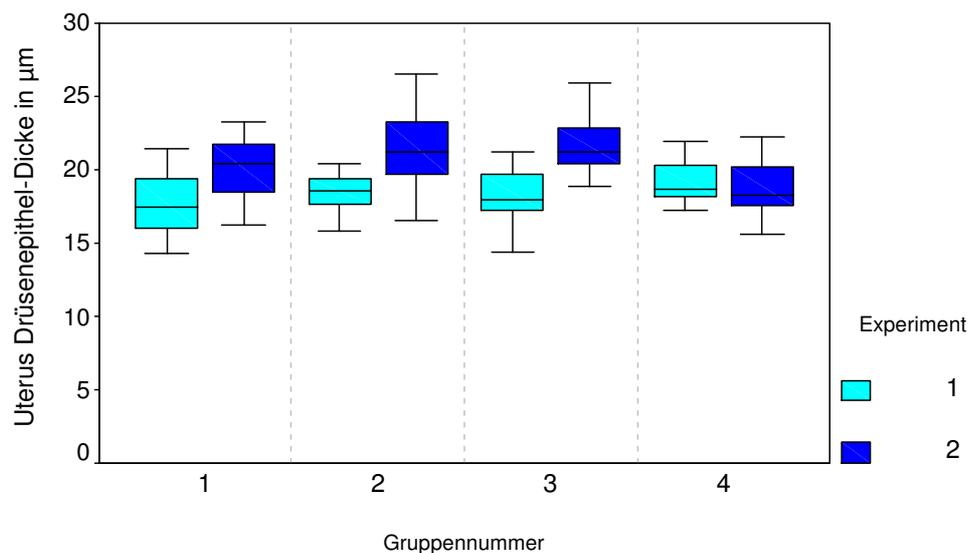
**4.5.5:** Vergleich der Myometriumsdicke des Uterus der Ferkel aus beiden Experimenten bezogen auf die jeweilige Gruppenzugehörigkeit, dargestellt als Box and Whisker Plot. In der ersten Versuchsgruppe ist der Dickenunterschied signifikant ( $p < 0,05$ ).



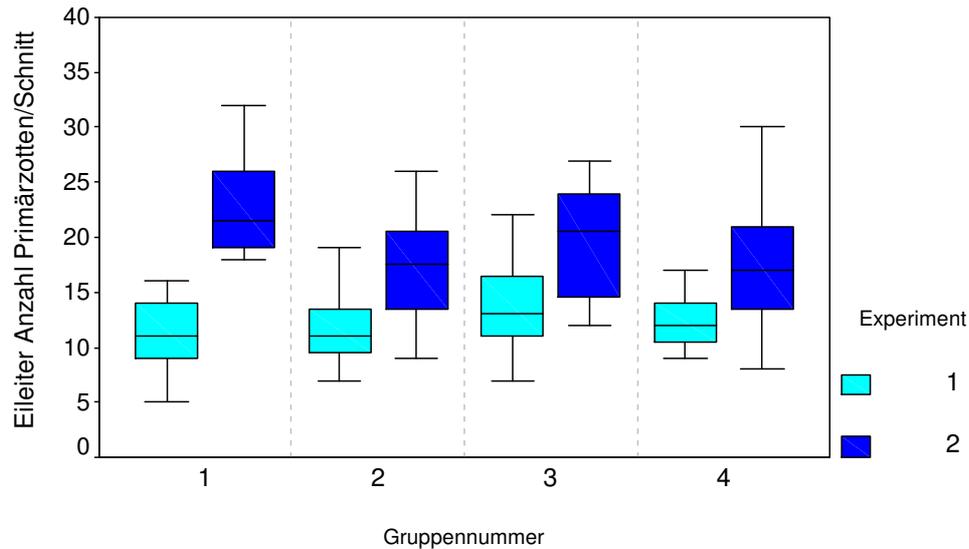
**Abb. 4.5.6:** Vergleich der Serosadicke des Uterus der Ferkel aus beiden Experimenten bezogen auf die jeweilige Gruppenzugehörigkeit, dargestellt als Box and Whisker Plot. In der ersten Versuchsgruppe ist der Dickenunterschied signifikant ( $p < 0,05$ ).



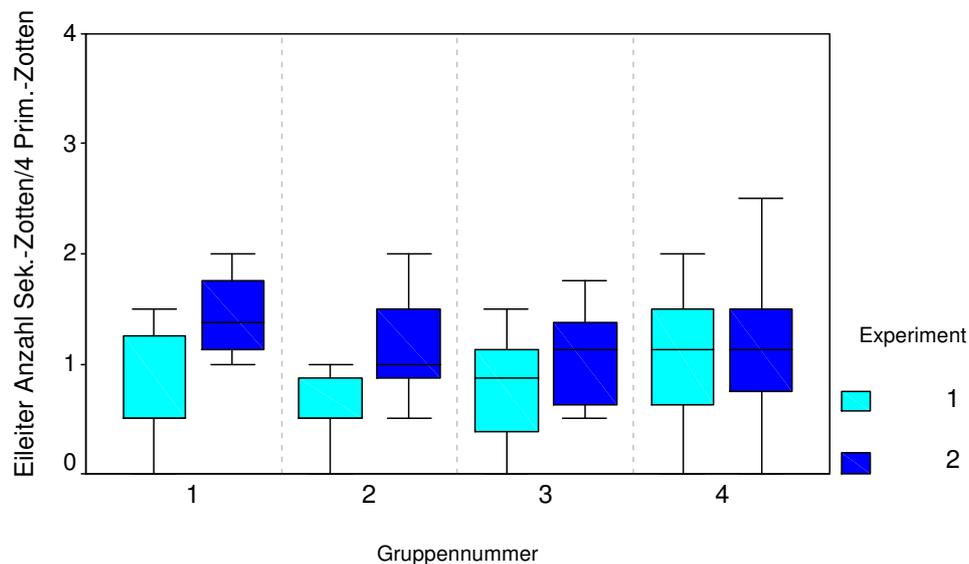
**Abb. 4.5.7:** Anzahl der Uterindrüsen. Dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Vergleich beider Experimente ergab bei allen vier Gruppen keine statistisch belegbare Differenz ( $p > 0,05$ ).



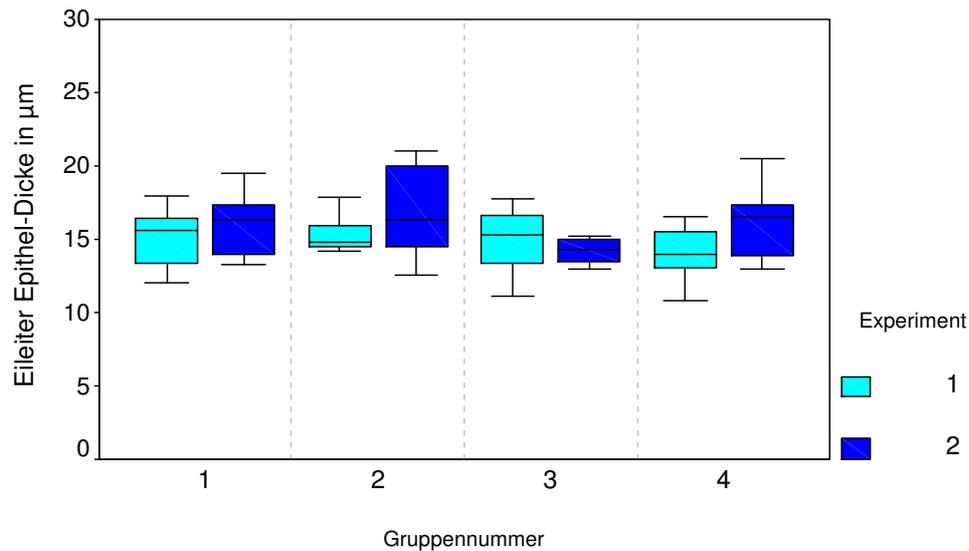
**Abb. 4.5.8:** Dicke des Uterindrüsenepithels. Dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Vergleich beider Experimente ergab in allen Versuchsgruppen, außer in der Kontrollgruppe, einen statistisch belegbaren Unterschied ( $p < 0,05$ ).



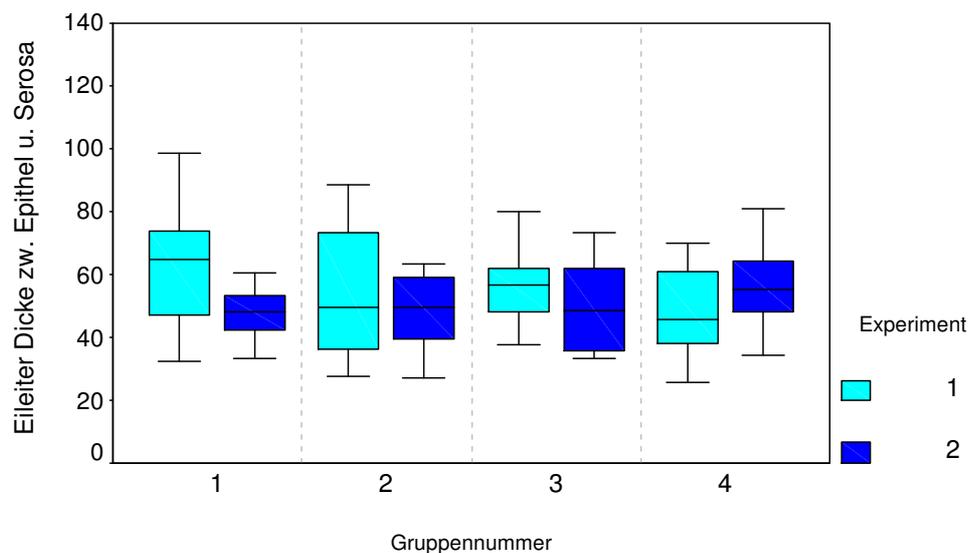
**Abb. 4.5.9:** Anzahl der Primärzotten des Eileiters. Dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Vergleich ergab, dass alle vier Gruppen des zweiten Experiments eine signifikant höhere Anzahl als die des ersten Experiments aufweisen ( $p < 0,05$ ).



**Abb. 4.5.10:** Vergleich der Anzahl der Sekundärzotten des Eileiters aus beiden Experimenten bezogen auf die jeweilige Gruppenzugehörigkeit, dargestellt als Box and Whisker Plot. Die Mittelwerte der ersten und zweiten Gruppe des zweiten Experiments liegen signifikant über denen des ersten Experiments ( $p < 0,05$ ).



**Abb. 4.5.11:** Dicken des Eileiterepithels. Dargestellt als Box and Whisker Plot. Der Vergleich beider Experimente ergab bei der Kontrollgruppe eine statistisch belegbare Differenz ( $p < 0,05$ ).



**Abb. 4.5.12:** Dicke zwischen dem Epithel und der Serosa des Eileiters.

Verglichen werden die Mittelwerte der vier Gruppen aus beiden Experimenten, dargestellt als Box and Whisker Plot. Die Dicke in der ersten Versuchsgruppe aus dem ersten Experiment liegt signifikant über dem Wert dieser Gruppe aus dem zweiten Experiment ( $p = 0,033$ ).

## 5 DISKUSSION

### 5.1 DISKUSSION DER FRAGESTELLUNG

Die durch ZEA hervorgerufene Kontamination von Getreide und die damit verbundenen Auswirkungen auf den Reproduktionstrakt von weiblichen Schweinen stellen ein gesundheitliches und wirtschaftliches Problem dar. ZEA ist ein Mykotoxin, das als endogener Disruptor an Östrogenrezeptoren bindet und östrogenartige Wirkungen entfaltet (BARTOL 2002). Zahlreiche Reproduktionsstörungen werden dadurch beim weiblichen Schwein verursacht. Die Folgen einer Zearalenonintoxikation bei präpubertären und maturen Sauen wurden in der Vergangenheit mehrfach untersucht. Jedoch waren die Beobachtungen einiger Autoren zum Teil unterschiedlich. So stellte REISCHAUER (2006) in ihren Untersuchungen an 70 Tage alten Schweinen, die 35 Tage mit ZEA kontaminiertes Futter erhielten, histopathologische Anzeichen eines Hyperöstrogenismus fest. In ihrer Untersuchung wurden Ferkel in fünf Gruppen aufgeteilt. Einzig die am höchsten belasteten Gruppen (0,22 mg/kg Futter und 0,42 mg/kg Futter) reagierten auf die Toxinbelastung mit einer Zunahme des Uterusdurchmessers und der Dicke der Lamina muscularis und ihrer strukturellen Anteile. Hingegen konnten BAUER et al. (1987) bei Tieren mit einem Gewicht von 20 kg schon bei 0,05 mg ZEA/kg Futter erste Anzeichen eines Hyperöstrogenismus in Form von Vulvaschwellung- und rötung nach 21 Tagen Exposition beobachten. Bei einer Konzentration von 0,25 mg ZEA/kg Futter konnten sie nach elf Tagen zusätzlich zahlreiche Tertiärfollikel und Follikelzysten feststellen. Die histologischen Gewebsveränderungen zum einen und die klinischen Erscheinungen zum anderen geben einen Hinweis darauf, dass der Ausprägungsgrad der klinischen und histologisch erfassbaren Veränderungen in Abhängigkeit vom Alter der Tiere, der ZEA-Konzentration und der Dauer der Exposition variieren.

Bisher fehlten Untersuchungen der histologischen Architektur der Cervix, des Uterus und der Eileiter von Ferkeln, die im perinatalen Zeitraum ZEA ausgesetzt waren. Um beurteilen zu können, ob das Mykotoxin bereits perinatal Einfluss auf die Histoarchitektur des neonatalen porzinen Geschlechtstraktes hat und ob in Folge dessen die genitale Entwicklung von weiblichen Ferkeln nachhaltig gestört ist bedarf es spezieller Untersuchungen an Tieren dieser Altersstufe.

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer Zearalenonexposition im perinatalen Zeitraum auf bestimmte histologische Parameter am Geschlechtstrakt von weiblichen Ferkeln untersucht. Die beiden dafür durchgeführten Fütterungsversuche erstreckten sich vom 101. Tag der Trächtigkeit bis drei Wochen post natum. In diesem Zeitraum wurde den graviden/laktierenden Jungsauen oral ZEA verabreicht. Dadurch sollte geklärt werden, ob deren Ferkel an Cervix, Uterus und Eileitern histologische Veränderungen aufweisen, die auf eine östrogene Wirkung von ZEA zurückzuführen sind. Dafür wurden die Ferkel entweder intrauterin oder nur postnatal über die Sauenmilch oder über den kompletten Versuchszeitraum dem Mykotoxin ausgesetzt. Als Vergleich diente eine Kontrollgruppe, die zu keinem Zeitpunkt des Versuches ZEA in nennenswerten Mengen ausgesetzt war. Grundsätzlich ist eine östrogene Wirkung von ZEA an das Vorhandensein der entsprechenden Rezeptoren gebunden. Mittels immunhistochemischer Methodik konnten NIELSEN et al. (2001) bereits am ersten Lebenstag das Vorhandensein von Östrogenrezeptoren im kompletten Geschlechtstrakt neonataler weiblicher Ferkel nachweisen. TARLETON et al. (1998) stellten im Ferkeluterus ab dem 15. Lebenstag das Vorkommen von Östrogenrezeptoren im glandulären Epithel und im Stroma fest. Im luminalen Epithel konnten erst 30 Tage post natum Östrogenrezeptoren detektiert werden. Somit ist es möglich, dass die in diesem Versuch gefundenen histologischen Veränderungen an den Geschlechtsorganen der Ferkel, die postnatal dem Toxin ausgesetzt wurden, auf die Exposition mit ZEA zurückzuführen sind. Inwieweit pränatal bereits Östrogenrezeptoren vorhanden sind ist noch unklar.

## **5.2 DISKUSSION DER METHODIK**

Die vorliegende Studie wurde im ersten Versuchsabschnitt mit 15 tragenden Jungsauen durchgeführt. Sieben Tieren wurde kristallines ZEA vom 101. Trächtigkeitstag bis zum 20./21. Tag nach der Geburt verabreicht. Acht Tiere dienten als Kontrollgruppe. Im zweiten Versuchsabschnitt wurden neun Jungsauen dem Mykotoxin ausgesetzt und ebenso viele standen als Kontrollgruppe zur Verfügung. Die Jungsauen erfuhren alle eine Östrus- und Ovulationssynchronisation durch die Gabe von Altrenogest, eCG und hCG. Daraufhin erfolgte eine zweimalige instrumentelle Besamung. Alle Tiere stammten aus dem gleichen Bestand und besaßen dieselbe Genetik und denselben Reproduktionsstatus. Somit konnten

unerwünschte Einflussfaktoren ausgeschlossen werden. Des Weiteren wurden die Tiere einzeln aufgestellt, wodurch zusätzlicher Stress durch Rankämpfe vermieden werden konnte. Die Ferkel dieser Jungsauen wurden durch gezielten Wurfaustausch direkt nach der Geburt in vier Versuchsgruppen aufgeteilt. Folglich waren die Ferkel in ihrer fetalen Phase intrauterin und/ oder im neonatalen Zeitraum über die Sauenmilch dem Toxin ausgesetzt oder sie wurden zu keinem Zeitpunkt mit ZEA belastet. Insgesamt wurden 48 weibliche Ferkel in jeden der beiden Versuchsabschnitte einbezogen. Diese teilten sich auf zwölf Tiere je Versuchsgruppe auf. Einschränkend muss jedoch erwähnt werden, dass eine niedrige ZEA-Exposition durch den Gehalt im Sauenfutter nicht ausgeschlossen werden kann. Durch regelmäßige Kontrollmessungen des Futters wurde zwar überprüft, dass die ZEA-Konzentrationen sehr gering sind, doch gibt es praktisch kein ZEA freies Getreide. Im ersten Versuchsabschnitt sollte eine ZEA-Konzentration von 1,50 mg pro kg Futter den Sauen verabreicht werden. Im zweiten Versuchsabschnitt waren es 0,25 mg pro kg Futter. In der späten Gravidität wurde von einer täglichen Futteraufnahme der Sau von 3 kg ausgegangen. Für Tiere, die sich in der Laktation befanden, wurde sich bezüglich der Futteraufnahme an die Empfehlungen der "Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft" zur Fütterung laktierender Sauen gehalten und aufgrund dieser Daten die entsprechenden ZEA-Mengen errechnet. Somit wurde den Sauen des ersten Versuchsabschnittes ZEA in einer hohen Dosierung verabreicht (4,50 mg – 11,25 mg ZEA/Tier/Tag), wohingegen im zweiten Versuchsabschnitt das Toxin wesentlich niedriger dosiert wurde (0,75 mg – 1,87 mg ZEA/Tier/Tag). Diese Konzentrationen sind nicht als praxisrelevant anzusehen, da in Deutschland die durchschnittliche Futtermittelbelastung mit ZEA deutlich niedriger ist (unter 0,50 mg ZEA/kg Futter). In einer Erhebung der Mykotoxingehalte in Getreide und Futtermitteln aus Schleswig Holstein lagen die Maximalwerte in Weizen für ZEA bei 0,37 mg/kg (REUTLER 2001). Das Toxin wurde den Sauen in reiner Form gefüttert, indem es aus seiner kristallinen Form durch Lösung in Alkohol in eine flüssige Form überführt wurde und so in das Zentrum eines kommerziell erhältlichen Muffins injiziert werden konnte. Dieser Muffin wurde den Tieren zusätzlich zu ihrer täglichen Futterration als Ganzes verabreicht. Durch die manuelle Gabe konnte eine vollständige Aufnahme der Toxinmenge gewährleistet werden. Die tägliche Dosis an ZEA wurde auf zwei gleiche Portionen pro Tag verteilt. Die Kontrollgruppe erhielt Muffins ohne das Toxin. Wechselwirkungen mit anderen Mykotoxinen wie beispielsweise Deoxynivalenol

(DON) konnten weitestgehend ausgeschlossen werden, da ZEA in Reinform verfüttert wurde und die Futtermittel auf weitere Toxinbelastungen getestet wurden. Es wurde bewusst auf eine zusätzliche Exposition der Jungsauen mit DON verzichtet, da in diesem Versuch möglichst die isolierte Wirkung von ZEA auf den neonatalen porcinen Geschlechtstrakt analysiert werden sollte. Zu bemerken ist, dass bei kontrollierten Versuchen mit kristallinen Mykotoxinen wesentlich höhere Konzentrationen erforderlich sind, um bestimmte Effekte erzeugen zu können. Hingegen werden unter Praxisbedingungen bei deutlich niedrigeren Konzentrationen Auswirkungen festgestellt (GOLL und GAREIS 1997). Dies mag unter anderem daran liegen, dass verschiedene Mykotoxine sowie deren Zwischenstufen und Abbauprodukte an den gefundenen Effekten beteiligt sind. Die Tatsache, dass es über den Effekt östrogenwirksamer Substanzen widersprüchliche Untersuchungsergebnisse gibt, erklären GOLL und GAREIS (1997) generell damit, dass erwähnte Substanzen in unterschiedlichen Dosierungen für die Studien verwendet wurden.

Für die histologische Auswertung wurden Cervix, Uterus und Eileiter separiert und aufbereitet. Als Übersichtsfärbung wurde die Hämatoxylin-Eosin-Färbung gewählt. Diese Färbung gilt als etabliert. Sie ermöglicht die Gewebeproben auf ihre Intaktheit zu kontrollieren. Außerdem eignet sie sich gut für die Darstellung einzelner Gewebekomponenten im porcinen Gewebe (KAEOKET et al. 2005). Die Zellkerne stellen sich hier blau dar. Andere Strukturen werden in verschiedenen Tonabstufungen rot dargestellt (ROMEIS 1989). In dieser Färbung wurden die Messungen der Dicke der einzelnen Gewebeschichten des Ferkeluterus durchgeführt. Durch die unterschiedliche Rotfärbung ließen sich die Schichten des Uterus deutlich voneinander abgrenzen und konnten dadurch mit Hilfe des Leica DM R Lichtmikroskop exakt vermessen werden. Gleiches gilt für die Auszählung der Uterindrüsen und die Vermessung des glandulären Epithels. Des Weiteren konnte mit dieser Vorgehensweise auch für Cervix und Eileiter die Epitheldicke ermittelt werden. Wobei für den Eileiter noch zusätzlich die Dicke zwischen Epithel und Serosa gemessen wurde und eine Auszählung der Primär- und Sekundärzotten erfolgte. Alle Auszählungen und Messungen erfolgten um mit Hilfe des Vergleichs der exponierten Tiere mit den Tieren der Kontrollgruppe eventuelle Unterschiede bei den erfassten Parametern, hervorgerufen durch die Exposition mit ZEA, feststellen zu können. Mit Hilfe der Masson-Goldner-Trichromfärbung gelang es die Zellkerne

der Bindegewebszellen in der Lamina propria mucosae des Uterus zu visualisieren. Die Zellkerne stellten sich leuchtend rot dar wohingegen das Bindegewebe hellblau bis farblos erschien. Um ausreichend statistisch auswertbares Datenmaterial zur Verfügung zu haben wurden für jedes, in den Versuch einbezogene, Ferkel zwei Gewebeschnitte ausgewertet. Außerdem wurden aus genanntem Grund die Messungen zur Ermittlung der Dicken an jedem dieser Schnitte mindestens doppelt durchgeführt.

### **5.3 DISKUSSION DER ERGEBNISSE**

#### **5.3.1 GENERELLE HISTOLOGISCHE STRUKTUR**

##### **Cervix**

Die Cervix der drei Wochen alten Ferkel ist aus Tunica mucosa, Lamina propria mucosae und Tunica muscularis aufgebaut. Damit besitzt sie den typischen Aufbau der weiblichen Geschlechtsorgane, der für dieses Organ bei allen Tierarten beschrieben ist (LIEBICH 1998). Das Epithel neonataler Ferkel ist einschichtig hochprismatisch (KREBS 2007). Bei allen Tieren, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden, konnte ebenfalls ein einschichtiges Cervikalepithel festgestellt werden. HEINONEN (1914) beschreibt dieses einschichtige Cervikalepithel auch noch für drei Monate alte Ferkel. Hingegen kann er bei adulten Sauen nur im kranialen Bereich der Cervix einschichtiges Epithel feststellen. Von der Vagina bis zur mittleren Cervikalregion wird vom Autor eine Mehrschichtigkeit des Epithels festgestellt.

Für Sauen in der Trächtigkeit und direkt post partum werden Cervikaldrüsen beschrieben, die sich in Drüsenfeldern zusammenlagern und mit einschichtigem hochprismatischem Epithel ausgestattet sind (ENDELL 1976). Diese Beobachtung konnte bei keinem der drei Wochen alten Ferkel in der vorliegenden Arbeit gemacht werden. Die Ausbildung dieser Drüsen scheint nur während der Gravidität zu erfolgen, da andere Autoren den Cervikalkanal ebenfalls als drüsenfrei beschreiben (LIBAL 1990, KLEINEN 2006, KREBS 2007). Die Tunica muscularis adulter Tiere setzt sich aus zwei Muskelschichten zusammen (WESTERMEYER 1958, LIBAL 1990, LIEBICH 1998, LEISER 1999). Hingegen können andere Autoren einen dreischichtigen Aufbau differenzieren (HEINONEN 1914, RIGBY 1967, KREBS 2007). Solch ein mehrschichtiger Aufbau konnte bei den Ferkeln in der eigenen

Arbeit nicht erkannt werden. Dies liegt daran, dass die histologische Differenzierung der Cervix um den Zeitpunkt der Geburt noch nicht abgeschlossen ist. Lichtmikroskopisch können Bindegewebe und Muskulatur beim Ferkel nicht klar abgegrenzt werden (KREBS 2007).

#### Uterus

Die Uteri der drei Wochen alten Ferkel lassen den generellen Aufbau der Gebärmutter, bestehend aus Epithel, Lamina propria mucosae, Myometrium und Serosa, erkennen (LIEBICH 2004). Da die Entwicklung der im Stroma gelegenen porcinen Uterindrüsen mit der zweiten Lebenswoche beginnt (HADEK und GETTY 1959, BAL und GETTY 1970, ERICES und SCHNURRBUSCH 1979, BARTOL et al. 1993) konnten sie in dieser Arbeit erkannt und im Anschluss ausgezählt werden. Somit wurden die Beobachtungen vorangegangener Arbeiten bestätigt. Eine Differenzierung des Myometriums in eine innere zirkuläre und eine äußere longitudinale Muskelfaserschicht, wie es beim adulten Tier der Fall ist, ist bei den neonatalen Ferkeluteri dieses Versuches nicht möglich. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen von anderen Autoren, die bereits zwei Wochen post natum eine solche Differenzierung vornehmen konnten (SPENCER et al. 1993, TARLETON et al. 1998, CHRISTENSON et al. 1997).

#### Eileiter

Grundsätzlich lassen die Eileiter den bereits oben erwähnten Aufbau der weiblichen Geschlechtsorgane erkennen (LIEBICH 1993). Einzig eine Differenzierung von Stroma und Myometrium konnte bei den drei Wochen alten Tieren nicht vorgenommen werden. Des Weiteren sind Primär- und Sekundärfalten zu erkennen, welche jedoch noch keinen ausgeprägten Verzweigungsgrad besitzen (SMOLLICH 1992). Die von WEITEMEIER (2009) bei maturen Sauen beschriebenen Fusionen von benachbarten Sekundärfalten konnten bei einigen Tieren bestätigt werden. Diese labyrinthartigen Verzweigungen sind im porcinen Ovidukt besonders ausgeprägt. Damit geht eine epitheliale Oberflächenvergrößerung einher, die im adulten Stadium für die Ernährung und den Transport der Oozyten eine große Rolle spielt (YANIZ et al. 2006).

Der oben beschriebene generelle histologische Aufbau von Cervix, Uterus und Eileiter unterscheidet sich in allen Versuchsgruppen der zwei Versuchsabschnitte nicht.

### **5.3.2 VERSUCHSGRUPPENABHÄNGIGE HISTOLOGISCHE ERGEBNISSE**

Bei den Ferkeln beider Versuchsabschnitte zeigen sich signifikante Veränderungen der histologischen Struktur im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dabei sind die beeinflussten Parameter in den verschiedenen Versuchsabschnitten zum größten Teil unterschiedlich. Das Vorhandensein von Östrogenrezeptoren ist in diesem Versuch entscheidend für die Entfaltung der östrogenen Wirkung von ZEA. NIELSEN et al. (2001) stellten diese, wie bereits oben erwähnt, am ersten Lebenstag bei neugeborenen weiblichen Ferkeln im gesamten Geschlechtstrakt fest, jedoch ist über deren Dichte in den verschiedenen Abschnitten des porcinen neonatalen Geschlechtstraktes sowie das Vorhandensein vor der Geburt noch wenig bekannt.

#### **Cervix**

Beim Einsatz der hohen wie auch der niedrigen ZEA-Dosierung konnten keine histologischen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen am cervikalen Gewebe gefunden werden. Grundsätzlich ist zu beachten, dass in dieser Arbeit nur morphometrische Parameter Beachtung fanden und dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass eine funktionelle Beeinträchtigung der Cervix auch im Hinblick auf deren weitere Entwicklung stattgefunden hat.

Der Vergleich beider Versuchsabschnitte bezüglich des Parameters Cervixepitheldicke lässt erkennen, dass das Cervixepithel der Tiere des zweiten Versuchsabschnittes unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit signifikant höher ist (Abb. 4.5.1). Dieser Unterschied ist auch im Vergleich der Kontrollgruppen signifikant. Eine Erklärung für diese Beobachtung könnte sein, dass dieser morphometrische Parameter bedingt durch Veränderungen des Fixationspuffers beeinflusst worden ist. Zwar wurde sich bemüht derart methodische Einflussfaktoren auszuschließen, jedoch können diese nicht mit absoluter Sicherheit vermieden werden, da zwischen den beiden Versuchsabschnitten 13 Monate lagen. Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass zu den beiden Versuchszeitpunkten different

einwirkende Faktoren nicht berücksichtigt wurden. Beispiele dafür wären die Wachstumsintensität der Tiere und die Wurfgröße, die wiederum die Wachstumsintensität beeinflussen kann. Grundsätzlich ist es nicht klar ab welcher Konzentration eines Mykotoxins mit negativen Wirkungen zu rechnen ist, da oft nicht sicher feststeht, welche weiteren Faktoren beteiligt sind. ZEA wird in diesem Zusammenhang zwar eine Indikatorrolle zugeschrieben, jedoch werden Fruchtbarkeitsstörungen meist durch mehrere Ursachen ausgelöst. Somit besteht die Möglichkeit, dass Mykotoxine in der Lage sind, die durch andere Ursachen bedingten Störungen zu verstärken (BÖHM 2000, JUNGNICHEL et al. 1997). Da diese Einflussfaktoren nicht genauer charakterisiert wurden, erfolgt im weiteren keine weitere Interpretation der Unterschiede von Organparametern zwischen den beiden Versuchsabschnitten.

#### Uterus

Die Dicke des Myometriums ist bei den Ferkeln, welche über die gesamte Zeit des ersten Versuchsabschnittes ZEA ausgesetzt waren, signifikant geringer als bei den Tieren, die zu keinem Zeitpunkt oder nur in den letzten 14 Tagen der Gravidität belastet wurden (Abb. 4.2.2.1.1). Dieses Ergebnis könnte für einen zeitabhängigen Einfluss des Mykotoxins auf das Myometrium sprechen.

Das Ergebnis steht jedoch im Widerspruch zu den Feststellungen von REISCHAUER (2006). Hier konnte bei der morphometrischen Untersuchung der Uteri von 70 Tage alten weiblichen Schweinen eine Zunahme der Dicke der Lamina muscularis und ihrer strukturellen Anteile durch Exposition der Tiere mit ZEA belegt werden. Als Ursache für diese widersprüchlichen Ergebnisse könnte eine zu geringe Dichte der Östrogenrezeptoren bei den drei Wochen alten Tieren dieses Versuches in Betracht gezogen werden. Zwar ist das Vorhandensein dieser Rezeptoren ab dem ersten Lebenstag für den gesamten porcinen Geschlechtstrakt nachgewiesen (NIELSEN et al. 2001), jedoch fehlen in der Literatur vergleichbare histologische und immunhistochemische Untersuchungen über die Funktionalität und Dichte der Östrogenrezeptoren in diesem Alter. Die Hypothese, dass in der Gravidität kein Transfer von ZEA und seinen Metaboliten von der Sau auf die Ferkel stattfindet, konnte von DÄNICKE et al. (2007) nicht bestätigt werden. In dieser Arbeit wurde der Transfer der Mykotoxine DON und ZEA von der Sau auf die Ferkel im letzten Drittel der Gravidität untersucht und herausgefunden, dass vor allem bei den weiblichen

Ferkeln der Mykotoxingruppe deutliche Veränderungen der erhobenen Parameter wie erniedrigtes Milzgewicht, deutlich niedrige Hämoglobinkonzentration und erniedrigter Hämatokrit im Vergleich zur Kontrollgruppe zu verzeichnen waren. SPENCER et al. (1993) exponierten Ferkel ab dem Tag ihrer Geburt mit Östradiol-17 $\beta$ -Valerat, hysterektomierten die Tiere an Tag 7, 14 oder 49 und untersuchten die Proben histologisch. Es konnte festgestellt werden, dass Östradiol-17 $\beta$ -Valerat nur bei den Tieren einen Effekt durch Anstieg der Dicke des Myometriums auslöste, die am Tag 49 hysterektomiert wurden. An Tag 7 und 14 war dieser Effekt des Östrogens nicht zu verzeichnen. Da den Ferkeln in der eigenen Arbeit am 21. post natum die Geschlechtsorgane entnommen wurden könnte auch in diesem Fall das Alter der Tiere eine Erklärung dafür liefern, warum das Myometrium nicht an Dicke zunahm. Im zweiten Versuchsabschnitt lassen sich die oben beschriebenen Unterschiede bezüglich der Myometriumdicke zwischen den Gruppen nicht finden. Hingegen wurden hier signifikante Unterschiede bezüglich der Dicke des Drüsenepithels nachgewiesen. Die Ferkel, die nur während der Laktation ZEA ausgesetzt wurden, weisen eine signifikant höhere Dicke des Drüsenepithels auf, als die Tiere, der Kontrollgruppe (Abb. 4.2.2.2.3). Dies könnte seine Ursache in der Dosierung oder in der Altersklasse haben. Es ist bekannt, dass die Rezeptorexpression in Abhängigkeit von den Organen und vom Alter different ist (SPENCER et al. 1993). Diese Proliferation der Endometriumdrüsen wurde bereits in der Vergangenheit von einigen Autoren in Zusammenhang mit einer ZEA-Aufnahme beschrieben (BAUER et al. 1987, CHANG et al. 1979). Tarleton et al. (1998) bestätigen, dass 15 Tage post natum die Expression der Östrogenrezeptoren vor allem im glandulären Epithel besonders stark ist. Für den Anstieg der Drüsenepitheldicke der Tiere, die postnatal über die Sauenmilch mit ZEA belastet wurden, könnten diese Ergebnisse eine Erklärung liefern. Die Tatsache, dass bei anderen in diesem Versuch, erfassten Parametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festzustellen waren, bedeutet nicht, dass das Toxin in diesem Fall keine Auswirkungen auf die Ferkel hatte. In den Versuchen von LEITNER et al. (2001) führte die ZEA-Aufnahme bei zyklischen Sauen in der Mamma zur Ausbildung von Alveolen mit sekretorischer Tätigkeit. Meist wurden diese Veränderungen bei den Tieren mit der höchsten ZEA-Aufnahme festgestellt. Mit Hilfe von lektin histochemischer Untersuchungen wurden diese Veränderungen bestätigt. Des Weiteren wurde aber auch bei Tieren, die in der Routinehistologie unauffällige Befunde aufwiesen, erste Anzeichen von

Auswirkungen der ZEA-Aufnahme gefunden (LEITNER et al. 2001). CHEN et al. (2009) untersuchte die Expression von Genen, die eng mit der Uterusentwicklung verknüpft sind, anhand desselben Versuchsgutes wie in der vorliegenden Arbeit. Es konnte festgestellt werden, dass bei den Ferkeln, die durchgehend dem Toxin ausgesetzt wurden, die Dichte der  $\alpha$ -Östrogenrezeptoren ebenso wie die Expression anderer, die Uterusentwicklung beeinflussende Gene, erniedrigt ist. Es fand eine Downregulation statt. Diese Ergebnisse könnten eine Erklärung dafür liefern, warum bestimmte Kompartimente des Uterus wie das Myometrium, der durchgehend belasteten Tiere bei der Ermittlung der Dicke wesentlich niedrigere Werte erzielten als die der Kontrolltiere. Hingegen zeigt sich bei dem Vergleich beider Versuchsabschnitte, dass die Dicke des Uterusepithels, der durchgehend und in der Laktation belasteten Tiere bei höherer ZEA-Konzentration erhöht ist. Dieses Ergebnis spricht für eine Hyperplasie und Hypertrophie des Endometriums nach ZEA-Exposition, wie sie bereits von DIEKMANN und GREEN (1992) beschrieben wurden. In diesem Fall liegt der Verdacht nahe, dass vor allem die Ferkel auf die höhere ZEA-Exposition mit einer deutlichen Zunahme des Epithels reagierten, die auch nach der Geburt dem Mykotoxin ausgesetzt waren. Da für diesen Zeitpunkt das Vorhandensein der Östrogenrezeptoren belegt ist (NIELSEN et al. 2001, TARLETON et al. 1998), könnte vermutet werden, dass pränatal noch keine oder nur eine mäßige Rezeptorexpression stattgefunden hat. Hingegen ist die Dicke des Myometriums, wie bereits oben erwähnt, bei den durchgehend exponierten Tieren des ersten Versuchsabschnittes erniedrigt. Dieses Ergebnis lässt den Schluss zu, dass die verschiedenen Strukturen des Ferkeluterus unterschiedliche Reaktionen auf die ZEA-Exposition bedingen. Als zugrunde liegender Mechanismus kommt eine Downregulation der Östrogenrezeptoren in der Lamina muscularis des Uterus in Frage. Dies würde in der Folge eine Abnahme der Dicke dieser Gewebeschicht bedeuten. Uterus- und Drüsenepithel reagierten bei höheren Gaben mit einer Zunahme der Dicke. Auffällig ist allerdings, dass zumeist die Tiere deutliche Auswirkungen erkennen lassen, die auch oder nur postnatal exponiert wurden. Des Weiteren geben auch die Ergebnisse der Korrelationsanalyse einen Hinweis darauf, dass in der durchgehend exponierten Gruppe in beiden Versuchsabschnitten Effekte der Toxinbelastung zu verzeichnen sind. Vor allem die am Uterus erhobenen Parameter weisen deutlich positive Zusammenhänge auf. Dort ist mit dem Anstieg der Drüsenanzahl auch ein Anstieg der Dicke von Lamina propria mucosae,

Myometrium und Serosa verbunden. Folglich ist bei den perinatal belasteten Ferkeln meistens eine deutliche Reaktion der Strukturen des Uterus auf das Mykotoxin zu erkennen, jedoch kann insgesamt kein einheitliches Bild der Auswirkungen einer perinatalen ZEA-Exposition auf die in dieser Arbeit erhobenen Parameter am Uterus festgestellt werden.

#### Eileiter

Bei allen am Eileiter erhobenen Parametern konnten in beiden Versuchsabschnitten keine signifikanten histologischen Unterschiede zwischen den Gruppen nachgewiesen werden. Einzig der Vergleich der Versuchsabschnitte ergab signifikante Unterschiede. So ist die Anzahl der Primärzotten bei den Ferkeln, die der niedrigeren Dosierung ausgesetzt waren, signifikant höher als bei den Tieren, die die höhere Konzentration erhielten (Abb. 4.5.9). Die Tatsache, dass dies auch bei den Tieren der Kontrollgruppe der Fall ist, lässt vermuten, dass erwähnte Einflussfaktoren hierfür der Grund sein können. Ähnlich verhält es sich bei den anderen am Eileiter erhobenen Parametern im Vergleich der Versuchsabschnitte. Hingegen liegt die Dicke zwischen dem Epithel und der Serosa des Eileiters in der ersten Gruppe des ersten Versuchsabschnittes signifikant über dem Wert der Tiere aus dem zweiten Versuchsabschnitt. Da in diesem Fall die Werte der Kontrollgruppen durchaus vergleichbar sind, könnte man in diesem Fall von einem Unterschied, bedingt durch die unterschiedliche Konzentration des Mykotoxins ausgehen (Abb. 4.5.12). CHANG et al. (1979) stellte solche Proliferationsvorgänge bei ZEA-Aufnahme in der Mukosa des Ovidukts adulter Tiere fest. Es wurden sowohl hypertrophe als auch hyperplastische Veränderungen von ihm ermittelt. Somit könnte auch bezüglich des Eileiters davon ausgegangen werden, dass dieses Gewebe bei erhöhtem perinatalem Einfluss von ZEA reagiert, dass in diesem Fall jedoch keine Downregulation der Östrogenrezeptoren stattgefunden haben muss.

#### 5.4 ABSCHLIEßENDE BETRACHTUNG

Ausgehend von dieser Studie kann festgestellt werden, dass eine indirekte Exposition von weiblichen Ferkeln mit ZEA über die Toxinaufnahme der Muttersau über den perinatalen Zeitraum Einfluss auf bestimmte morphometrische Parameter an Cervix, Uterus und Eileitern hat. Inwieweit diese Veränderungen mit anderen Einflussfaktoren in Zusammenhang stehen oder durch diese bedingt wurden konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden. Da die gefundenen histologischen Unterschiede zwischen den Gruppen nicht in gleichem Ausmaß bei den verschiedenen Parametern und in beiden Versuchsabschnitten auftraten konnte kein einheitliches Bild der Folgen einer perinatalen ZEA-Exposition gezeichnet werden. Deutlich wurde jedoch, dass der Großteil der signifikanten Unterschiede zwischen Ferkeln die durchgehend oder nur postnatal exponiert wurden und Tieren der Kontrollgruppe zu finden war. In diesem Zusammenhang wäre es eine interessante Frage ob und in welchem Maß eine pränatale Expression der Östrogenrezeptoren stattfindet. Des Weiteren wäre es von Interesse ob die Rezeptordichte in den Geschlechtsorganen unterschiedlich ist und ob es Unterschiede in der Reaktion der verschiedenen strukturellen Anteile von Cervix, Uterus und Eileitern auf ZEA gibt. Eine perinatale ZEA-Exposition bedingt morphometrische Veränderungen an den strukturellen Anteilen der Geschlechtsorgane von weiblichen Ferkeln. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass durch den Einfluss des Mykotoxins die Entwicklung und Funktion des porcinen Reproduktionstraktes nachhaltig beeinträchtigt wird. Folglich sind für das Verständnis und die richtige Interpretation der vorliegenden Ergebnisse weitere Studien erforderlich.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Studie war es histomorphometrische Untersuchungen an den Geschlechtsorganen von weiblichen Ferkeln, die während der letzten Phase der Gravidität und/oder den ersten 21 Tagen post natum mit Zearalenon bzw. dessen Derivaten belastet wurden, durchzuführen. Dadurch sollte untersucht werden, welche Auswirkungen das Mykotoxin auf Cervix, Uterus und Eileiter der Tiere hat, wenn diese indirekt über die Plazenta und/oder das Kolostrum exponiert werden. Dazu wurden die Muttersauen vom 101. Trächtigkeitstag bis drei Wochen post natum Zearalenon ausgesetzt. Außerdem standen Tiere, die als Kontrollgruppe dienten, zur Verfügung. Dieser Versuch wurde zweimal mit unterschiedlichen Dosierungen des Mykotoxins durchgeführt. Im ersten Versuchsabschnitt wurde den Sauen eine hohe Dosis an Zearalenon (ZEA-H) verabreicht, im zweiten Versuchsabschnitt eine niedrigere Dosierung (ZEA-N). Direkt nach der Geburt wurden die weiblichen Ferkel zwischen Zearalenon-exponierten (ZEA-H bzw. ZEA-N) und Kontrolltieren (KON-H bzw. KON-N) ausgetauscht. Durch diesen gezielten Wurfaustausch konnten pro Versuchsabschnitt vier Ferkelgruppen generiert werden. Gruppe 1 wurde somit prä- und postnatal, Gruppe 2 postnatal, Gruppe 3 pränatal und Gruppe 4 zu keinem Zeitpunkt Zearalenon ausgesetzt. Die Ferkel wurden 21 Tage post natum euthanasiert und deren Geschlechtsorgane entnommen. Die separierten Genitaltrakte wurden daraufhin mit Formalin fixiert. Anschließend wurden von Cervix, Uterus und Eileiter nach der Einbettung in Paraffin Gewebeschnitte angefertigt, die nach Färbung mit Hämatoxylin-Eosin und Masson-Goldner Trichrom histologisch untersucht wurden.

Folgende relevanten Ergebnisse konnten erzielt werden:

An der Cervix der Ferkel konnten histologisch in beiden Versuchsabschnitten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Die Untersuchung des Uterus ergab, dass die Dicke des Myometriums bei hoher ZEA-Konzentration im ersten Versuchsabschnitt zwischen den Tieren der Gruppe 1 und der Gruppe 3 sowie der Gruppe 1 und der Kontrollgruppe sich signifikant unterscheidet. Dabei weist die durchgehend mit ZEA belastete Gruppe eine geringere Dicke als die Kontrollgruppe auf. Im zweiten Versuchsabschnitt konnten bei niedriger ZEA-Konzentration am Uterus für die Dicke des Epithels des Stromas, des Myometriums und der Serosa keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Gleiches gilt für die Anzahl der

Uterindrüsen. Hingegen ergab die Vermessung des Drüsenepithels, dass die Tiere aus den Gruppen 1, 2 und 3 durchschnittlich ein höheres Drüsenepithel aufweisen als die Tiere der Kontrollgruppe. Insbesondere besteht ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Tieren der Gruppe 3 und den Ferkeln der Kontrollgruppe. Histologisch konnten für alle am Eileiter erhobenen Parameter in beiden Versuchsabschnitten keine statistisch signifikanten Unterschiede gefunden werden. Nach der Belastung mit hohen ZEA-Konzentrationen im ersten Versuchsabschnitt zeigen sich für die Epitheldicke der Cervix und die Anzahl der Bindegewebszellen des Uterus sowie für verschiedene andere am Uterus erhobene Parameter signifikante Korrelationen. Am Eileiter konnten ebenfalls zwischen den verschiedenen erhobenen histologischen Parametern signifikante Korrelationen in den verschiedenen Gruppen nachgewiesen werden. Im zweiten Versuchsabschnitt, in dem die Tiere einer niedrigeren ZEA-Konzentration ausgesetzt wurden, ergeben sich in den vier verschiedenen Gruppen ebenfalls signifikante Korrelationen zwischen den erhobenen histologischen Parametern an Cervix, Uterus und Eileitern. Im Unterschied zur hohen ZEA-Konzentration konnten in diesem Versuchsabschnitt wesentlich häufiger negative Korrelationen festgestellt werden.

Im übergreifenden Vergleich beider Versuchsabschnitte zeigte sich eine signifikant niedrigere Uterusepitheldicke bei Verfütterung geringerer ZEA-Konzentrationen. Dagegen ist die Dicke des Myometriums und der Serosa im zweiten Versuchsabschnitt signifikant höher. Das gleiche gilt für die Dicke des Epithels der Uterindrüsen. Die Anzahl der Primärzotten im Eileiter ist in den belasteten Ferkelgruppen bei niedriger ZEA-Konzentration signifikant erhöht. Dies gilt in Gruppe 1 und 2 ebenfalls für die Anzahl der Sekundärzotten. Somit zeigt sich kein einheitliches Bild, da einige Parameter bei höherer Exposition verändert sind und andere bei niedriger. Einzig in der ersten Versuchsgruppe, welche prä- und postnatal mit Zearalenon belastet wurde, konnten in beiden Versuchsabschnitten positive Korrelationen zu dem Parameter Drüsenanzahl festgestellt werden. Die Drüsenanzahl korreliert positiv mit den Parametern Dicke von Lamina propria mucosae, Myometrium und der Serosa.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass eine perinatale Exposition von weiblichen Ferkeln mit dem Mykotoxin Zearalenon konzentrationsabhängig zu histologischen Veränderungen an den Geschlechtsorganen Cervix, Uterus und Eileitern führt.

## 7 SUMMARY

The objective of this study was the histomorphometric examination of the sexual organs of female piglets which had been administered zearalenone or a derivative of zearalenone during the last phase of pregnancy and/or during the first 21 days post natum. The aim was to analyse the effect of the mycotoxin on the cervix, uterus and uterine tubes after indirect exposure via the placenta and/or the colostrum. Mothering sows were exposed to zearalenone from the 101st day of gestation to three weeks post natum. In addition there was a control group of animals. There were two phases to the investigation, carried out with different doses of the mycotoxin. In the first phase the sows were administered a high dose of zearalenone (ZEA-H), in the second phase a lower dose (ZEA-N). Immediately after birth, the female piglets were allocated to either zearalenone exposed groups (ZEA-H or ZEA-N) or the control groups (KON-H or KON-N). This controlled litter exchange generated four groups of piglets for each phase. Group 1 was exposed to zearalenone pre and postnatally, group 2 postnatally, group 3 prenatally whereas group 4 was not exposed to zearalenone at any time. The piglets were euthanized 21 days post natum and their sexual organs removed. The separated genital tracts were fixated in formalin. The cervix, uterus and uterine tubes were embedded in paraffin, tissue sections cut and stained with haematoxylin/eosin and Masson Goldner Trichrom and then these were histologically examined.

The following results were obtained:

No significant histological difference was found between the cervixes of the piglets in the two investigation phases. Examination of the uteruses showed a significant difference between the thickness of the myometrium between the animals of group 1, which during the first phase of the study were administered the higher ZEA concentration and group 3 and also between group 1 and the control group. The group which had been continually subjected to ZEA showed a thinner thickness than the control group. In the second phase of the study and the lower ZEA concentration, no significant differences were found in the thickness of the stroma epithelium, the myometrium and the serosa. Similarly there was no significant difference in the number of uterine glands. However, measurement of the gland epithelium indicated that the animals of groups 1, 2 and 3 on average had a higher gland epithelium than the animals of the control group. In fact there was a statistically significant difference

between the animals of group 3 and the piglets of the control group. Histologically none of the parameters investigated for the uterine tubes showed a statistically significant difference between the two investigation phases.

Higher ZEA concentration exposure in the first phase of the investigation produced a significant correlation with the thickness of the cervix epithelium, the number of tissue cells of the uterus and various other histological parameters measured for the uterus. Significant correlations were also indicated for the various histological parameters measured for the uterine tubes. In the second phase, during which the animals were subjected to a lower ZEA concentration, there were again significant correlations between the histological parameters measured for the cervix, uterus and uterine tubes in the four groups. However, in contrast to the higher ZEA concentration phase, this investigation phase showed considerably more negative correlations.

Comparison of the two study phases showed an overall significantly reduced thickness of the uterus epithelium for animals fed lower ZEA concentrations. In contrast, the thickness of the myometrium and the serosa was significantly higher in the second phase of the investigation. The same applies to the thickness of the epithelium of the uterine glands. The number of primary villi in the uterine tubes was significantly increased for the piglet groups administered the lower ZEA concentrations. This was also the case for the number of secondary villi for the groups 1 and 2. Thus there was a mixed picture as some of the parameters were affected by greater exposure and others by a lower exposure. It was solely in the first investigation phase group subjected to zearalenone both pre and postnatally that a positive correlation to the parameter of gland number was found in both investigation phases. The number of glands correlated positively to the parameters thickness of the lamina propria mucosae, myometrium and the serosa.

In summary, it can be said that perinatal exposure of female piglets to the mycotoxin zearalenone leads to histological changes to the sexual organs cervix, uterus and uterine tubes which are dependent on the concentration of the mycotoxin zearalenone.

**8 LITERATURVERZEICHNIS**

Bamberg E. Chemie, Biochemie und Nachweis der Steroidhormone. In: Döcke F, Hrsg. Veterinärmedizinische Endokrinologie. 3. Auflage, Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1994: 31-40.

Bagnell CA, Yan W, Wiley AA, Bartol FF. Effects of Relaxin on Neonatal Porcine Uterine Growth and Development. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1041: 248-255.

Bal HS, Getty R. Postnatal growth of the uterus from birth to six months. *Growth.* 1970; 34: 15-30.

Bartol FF, Wiley AA, Spencer TE, Vallet JL, Christenson RK. Early uterine development in pigs. *J Reprod Fertil.* 1993; 48 Suppl: 99-116.

Bartol FF. The female reproductive system: Targets for toxicants. *Society for Theriogenology/American College of Theriogenology Symposia Proceedings.* 2002; 427-436.

Bate LA, Hacker RR. Estrogens and piglet viability. I. Serum estrogen concentrations in piglets. *J Anim Sci.* 1982; 54(5): 1012-6.

Bauer J. Mykotoxikosen in der tierischen Produktion – Bedeutung und Diagnose. Berlin, München: Tierärztl Wschr. 1982; 95: 301-307

Bauer J. Fruchtbarkeitsstörungen durch Mykotoxine. Vortrag 1. Wochenseminar Großtierpraxis. 2.- 9. Mai 1993, Rotenburg/Fulda.

Bauer J, Gedek B. Mykotoxikosen beim Schwein. *Prakt Tierarzt.* 1978; 59: 780-785.

Bauer J, Heinritzi K, Gareis M, Gedek B. Veränderungen am Genitaltrakt des weiblichen Schweines nach Verfütterung praxisrelevanter Zearalenonmengen. Tierärztl Prax. 1987; 15(1): 33-6.

Beato M, Arnemann J, Chalepakis G, Slater E, Willmann T. Gene regulation by steroid hormones. J Steroid Biochem Mol Biol. 1987; 27(1-3): 9-14.

Beck R, Lepschy J, Obst A. Gefahr aus der Maisstoppel. DLG-Mitteilungen. 1997; 5: 34-8.

Beiling K. Beiträge zur makroskopischen und mikroskopischen Anatomie der Vagina und des Uterus der Säugetiere. [Dissertation med. vet.]. Dresden. 1906.

Berg R. In: Koch T, Berg R.: Lehrbuch der Veterinär-Anatomie, Band 2, Eingeweidelehre. 4. Auflage, Gustav Fischer Verlag Jena; 1990.

Bhatnagar D, Yu J, Ehrlich KC. Toxins of filamentous fungi. Chem Immunol. 2002; 81: 167-206.

Biehl ML, Prelusky DB, Koritz GD, Hartin KE, Buck WB, Trenholm HL. Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. Toxicology and Applied Pharmacology. 1993; 121: 152-159.

Böck P. Romeis-Mikroskopische Technik. 17. Auflage, München, Wien: Verlag Urban und Schwarzenberg; 1989.

Böhm J. Fusarientoxine und ihre Bedeutung in der Tierernährung. Übers. Tierernährung. 2000; 28: 95-132.

Bojar H. Rezeptortheorie, Rezeptoranalytik, Möglichkeit der Therapie von Tumoren mit Steroidhormonen. Onkologische Diagnostik. 1988: 3-10.

Boyens B. Zu den Effekten einer Zearalenonbelastung bei präpubertären Schweinen auf Uterusgewicht und renale Zearalenonausscheidung sowie protektiven Kapazitäten eines Zeolithzusatzes [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 2001.

Braune S. Untersuchungen zum Eintritt der Geschlechtsreife bei weiblichen Schweinen und Möglichkeiten der biotechnischen Beeinflussung. [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ Leipzig; 1975.

Brenner RM, West NB. Hormonal regulation of the reproductive tract in female mammals. *Annu Rev Physiol.* 1975; 37: 273.

Cárdenas H, Pope WF. Attenuation of estrogenic effects by dihydrotestosterone in the pig uterus is associated with downregulation of the estrogen receptors. *Biol Reprod.* 2004; 70: 297-302.

Carpino A, Bilinska B, Siciliano L, Maggiolini M, Rago V. Immunolocalization of estrogen receptor beta in the epididymis of mature and immature pigs. *Folia Histochem Cytochem.* 2004; 42(1): 13-7.

Cassidy A, Faughnan M. Phyto-oestrogens through the life cycle. *Proceedings of the Nutrition Society* 2000; 59: 489-496.

Celius T, Haugen TB, Grotmol T, Walther BT. A sensitive zonagenetic assay for rapid in vitro assessment of oestrogenic potency of xenobiotics and mycotoxins. *Environ Health Perspect.* 1999; 107: 63-69.

Chang HL, Kurtz JH, Mirocha CJ. Effects of the mycotoxin zearalenone on swine reproduction. *Am J Vet Res.* 1979; 40: 1260-1267.

Christensen RK, Bartol FF, Vallet JL, Wiley AA, Spencer TE. Comparative study of uterine morphogenesis and protein secretion in neonatal White crossbred and Meishan gilts. *Biol Reprod.* 1997; 56: 1112-1129.

Christensen CM, Nelson GH, Mirocha CJ. Effect on the white rat uterus of a toxic substance isolated from fusarium. *Appl Microbiol.* 1965; 13: 653-9.

Clark JH, Schrader WT, O'Malley BW. Mechanisms of steroid hormone action. In: Wilson JD, Foster DW (eds.), *Textbook of endocrinology*. Philadelphia: WB Saunders. 1985: 33-75.

Cooper RL, Kavlock RJ. Endocrine disruptors and reproductive development: a weight of evidence overview. *Journal of Endocrinology* 1997; 152: 159-166.

Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev.* 1999; 20: 358-417.

Cunha GR. Stromal induction and specification of morphogenesis and cytodifferentiation of the epithelia of the Mullerian ducts and urogenital sinus during development of the uterus and vagina in mice. *L Exp Zool.* 1976; 196: 361-370.

Cunha GR, Forsberg JG, Golden R, Haney A, Iguchi T, Newbold R, Swan S, Welshons W. New approaches for estimating risk from exposure to diethylstilbestrol. *Environmental Health Perspectives* 1999; 107: 625-630.

Dänicke S, Valenta H, Ueberschär KH. Risikoabschätzung und Vermeidungsstrategien bei der Fütterung. In: Dänicke S, Oldenburg E, Hrsg. *Risikofaktoren für die Fusariumtoxinbildung in Futtermitteln und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung und Fütterung*. Sonder-heft Nr. 216, *Landbauforschung Völkenrode*; 2000: 35-139.

Dänicke S, Gareis M, Bauer J. Orientation values for critical concentrations of deoxynivalenol and zearalenone in diets for pigs, ruminants and gallinaceous poultry. *Proc Soc Nutr Physiol.* 2001;10:171-174.

Dänicke S, Brüssow K-P, Goyarts T, Valenta H, Ueberschär K-H, Tiemann U. On the transfer of the Fusarium toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEA) from

the sow to the full-term piglet during the last third of gestation. *Food Chem Toxicol.* 2007;45:1565-1574.

Danzo BJ. The effects of environmental hormones on reproduction. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54: 1249-1264.

D'Mello JPF, MacDonalds AMC. Mycotoxins. *Anim Feed Sci Technol.* 1997; 69: 155-166.

Diekman MA, Green ML. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J Anim Sci.* 1992;70:1615-1627.

Döcke F. Untersuchungen zur Uteruskontraktilität beim Rind. *Arch exper Vet med.* 1962; 16: 1205-1307.

Döcke F. Keimdrüsen. In: Döcke F, Hrsg. *Veterinärmedizinische Endokrinologie.* 3. Auflage, Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1994: 426-444.

Döll S, Dänicke S, Schnurrbusch U. The effect of increasing concentrations of fusarium toxins in piglet diets on histological parameters of the uterus and vagina. *Arch Anim Nutr.* 2004; 58(5): 413-417.

Döll S, Dänicke S, Ueberschär K-H, Valenta H, Schnurrbusch U, Ganter M, Klobasa F, Flachowsky G. Effects of graded levels fusarium toxin contaminated maize in diets for female weaned piglets. *Arch Anim Nutr.* 2003; 57(5): 311-334.

Drochner W. Aktuelle Aspekte zur Wirkung von Phytohormonen, Mycotoxinen und ausgewählten schädlichen Pflanzeninhaltsstoffen auf die Fruchtbarkeit beim weiblichen Rind. *Übers Tierernährg.* 1990; 8: 177-196.

Drochner W. Mykotoxine von Feldpilzen in der Schweinehaltung, Vorkommen und Auswirkungen auf Leistung und Gesundheit. *Mycosorb. Mykotoxin Vortrags-Veranstaltung.* 1998;11-16.

Dyck GW, Swierstra EE. Growth of the reproductive tract of the gilt from birth to puberty. *Can J Anim Sci.* 1983; 63: 81-87.

Enari TM, Ilus T, Niku-Paavola ML, Nummi M, Ylimäki A, Koponen H. Formation of Fusarium metabolites in barley grain. *European J Appl Microbiol Biotechnol.* 1981; 11: 241-243

Endell W, Holtz W, Smidt D. Makro- und mikromorphologische Veränderungen der Cervix uteri des Schweines im Stadium der hohen Gravidität. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 1976; 86: 349-354.

Enders C. Zur Analytik von Zearalenon,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zearalenol in Material pflanzlichen und tierischen Ursprungs. [Dissertation med. vet.]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1984

Enmark E, Gustafsson JA. Oestrogen receptors - an overview. *J Intern Med.* 1999; 246: 133-138.

Erices J, Schnurrbusch U. Die Entwicklung des Uterus des Schweines von der Geburt bis zum Alter von 8 Monaten. *Arch Exp Veterinärmed.* 1979;3:457-473.

Eriksen GS, Alexander J. Fusarium toxins in cereals- a risk assessment. Copenhagen: Nordic Council of Ministers; 1998.

Etienne M, Jemmali M. Effects of zearalenone (F2) on estrous activity and reproduction in gilts. *J Anim Sci.* 1982; 55: 1-10.

Farnworth ER, Trenholm HL. The metabolism of the mycotoxin zearalenone and its effects on the reproductive tracts of young male and female pigs. *Can J Anim Sci.* 1983; 63: 967-975.

Flowers B, Cantley T, Day BN. A comparison of effects of zearalenone and estradiol benzoate on reproductive function during the estrus cycle in gilts. *J Anim Sci.* 1987; 65: 1576-1584.

Fitzpatrick DW, Picken CA, Murphy LC, Buhr MM. Measurement of the relative binding affinity of zearalenone, alpha-zearalenol and beta-zearalenol for uterine and oviduct estrogen receptors in swine, rats and chickens: an indicator of estrogenic potencies. *Comp Biochem Physiol.* 1989; 94C: 691-694.

Friend DW, Trenholm HL, Thompson BK, Hartin KE, Fiser PS, Asem EK, Tsang BK. The reproductive efficiency of gilts fed very low levels of Zearalenone. *Can J Anim Sci.* 1990; 70: 635-645.

Galand P, Leroy F, Chretien J. Effect of oestradiol on cell proliferation and histological changes in the uterus and vagina of mice. *J Endocrinol.* 1971; 49: 243-2521.

Gareis M, Bauer J, Thiem J, Plank G, Grabley S, Gedek B. Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. *Zentralbl Veterinarmed (B).* 1990;37(3):236-240.

Gedek B. *Kompendium der medizinischen Mykologie.* Berlin, Hamburg: Verlag Paul Parey; 1980.

Gedek B. *Fusarienbesatz und Mykotoxinbelastung der Grundfuttermittel.* DLG-Forschungsbericht über Tierernährung; 1985.

Goll M, Gareis M. Mykotoxikosen und Störungen der Fruchtbarkeit. *Proc. 3. Bernburger Biotechnik-Workshop.* 1997;55-59.

Gollub I. Die Untersuchung auf das Vorkommen des Mykotoxins Zearalenon in Schweinefuttermitteln und -kot sowie der Zusammenhang zwischen Toxingehalt in Futtermitteln, klinischen Hyperöstrogenismussymptomen und pathologischen Veränderungen an Uterus.

[Dissertation med. vet.]. Berlin: Freie Universität Berlin. Tierärztliche Ambulanz; 1987.

Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, Wiley AA, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. Developmental biology of uterine glands. *Biol Reprod.* 2001; 65: 1311-1323.

Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, et al. Human estrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature.* 1986; 320(6058): 134-139.

Greene GL, Gilna P, Waterfield M, Baker A, Hort Y, Shine J. Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science.* 1986;231(4742):1150-1154.

Guichon-Mantel A, Delabre K, Lescop P, Milgrom E. Intracellular traffic of steroid hormone receptors. *J Steroid Biochem Molec Biol.* 1996; 56: 3-9.

Guichon-Mantel A, Lescop P, Christin-Maitre S, Loosfelt H, Perrot-Appianat M, Milgrom E. Nucleocytoplasmic shuttling of the progesterone receptor. *EMBO J.* 1991;10(12): 3851-3859.

Guillette LJ, Jr., Guillette EA. Environmental contaminants and reproductive abnormalities in wildlife: implications for public health? *Toxicol Ind Health.* 1996; 12: 537-550.

Habermehl G. Die Bedeutung von Mykotoxikosen für Mensch und Tier. *Dtsch tierärztl Wschr.* 1989;96:335-338.

Hadek R, Getty R. The changing morphology in the uterus of the growing pig. *Am J Vet Res.* 1959; 20: 573-577.

Halama AK. Mykotoxikosen bei Nutztieren und ihre Bekämpfung. *Wien tierärztl Mschr.* 1982; 69: 308-314.

Heinonen W. Anatomische und histologische Untersuchungen über die Cervix uteri von sus scrofa [Dissertation med. vet.] Leipzig: Univ. Leipzig; 1914.

Hilakivu-Clarke L, Cho E, Clarke R. Maternal genistein exposure mimics the effects of estrogen on mammary gland development in female mouse offspring. *Oncol Rep.* 1998; 5: 609-616.

Hörügel K, Vergara H. Einfluss einer Fusarientoxin-Verabreichung während der Jungsauenaufzucht auf das Wachstum und den Pubertätseintritt. *Prakt Tierarzt.* 2003;84(8): 611-614.

Hoyer PB. Reproductive toxicology: current and future directions. *Biochem Pharmacol.* 2001; 62: 1557-1564.

Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicol.* 2001;167:101-134.

Jansen RPS. Cyclic changes in the human Fallopian tube isthmus and their functional importance. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;136:292-308.

Jungnickel M, Schurrbusch U, Bauer J. Macroscopical and histological investigation of ovaries and uteri of gilts and sows culled for infertility considering the influence of zearalenone and its derivatives. *Reprod Dom Anim.* 1997; 32: 114.

Kaeoket K, Persson E, Dalin AM. The sow endometrium at different stages of the oestrus cycle: Studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim Reprod Sci.* 2002;73:89-107.

Kaeoket K, Tantasuparuk W, Kunavongkrit A. The effect of post-ovulatory insemination on the subsequent embryonic loss, oestrus cycle length and vaginal discharge in sows. *Reprod Domest Anim.* 2005;40(5):492-494.

Kano K, Hiro-Oka R, Miyano T, Kato S. Morphological and histological development of the ovary and uterus in Jinhua pigs. *Anim Sci and Techn.* 1993;64:1060-1069.

Karlson P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie: für Mediziner u. Naturwissenschaftler. 11. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1980.

Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA, Mordecai D. Zearalenones: characterization of the estrogenic potencies and receptor interactions of a series of fungal  $\beta$ -resorcylic acid lactones. *Endocrinology*. 1979; 105: 33-40.

Kiang DT, Kennedy BJ, Pathre SV, Mirocha CJ. Binding characteristics of zearalenone analogs to estrogen receptors. *Cancer Res*. 1978; 38: 3611-3615.

Kiessling K-H, Petterson H. Metabolism of zearalenone in rat liver. *Acta Pharmacol Tox*. 1978;43:285-290.

Kleinen V. Histologische Untersuchung zum speziesspezifischen regionalen Aufbau der Zervix. [Dissertation med. vet]. Gießen: Justus-Liebig-Univ.;2006.

Kollarczik B, Gareis M, Hanelt M. In vitro transformation of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone by the normal gut microflora of pigs. *Nat Toxins*. 1994;2:105-110.

König HE, Liebich HG. Kap. 11: Weibliche Geschlechtsorgane. In: *Anatomie der Haussäugetiere, Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. Band 2, Organe, Kreislauf- und Nervensystem. Stuttgart, New York: Verlag Schattauer; 1999;135-151.

Krebs S. Untersuchung zur alters- und Zyklusabhängigen funktionellen Morphologie der porcinen Zervix. [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig.;2007.

Kuiper GGJM, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93:5925-5930.

Kuiper-Goodman T, Scott PM, Watanabe H. (Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Reg Tox and Pharm*. 1987;7:253-306.

Kurtz HJ, Chang K, Mirocha CJ. Studies on the effects of zearalenone (F2) mycotoxin on swine reproduction. Proc Intern Pig Vet Soc. ed, by Nielsen et al. 1980;291.

Kurtz HJ, Mirocha CJ. Zearalenone induced estrogenic syndrome in swine. In: Wyllie TD and Morehouse LG (ed.): Mycotoxic fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses. An encyclopedic handbook, Vol. 2. Marcel Dekker Inc., New York and Basel. 1978;156-268.

Kurtz HJ, Nairn ME, Nelson GH, Christensen CM, Mirocha CJ. Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. Am J Vet Res. 1969;30:551-356.

Lange H. Neue Untersuchungen zur Vaskularisation des Schweineuterus. [Dissertation med. vet.]. Berlin: Freie Universität Berlin. 1959.

Leiser R, Zimmermann W, Sidler X, Christen A. Normal-zyklische Erscheinungen im Endometrium und am Ovar des Schweines. Tierärztl Prax. 1988;16:261-280.

Leiser R. Weibliche Geschlechtsorgane. In: Mosimann W, Kohler T. (Hrsg.): Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere. 1.Aufl., Berlin, Hamburg: Parey Verlag; 1990;232-248.

Leiser R. Weibliche Geschlechtsorgane. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band 2, Eingeweide. 8. Aufl., Berlin-Wien: Blackwell-Verlag; 1999.

Leitner S, Bucher A, Böhm J, Rosenkranz C. Gewebsspezifische Veränderungen bei geschlechtsreifen Sauen nach Aufnahme von zearalenonhaltigem Futter. Proc 23. Mykotoxin Workshop, Wien. 2001;37-40.

Li S. Relationship between cellular DNA synthesis, PCNA expression and sex steroid hormone receptor status in the developing mouse ovary, uterus and oviduct. Histochem. 1994;102(5):405-413.

Libal U. Histologische Untersuchungen an der Cervix uteri der Sau. [Dissertation arg.]. Göttingen: Univ. Göttingen;1990.

Liebich HG. Kap.14: Weibliche Geschlechtsorgane. In: Funktionelle Histologie, Farbatlas und Kurzlehrbuch der mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere. 3. Aufl., Stuttgart, New York: Verlag Schattauer; 1998;284-302.

Lopez TA, Odriozola ER, Milano GD, Sobredo JC, Donadio LH, Rocco JA. Hyperestrogenism in swine due to natural poisoning with zearalenone. *Rev Argent Microbiol.* 1988;20:119-123.

Luongo D, De Luna R, Russo R, Severino L. Effects of four Fusarium toxins (fumonisin B<sub>1</sub>,  $\alpha$ -zearalenol, nivalenol und deoxynivalenol) on porcine whole-blood cellular proliferation. *Toxicon.* 2008;52:156-162.

Lusky K, Tesch D, Göbel R, Haider W. Gleichzeitige Verabreichung der Mykotoxine Ochratoxin A und Zearalenon über das Futter an Schweine – Einfluss auf Tiergesundheit und Rückstandsverhalten. *Tierärztl Umschau.* 1997;52:212-221.

Malekinejad H, Maas-Bakker R, Fink-Gremmels J. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *Vet J.* 2006;172:96-102.

Marcus G. Mitosis in the rat uterus during the oestrus cycle, early pregnancy, and early pseudopregnancy. *Biol Reprod.* 1974;10:447-452.

Mastel K, Michels K. Dauerbrenner Fusarium. *Landinfo.* 2000;9:9-13.

Matthews J, Celius T, Halgren R, Zacharewski T. Differential estrogen receptor binding of estrogenic substances: a species comparison. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2000;74(4):223-234.

McDonald MF, Belve AR. Influence of oestrogen and progesterone on flow of fluid from the Fallopian tube in the ovariectomized ewe. *J Reprod Fert.* 1970;20:51-61

McLachlan JA, Newbold RR, Burow ME, Li SF. From malformations to molecular mechanisms in the male: three decades of research on endocrine disrupters. *APMIS* 2001;109: 263-272.

Mehlhorn I, Schnurrbusch U, Rittenbach P, Elze K, Erices J, Freysoldt C. Untersuchungen zur Steigerung der Fruchtbarkeitsleistung bei Altsauen. 2. Mitteilung: Ergebnisse histologischer Untersuchungen über den Aufbau des Endometriums von Altsauen während des Zyklus. *Arch Exp Veterinärmed.* 1975;29:679-687.

Menuet A, Pellegrini E, Anglade I, Blaise O, Laudet V, Kah O, et al. Molecular characterization of three estrogen receptor forms in Zebrafish: binding characteristics, transactivation properties, and tissue distributions. *Biol Reprod.* 2002;66:1881-1892.

Meyer K, Usleber E, Märtlbauer E, Bauer J. Occurrence of zearalenone, alpha- and beta-zearalenol in bile of breeding sows in relation to reproductive performance. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2000;113(10):374-379.

Minervini F, Dell'Aquila ME, Maritato F, Minoia P, Visconti A. Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on in vitro maturation of bovine oocytes and 17 $\beta$ -estradiol levels in mural granulosa cell cultures. *Toxicol In Vitro.* 2001;15(4-5):489-495.

Mirocha CJ, Christensen CM. Oestrogenic mycotoxins synthesized by *Fusarium*. IN. I.F.H. Purchase (ED) *Mycotoxins*. Elsevier Co, Amsterdam. 1974;129-148.

Mirocha CJ, Christensen CM, Nelson GH. Physiologic activity of some fungal estrogens produced by *Fusarium*. *Cancer Res.* 1968;28:2319.

Mirocha CJ, Pathre SV, Christensen CM. Chemistry of *Fusarium* and *Stachybotrys* mycotoxins. In: Willie TD. u. Morehouse LG. ( Hrsg.): *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses*. Vol. 1, New York and Basel: Marcel Dekker Inc. 1977; 365-420.

Mirocha CJ, Pathre SV, Robinson TS. Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. *Food Cosmet Toxicol.* 1981;19:25-30.

Mossmann HA. *Vertebrate Fetal Membranes.* New Brunswick, NJ: Rutgers University Press; 1987

Muramatsu M, Inoue S. Estrogen receptors: how do they control reproductive and non-reproductive functions? *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;270:1-10.

Nijs de M, Soentoro P, Delfgou-van Asch E, Kamphuis H, Rombouts FM, Notermans SHW. Fungal infection and presence of Deoxynivalenol and Zearalenone in cereals grown in the Netherlands. *J of Food Protection.* 1996;59: 772-777.

Nielsen M, Bøgh IB, Schmidt M. Immunohistochemical localization of estrogen receptor- $\alpha$  in sex ducts and gonads of newborn piglets. *Histochem Cell Biol.* 2001;115: 521-526.

Nilsson R. Endocrine modulators in the food chain and environment. *Toxicol Pathol.* 2000; 28: 420-431.

Oldenburg E, Valenta H, Sator C. Risikoabschätzung und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung. In: Dänicke S, Oldenburg E, Hrsg. Risikofaktoren für die Fusariumtoxinbildung in Futtermitteln und Vermeidungsstrategien bei der Futtermittelerzeugung und Fütterung. Sonderheft Nr. 216. *Landbauforschung Völkenrode;* 2000:5-34.

Olsen M, Malmlof M, Petterson H, Sandholm H, Kiessling K-H. Plasma and urinary levels of zearalenone and  $\alpha$ -zearalenol in a prepubertal gilt fed zearalenone. 1985; 56:239-243.

Olsen M. Metabolism of zearalenone in farm animals. In: Chelowski J. (Edit.): *Fusarium-mycotoxins, taxonomy and pathogenicity* Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, Oxford. 1989;2:167-177.

Osweiler GD. Contemporary Issues of Food Animal Health and Productivity. *Fd Anim Pract.* 2000;16:511-544.

Olsen M, Pettersson H, Kiessling KH. Reduction of zearalenone to zearalenol in female rat liver by 3 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh).* 1981;48:157-161.

Paech K, Webb P, Kuiper GGJM, Nilsson S, Gustafsson JA, Kushner PJ et al. Differential ligand activation of estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$  at AP1 sites. *Science.* 1997;277:1508-1510.

Pathre SV, Mirocha CJ. Zearalenone and related compounds. *Adv Clin Chem.* 1976;149:179-227.

Pestka JJ, Smolinski AT. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *Toxicol Environ. Health B Crit Rev.* 2005;8(1):39-69.

Palyusik M, Harrach B, Mirocha CJ, Pathre SV. Transmission of Zearalenone into porcine milk. *Acta vet Acad Sci Hung.* 1980;29:217-222.

Plonait H. Fortpflanzungsphysiologie und Gynäkologie der Sau. In: Plonait H, Bickardt K. (Hrsg.): *Lehrbuch der Schweinekrankheiten.* 2. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag; 1997. S. 399-466.

Prunier A, Bonneau M, Etienne M. Effects of age and live weight on the sexual development of gilts and boars fed two planes of nutrition. *Reprod Nutr Develop.* 1987;27:689-700.

Reischauer A. Zearalenonintoxikation bei prämaturnen weiblichen Schweinen – Ist die Pathologie ein Hilfsmittel bei der Diagnosestellung? [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ Leipzig; 2006.

Reiß J. *Schimmelpilze.* 2. Aufl. Berlin, London: Springer Verlag; 1998.

Reutler M. Mykotoxingehalte in Getreide und Futtermitteln. SchleswigHolstein – Erhebung 2001. Mycotoxin Res. 2001;1:35-38.

Rigby JP. The cervix of the sow during oestrus. Vet Record. 1967;80:672-675.

Romeis B. Kap. 8.2.5.1: Färben der Schnitte – Doppelfärbung mit H & E. In: Romeis (Hrsg.). B. Mikroskopische Technik. 17 Aufl., Urban & Schwarzenberg, München, 1989;235.

Röber C. Anatomische und histologische Untersuchungen über die Cervix uteri von Equus caballus, Equus asinus und Ovis aries. [Dissertation med. vet] Leipzig: Universität-Leipzig;1914.

Ruhr LP, Osweiler GO, Foley CW. Effect of the estrogenic mycotoxin zearalenone on reproductive potential in the boar. Am J Vet Res. 1983;44:483-485.

Safe S, Wang F, Porter W, Duan R, McDougal A. Ah receptor agonists as endocrine disruptors: antiestrogenic activity and mechanisms. Toxicol Lett. 1998; 102-103:343-347.

Saji S, Jensen EV, Nilsson S, Rylander T, Warner T, Gustafsson JA. Estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in the rodent mammary gland. Med Sci. 2000;97(1):337-342.

Salloch RR. Wirkungen auf Morphologie und Motilität der Uterusmuskulatur. In: Junkmann K. (Hrsg.): Die Gestagene, Teil 2, Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag; 1969:285-313.

Sandor G, Vanyi A. Mycotoxin research in the hungarian central veterinary institute. Acta Vet Hun. 1990;38:61-68.

Schilling E, Cerne F. Die Reaktionsfähigkeit des Ovars von präpuberalen und geschlechtsreifen Jungsauen auf ein PMS/HCG-Präparat. Zuchthygiene. 1973;8:49-54.

Schnurrbusch U. Fruchtbarkeitsstörungen bei der Sau - Mykotoxine können die wesentliche Ursache sein. DGS Magazin. 1999;44-47.

Schütz G. Tenth Adolf Butenandt lecture. Control of gene expression by steroid hormones. Biol Chem Hoppe Seyler. 1988;369(2):77-86.

Schummer A, Vollmerhaus B. Weibliche Geschlechtsorgane des Schweines. In: Habermehl K-H, Vollmerhaus B, Wilkens H, editors. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. 7. Auflage, Berlin, Wien: Blackwell Wissenschafts-Verlag; 1995.

Segnitz B, Gehring U. Subunit structure of the nonactivated human estrogen receptor. Proc Natl Acad Sci. 1995;92:2179-83.

Sharara FI, Seifer DB, Flaws JA. Environmental toxicants and female reproduction. Fertil Steril. 1998; 70:613-622.

Sherwood OD. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. Endocr Rev. 2004;25(2):205-234.

Shier WT, Shier AC, Xie W, Mirocha CJ. Structure-activity relationships for human oestrogenic activity in zearalenone mycotoxins. Toxicol. 2001;39:1435-1438.

Shughrue PJ, Askew GR, Dellovade TL, Merchenthaler I. Estrogen-binding sites and their functional capacity in estrogen receptor double knockout mouse brain. Endocrinology. 2002;143(5):1643-1650.

Shughrue PJ, Lane MV, Serimo PJ, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor- $\alpha$  (ER $\alpha$ ) and  $\beta$  (ER $\beta$ ). Steroids. 1998;63(10):498-504.

Škrinjar M, Stubbenfield RD, Stojanovic E, Dimic G. Occurrence of Fusarium species and Zearalenone in dairy cattle feeds in Vojvodina. Acta Vet Hun. 1995;43:259-267.

Smith CL. Estrogens, Overview. In: Knobil E, Neill JD, Hrsg. Encyclopedia of Reproduction. Volume 2. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press. 1998;119-126.

Smollich A, Michel G. Mikroskopische Anatomie der Haustiere. 1. Aufl., Jena: Fischer. 1992;281-354.

Spencer TE, Bartol FF, Wiley AA, Coleman DA, Wolfe DF. Neonatal porcine endometrial development involves coordinated changes in DNA synthesis, glycosaminoglycan distribution, and <sup>3</sup>H-glucosamine labeling. Biol Reprod. 1993;48:729-740.

Stein M. Mykotoxine im Schweinefutter: ein Problem von ungeahnter Tragweite. Der fortschrittliche Landwirt. 2000;4:17-20.

Stob M, Baldwin RS, Tuite J, Andrews FN, Gillette KG. Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Giberella zeae*. Nature. 1962;196:1318.

Stolla R, Bauer J, Gedek B. Spermabeschaffenheit beim Eber nach Verfütterung des Mykotoxins Zearalenon. Zuchthyg. 1987;22:165-172.

Tarleton BJ, Wiley AA, Bartol FF. Endometrial Development and Adenogenesis in the Neonatal Pig: Effects of Estradiol Valerate and the Antiestrogen ICI 182, 780. Biol Reprod. 1999;61:253-263.

Tarleton BJ, Wiley AA, Spencer TE, Moss AG, Bartol FF. Ovary-independent estrogen receptor expression in neonatal porcine endometrium. Biol Reprod. 1998;58(4):1009-1019.

Tiemann U, Viergutz T, Jonas L, Schneider F. Influence of the mycotoxins  $\alpha$ - and  $\beta$ -zearalenol and deoxynivalenol on the cell cycle of cultured porcine endometrial cells. Reprod Toxicol. 2003;17:209-218.

Tollefsen KE. Interaction of estrogen mimics, singly and in combination, with plasma sex steroid-binding proteins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat Toxicol.* 2002;56:215-225.

Trautmann A. Anatomisches und Histologisches über die Cervix uteri. *Archiv f wissenschaft u prakt Tierheilkunde.* 1917;43:239-261.

Ueno Y, Kobayashi T. Species differences in zearalenone-reductase activity. *Fd Chem Toxic.* 1983;21(2):167-173.

Ueno Y, Yagasaki S. Toxicological approaches to the metabolites of Fusaria X. Accelerating effect of zearalenone on RNA and protein synthesis in the uterus of ovariectomized mice. *Jpn J Exp Med.* 1975;45(3):199-205.

Urry WH, Wehrmeister HL, Hodge EB, Hidy PH. The structure of zearalenone. *Tetrahedon Lett.* 1966;27:3109-3114.

Vanyi A, Bata A, Glavitis R, Kovacs F. Perinatal oestrogen syndrome in swine. *Acta vet Hung.* 1994;42:433-446.

Wähner M, Schlegel W, Heinze A. Vergleichende Untersuchungen zu einigen Fruchtbarkeitsparametern im 1. und 2. Östrus nach biotechnischer Pubertätsinduktion von Jungsauen. *Mh Vet Med.* 1981;36:446-448.

Warner M, Saji S, Gustafsson JA. The normal and malignant mammary gland: a fresh look with ER $\beta$  on board. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2000;5(3):289-294.

Weihua Z, Saji S, Mäkinen S, Cheng G, Jensen EV, Warner M, et al. Estrogen receptor (ER)  $\beta$ , a modulator of ER $\alpha$  in the uterus. *Dev Biol.* 2000;97(11):5963-5941.

Westermayer H. Untersuchung über die Struktur der Längsmuskelschichten im Uterus des Schweins und ihre funktionelle Bedeutung [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilian Univ.; 1988.

Wu JJ, Geimonen E, Andersen J. Increased expression of estrogen receptor  $\beta$  in human uterine smooth muscle at term. *Europ J Endocrinol.* 2000;142:92-99.

Wyllie TD, Morehouse CG. Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicosis. Vol. 2: Mycotoxicosis of domestic and laboratory animals, poultry and aquatic invertebrates and vertebrates. Marcel Dekker Inc. New York-Basel. 1978.

Yan W, Wiley AA, Bartol FF, Bagnell CA. Tissue-specific effects of relaxin on the reproductive tract of neonatal gilts. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1041:132-135.

Yaniz JL, Lopez-Gatius F, Hunter RHF. Scanning electron microscopic study of the functional anatomy of the porcine oviductal mucosa. *Anat Histol Embryol.* 2006;35:28-34.

Yoneda Y. Nucleocytoplasmic protein traffic and its significance to cell function. *Genes Cells.* 2000;5:777-787.

Yoshizawa T. Fusarium metabolites other than trichothecenes. In: Ueno Y. (Edit.): *Trichothecenes-Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Development in Food Science 4.* Amsterdam: Elsevier Science Publisher BV. 1983.

Zerobin K. Untersuchungen über die Uterusmotorik des Schweines. *Zbl Vet-Med. A* 15.1968;740-798.

## **DANKSAGUNG**

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Wehrend und Herrn Prof. Dr. J. Kauffold für die Überlassung dieses sehr interessanten und lehrreichen Themas und die hervorragende Betreuung bei der Anfertigung dieser Arbeit. Beide haben durch die sehr schnell durchgeführten Korrekturen, die stetige Motivation zum zügigen Arbeiten und die stets fachliche und geduldige Unterstützung wesentlich zur Abfassung beigetragen.

Ferner gebührt mein Dank der Arbeitsgemeinschaft Industrieller Forschungsvereinigungen „Otto von Guericke“ e. V. für die Unterstützung meines Dissertationsvorhabens. Die finanzielle Förderung ermöglichte es mir diese Arbeit in weitgehend finanzieller Unabhängigkeit anzufertigen.

Vielen Dank an Frau Katharina Stephan für die gute Zusammenarbeit während des praktischen Teils dieser Arbeit auf dem Ferkelerzeugerbetrieb Mörsdorfer Agrar GmbH in Thüringen. Ebenso gilt mein Dank den Mitarbeitern dieses Betriebes, die uns während der insgesamt vier Monate mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. M. Wähner, Herrn Prof. Dr. F. Schmoll und Frau Dr. Sattler für die praktische Hilfe während der Probengewinnung.

Bei Herrn Richter möchte ich mich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung bedanken.

Weiterhin danke ich Frau Grohmann für die große Hilfe und Unterstützung bei der histologischen Labortätigkeit.

Ein herzliches Dankeschön an meine Mitdoktoranden und Freunde aus Gießen Katharina, KP, Katrin, Gesa, Julia und Tina. Dank eurer zahlreichen fachlichen und freundschaftlichen Ratschläge konnten auch schwere Phasen gemeistert werden und unsere gemeinsame Zeit in Gießen wird mir immer in allerbesten Erinnerung bleiben.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, die immer an mich glaubt und mich in jeder erdenklichen Art und Weise liebevoll, motivierend und tatkräftig unterstützt.

Vielen Dank!!

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Dina Knauf



HO



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5780-0



9 783835 195780