

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

**Untersuchungen zur Involution der  
Vagina und Zervix beim Rind *post partum*  
unter Berücksichtigung der  
Zervix als Geburtshindernis**

Habilitationsschrift  
vorgelegt dem Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität

von Dr. med. vet. Axel Wehrend aus Engelau

Gießen 2003

Verlag: DVG Service GmbH

## **Bibliografische Informationen der Deutschen Bibliothek**

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie;  
Detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Auflage 2003

© 2003 by Verlag: **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**, Gießen  
Printed in Germany

ISBN 3-936815-90-9

Verlag: DVG Service GmbH  
Frankfurter Straße 89  
35392 Gießen  
0641/24466  
[geschaeftsstelle@dvg.net](mailto:geschaeftsstelle@dvg.net)  
[www.dvg.net](http://www.dvg.net)

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

Untersuchungen zur Involution der Vagina und  
Zervix beim Rind *post partum* unter  
Berücksichtigung der Zervix als Geburtshindernis

Habilitationsschrift  
vorgelegt dem Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität

von  
Dr. med. vet. Axel Wehrend  
aus Engelau

Gießen 2002

Denken Sie immer an das Wort Tier in Ihrer Berufsbezeichnung, wenn Sie glauben, dass  
Sie Ihr Ziel nicht mehr sehen.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	6
2	Literaturübersicht	7
2.1	Makroskopischer und histologischer Aufbau der Zervix und der Vagina beim Rind	7
2.2	Graviditätsbedingte Veränderungen der Zervix und der Vagina	12
2.3	Bedeutung der Zervix und der Vagina als Geburtshindernis beim Rind	15
2.4	Physiologische postpartale Involution der Zervix und der Vagina beim Rind	16
2.5	Involutionsstörungen der Zervix und der Vagina beim Rind	20
2.6	Plasmakonzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östrogen während des Partus und im Frühpuerperium beim Rind	20
2.7	Beeinflussung der peripartalen Veränderungen der Zervix und der Vagina durch Progesteron und Östrogene	21
2.8	Steuerung der peripartalen zervikalen Leukozyteninfiltration	24
3	Eigene Untersuchungen	25
3.1	Material und Methoden	25
3.1.1	Untersuchungen zur makroskopischen Zervixinvolution	25
3.1.2.	Hämatologische Untersuchungen	27
3.1.3	Endokrinologische Untersuchungen	28
3.1.4	Lichtmikroskopische Untersuchungen	28
3.1.4.1	Untersuchungszeitpunkte, Probenentnahme und –bearbeitung	28
3.1.4.2	Färbungen	39
3.1.4.3	Immunhistologische Untersuchungen	32
3.1.4.4	Mikroskopische Auswertung	35
3.1.5	Molekularbiologische Untersuchungen	35
3.1.5.1	Untersuchungszeitpunkte, Probenentnahme und -bearbeitung	35
3.1.5.2	RNA-Isolation	35
3.1.5.3	Reverse Transkription	36

3.1.5.4	Amplifikation der cDNA durch PCR	37
3.1.5.5	Semiquantitative Auswertung der Expressionsrate des bovinen Östrogenrezeptors $\alpha$	39
3.1.5.6	Sequenzierung einer Teilsequenz des bovinen Östrogenrezeptors $\alpha$	40
3.1.6	Retrospektive Datenauswertung zur quantitativen Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis	40
3.1.7	Untersuchungen zur Störung der Zervixinvolution beim Rind	41
3.1.8	Statistische Auswertung	42
3.2	Ergebnisse	44
3.2.1	Makroskopisch physiologische Involution der Zervix	44
3.2.2	Verlauf der peripheren Konzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östradiol-17 $\beta$ während der ersten zehn Tage <i>post partum</i>	55
3.2.3	Hämatologische und endokrinologische Parameter der Tiere, deren Gewebe zur weiteren Untersuchung verwendet wurde	63
3.2.4	Mikroskopische physiologische Involution der Zervix und der Vagina	65
3.2.4.1	Allgemeine lichtmikroskopische Beschreibung	65
3.2.4.2	Vorkommen von eosinophilen Granulozyten und Mastzellen im vaginalen und zervikalen Gewebe <i>intra</i> und <i>post partum</i>	74
3.2.4.3	Immunhistologischer Nachweis des Progesteron- und Östrogenrezeptors $\alpha$ im vaginalen und zervikalen Gewebe <i>intra</i> und <i>post partum</i>	88
3.2.5	Expression der mRNA des Östrogenrezeptor $\alpha$ im vaginalen Gewebe	99
3.2.6	Teilsequenz des bovinen Östrogenrezeptor $\alpha$	101
3.2.7	Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis	102
3.2.8	Häufigkeit zervikal bedingter Dystokien und zervikaler Involutionsstörungen	111
3.2.9	Zusammenhang zwischen Störungen der uterinen und zervikalen puerperalen Involution	115
4	Diskussion	116
4.1	Physiologische Involution der Zervix und Vagina beim Rind	117

4.1.1	Methodische Anmerkungen	117
4.1.2	Puerperale Involution der Zervix und der Vagina	122
4.2	Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis und Einflussfaktoren auf die Entwicklung von zervikalen Involutionsstörungen	137
4.3	Schlussbemerkungen	143
5	Zusammenfassung	144
6	Summary	148
7	Literaturverzeichnis	152
8	Anhang	182
8.1	Zusammensetzungen von Lösungen und Puffern	182
8.1.1	Lagerung und Fixierung des Gewebes	182
8.1.2	Färbelösungen	183
8.2	Färbeprotokolle	184
	Danksagung	190

Während in den letzten Jahren ein erheblicher Zuwachs des Wissens im Bereich der Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung zu registrieren ist, sind viele Probleme der klinischen veterinärmedizinischen Obstetrik nach wie vor ungelöst. Eines dieser Felder ist die mangelhafte Beeinflussbarkeit der Passierbarkeit des Vaginozervikalkanals bei Obstruktionen in diesem Bereich *intra partum* und während der puerperalen Involution. Dies bedingt, dass eine Reihe von pathologischen Zuständen bisher nicht effektiv therapiert werden können.

Nach maximaler Dilatation unter der Geburt und Expulsion des Kalbes kommt es relativ rasch zu einer Reorganisation des weichen Geburtskanales. Der genaue Ablauf dieser Phase der Involution ist unbekannt und über die zugrunde liegenden Steuerungsmechanismen kann nur spekuliert werden, da diese Fragestellungen bisher keine ausreichende wissenschaftliche Bearbeitung erfahren haben. Forschungen zur Zervix im peripartalen Zeitraum beschränken sich auf die Reifungsvorgänge vor der Geburt und sind fast ausschließlich an Labornagern, Schafen und an menschlichen Gewebe durchgeführt worden. Einzig Breeveld-Dwarkasing (2002) beschäftigt sich tiefergehend mit der bovinen Zervixöffnung *intra partum*.

Ziel dieser Arbeit war es daher, die physiologische Involution der Zervix im Vergleich zur Vagina beim Rind während der ersten zehn Tage *post partum* vor dem Hintergrund endokrinologischer Veränderungen zu beschreiben und erste Informationen über die dafür zugrunde liegenden Mechanismen zu erlangen.

Weiterhin sollte durch klinische Untersuchungen an Kühen nach Dystokie und einer retrospektiven Datenauswertung von Schweregeburten unterschiedlicher Tierarten die Bedeutung der zervikal bedingten Geburtsstockung im Interspeziesvergleich analysiert und Einflussfaktoren auf das Auftreten dieser Dystokieform sowie Störungen in der puerperalen Zervixinvolution beim Rind charakterisiert werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Makroskopischer und histologischer Aufbau der Zervix und der Vagina beim Rind

Die Zervix stellt den anatomischen und funktionellen Übergang zwischen Vagina und Uterus dar, der sich im Rahmen der Spermienpassage und der Geburt öffnen muss, während zu anderen Phasen des Reproduktionszykluses ein Verschluss, und damit ein Schutz des *Cavum uteri*, zu gewährleisten ist. Dies geschieht in Wechselwirkung des muskulösen, an Bindegewebe reichen Wandaufbaues, des labyrinthartigen Verlaufes des Zervikalkanals in Verbindung mit dem von den Schleimhautepithelzellen produzierten Mukus.

Die Zervix liegt beim ingraviden Rind meist vollständig intrapelvin. Ihre Ausdehnung und der Querdurchmesser sind abhängig von Alter und von der Anzahl bereits stattgefundenener Graviditäten, weshalb die Längenangaben zwischen 5,7 cm beim juvenilen bis zu 15 cm beim ingraviden, bereits trächtig gewesenen Rind schwanken (Kieschke, 1919; Otto, 1939; Wille, 1938; Grunert, 1999; Leiser, 1999). Die Angaben zum Querdurchmesser liegen zwischen zwei und sieben cm (Kieschke, 1919; Otto, 1939; Grunert, 1999).

Die Zervix bildet den *Canalis cervicalis*, der durch 15 – 25 Längs- und vier Querfalten seine charakteristische Oberflächenstruktur erhält und zwischen *dem Ostium uteri internum* und *Ostium uteri externum* verläuft. Die kranialste *Plica circularis* bildet die Begrenzung des *Ostium uteri internum*; die kaudalste Falte wird als Grundlage der in das *Cavum vaginae* vorspringenden *Portio vaginalis* angesehen (Leiser, 1999, Priedkalns und Leiser, 1999). Ausgehend von den Longitudinalfalten zweigen Sekundär- und Tertiärfalten ab und durchziehen meist ununterbrochen den *Canalis cervicalis* in seiner gesamten Länge (Heydorn und Adams, 1979).

In der Zervix setzt sich der dreischichtige Wandaufbau des Uterus fort, wobei sich jedoch die Anteile der unterschiedlichen Schichten zueinander und die funktionelle Differenzierung der Zellen erheblich unterscheiden (Koob und Ryan, 1980; Schuh, 1993).

Von innen nach außen baut sich die Zervix wie folgt auf:

- *Tunica mucosa*
- *Tunica muscularis*
- *Tunica serosa*

#### *Tunica mucosa*

Es wird zwischen dem Epithel und der darunter liegenden *Lamina propria mucosae* differenziert. Das zervikale Epithel stellt sich zum größten Teil einschichtig und hochprismatisch dar, wobei es während der Sekretionsphase des Zykluses stellenweise eine Mehrschichtigkeit aufweisen kann (Grau und Walter, 1958; Priedkalns und Leiser, 1999). Fateh el-Bab und El-Naggar (1975) fanden beim Büffel im kranialen Drittel der Zervix verzweigte tubuläre Drüsen, während Liebich (1990a) beim Rind eine drüsenlose Zervikalschleimhaut beschreibt. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen gelang es Marinov und Lovell (1967) im Oberflächenepithel ziliotragende Zellen nachzuweisen. Wrobel (1971) differenziert die Epithelzellen in Basal- und Zylinderzellen, die einer zyklusbedingten Morphogenese und damit verbundenen funktionellen Veränderung unterworfen sind.

Die *Lamina propria mucosae* ist beim Wiederkäuer im Vergleich zu den anderen Haussäugetieren sehr stark ausgeprägt (Kieschke, 1919; Schuh, 1993). Nach Schuh (1993) beträgt das Verhältnis des Bindegewebsanteiles zur glatten Muskulatur beim Rind in der Organwand 86 : 14 %. Grundlage sind irregulär angeordnete Kollagenfasern, die mit den eingelagerten Fibroblasten und Fibrozyten ein proliferationsaktives Bindegewebe bilden (Liebich, 1990), das nach Fateh-El-Bab und El-Naggar (1975) auch retikuläre und elastische Fasern enthält. Nach neueren Untersuchungen lässt sich die *Lamina propria mucosae* beim Rind in zwei morphologisch und funktionell unterschiedliche Zonen unterteilen (Breeveld-Dwarkasing et al., 2000):

- Subepitheliale Zone: vornehmlich Fibroblasten und Fibrozyten, hoher Wassergehalt
- Tiefe Zone: zusätzlich einzelne glatte Muskelzellen, geringer Wassergehalt

Die faserigen Bestandteile der Gewebematrix werden den Kollagenen, den retikulären und elastischen Fasern zugeordnet. Dabei stellen die Kollagene die quantitativ größte Fraktion (Schuh, 1993). Breeveld-Dwarkasing (2002) konnte zeigen, dass der Kollagengehalt von kaudal nach kranial abnimmt und dass regionale Unterschiede im Bindegewebsstoffwechsel beim ingraviden Rind bestehen. Neben der geformten faserigen Grundsubstanz sind die Bestandteile der ungeformten, amorphen Grundsubstanz an den reproduktionszyklusabhängigen Veränderungen der Zervix beteiligt (Rath et al., 1994). Vor allem Proteoglykane und Hyaluronsäure sowie Glykoproteine bestimmen die biomechanischen Eigenschaften. Funktionell lassen sich diese Verbindungen in raumfüllende Makromoleküle und Ankerproteine, welche die Verbindung zwischen den Komponenten der extrazellulären Matrix einerseits und den zellulären Elementen andererseits gewährleisten, unterteilen (Koolman und Röhm, 1994).

Proteoglykane sind Polymerkomplexe mit flaschenbürstenartiger Struktur. Zentral befindet sich ein fadenförmiges Molekül, welches aus dem Polysaccharid Hyaluronat aufgebaut ist. An diese Achse sind Proteine, sogenannte *Core*-Proteine, gebunden, an die ihrerseits Polysaccharidketten assoziiert sind. Diese Polysaccharide enthalten acetylierte Aminogruppen, woraus sich die Bezeichnung Glykosaminoglykane ableitet. Als Vertreter dieser Verbindungen sind im zervikalen Bindegewebe das Heparansulfat, das Dermatansulfat und das Chondroitinsulfat zu nennen (Nakaya, 1973; Fosang et al., 1984). Aufgrund ihrer negativen Ladung besitzen Proteoglykane die Eigenschaft, Wasser und Kationen zu binden. Diese ist unter anderem von der Art der gebundenen Glykosaminoglykane abhängig. Sie beeinflussen dadurch die Elastizität des Gewebes und über elektrostatische Bindungen die Anordnung der Kollagenfibrillen. Neben der Beeinflussung der Biomechanik regulieren die Proteoglykane auch die Effekte von Signalmolekülen. So wird durch die Bindung des transformierenden Wachstumsfaktors  $\beta$  an das *Core*-Protein dessen Aktivität gehemmt (Ruoslahti, 1988; Uldbjerg und Malmström, 1991; Kjellen und Lindahl, 1991; Hardingham und Fosang, 1992). Auf der anderen Seite kommt es durch die Bindung von Interleukin-8 an Heperansulfat im Zervixgewebe beim Kaninchen zu einer beschleunigten Reifung (Belayet et al., 1999).

Neben der gebundenen Form liegen die Glykosaminoglykane auch frei im zervikalen Bindegewebe vor. In diesem Zusammenhang ist vor allem die Hyaluronsäure zu nennen. Dieses Molekül ist geringer polarisiert als die anderen Glykosaminoglykane.

Es besitzt jedoch eine hohe Wasserbindungskapazität, wodurch die Hydromechanik der Zervix beeinflusst wird. Die Funktion der Hyaluronsäure für die Gewebeeigenschaft wird darin deutlich, dass sich ihr prozentualer Anteil, bezogen auf die zervikalen Glykosaminoglykane, vom ingraviden Zustand bis zur Geburt erhöht (Ratte: Downing und Sherwood, 1986; Schaf: Fosang und Handley, 1988; Frau: Uldbjerg et al., 1983; Rath et al., 1994).

Zu den Ankerproteinen werden die Fibronektine, Laminin und Elastin gezählt, wobei die Bedeutung des Fibronektins als molekulare Brücke zwischen den zellulären und azellulären Komponenten des zervikalen Bindegewebes bisher am besten untersucht ist (Leppi et al., 1982). Darüber hinaus hat die Bindung von Fibronektin an Kollagen eine protektive Wirkung für das Strukturprotein gegen enzymatische Spaltung.

Weiterhin können unterschiedliche Abwehrzellen sowie Fibrozyten und Fibroblasten im Stroma gefunden werden. Nach Junqueira und Mitarbeitern (1980) sind Fibroblasten die häufigsten Zellen im zervikalen Bindegewebe ingravidier Individuen. Wrobel (1971) beschreibt Mastzellen, Plasmazellen, Lympho- und Granulozyten.

#### *Tunica muscularis*

Die *Tunica muscularis* besteht aus einer inneren kräftigeren Ringmuskelschicht und einer durch Bindegewebe getrennten, äußeren Längsmuskelschicht (Priedkalns und Leiser, 1999). Innerhalb der *Lamina muscularis circularis* sind gefäßreiche bindegewebige Septen zu finden, die eine Strukturierung der glatten Muskulatur in einzelne Bündel gewährleisten (Preuss, 1954). Zusammen mit der *Tunica mucosa* bildet die Ringmuskelschicht die prominenten *Plicae circulares* der bovinen Zervix. Aus der schwächeren *Lamina muscularis longitudinalis* ziehen ebenfalls einzelne Fasern in die Querfalten (Kieschke, 1919; Preuss, 1954). Die Dicke der Muskelschicht nimmt von kranial nach kaudal ab (Breeveld-Dwarkasing, 2000).

#### *Tunica serosa*

Die *Tunica serosa* überzieht als einschichtiges Plattenepithel die Zervix. Unterlagert wird sie von lockerem Bindegewebe, von dem einzelne Muskelfasern in die *Tunica muscularis* ziehen.

Die Vagina bildet beim adulten Rind einen etwa 300 mm langen spaltförmigen Kanal, der sich vom retroperitonealen bis in den peritonealen Teil der Beckenhöhle ausdehnt (Blazquez et al., 1987). Sie stellt die Verbindung zwischen dem *Vestibulum vaginae* und der Zervix dar (Leiser, 1999).

Die Vaginalwand gliedert sich in eine *Tunica mucosa*, *Tunica muscularis* und eine im retroperitonealen Teil liegende *Tunica adventitia*, die im peritonealen Teil als *Tunica serosa* bezeichnet wird.

Vor allem die inneren Wandstrukturen unterliegen zyklusabhängigen, morphologischen und funktionellen Veränderungen (Liebich, 1990). Eine Verhornung des *Stratum superficiale* kann nur im Vestibulum beobachtet werden (Wrobel et al., 1986).

#### *Tunica mucosa*

Das Vaginalepithel stellt sich als mehrschichtige kutane Schleimhaut dar, die regional in unterschiedlicher Dichte schleimproduzierende Zellen aufweist (Beiling, 1906; Wrobel et al., 1986; Priedkalns und Leiser, 1999). Diese Zellen sind kranial in einer besonders hohen Anzahl angeordnet und nehmen nach kaudal ab. In gleicher Richtung wird eine Zunahme der Basalzellen beschrieben. Die *Tunica mucosa* zeigt vestibulumwärts mehr Schichten als in den zervixnahen Regionen, wobei jedoch eine hohe individuelle Variabilität gefunden werden kann (Blasquez et al., 1987).

Die *Lamina propria mucosae* bildet keinen Papillarkörper aus (Branscheid et al., 1988). In ihrer kollagenreichen Grundsubstanz sind eine Vielzahl von Abwehrzellen eingelagert, welche die Bedeutung der Vagina als Barriere gegen die Besiedlung der inneren Geschlechtsorgane mit Mikroorganismen kennzeichnet. Mengenmäßig nehmen dabei Plasmazellen eine dominierende Stellung ein (Branscheid et al., 1988; Hafez und Hafez, 2000).

Insgesamt zeigt die Schleimhaut eine Längs- und Querfaltung, die ihr ein strukturiertes Oberflächenrelief verleiht. Die Längsfalten sind zervixnah besonders deutlich ausgebildet, während sie in Richtung des Vestibulums eine geringere Höhe aufweisen (Wrobel et al., 1986).

#### *Tunica muscularis*

Die glatte Muskulatur gliedert sich in eine innere Ringmuskelschicht und eine äußere *Lamina muscularis longitudinalis*. Diese beiden Muskellagen sind durch ein

kollagenes Fasernetz verbunden, welches die Dehnungsfähigkeit und Kontraktilität der Vagina gewährleistet (Liebich, 1990).

Die *Tunica adventitia*, die im peritonealem Bereich als *Tunica serosa* bezeichnet wird, besteht aus lockerem Bindegewebe und ist von feinen glatten Muskelfasern durchsetzt (Priedkalns und Leiser, 1999).

## 2.2 Graviditätsbedingte Veränderungen der Zervix und der Vagina

Nach Liggins (1978) kommt es in der fortschreitenden Gravidität zu folgenden Veränderungen der Zervix:

- Hypertrophie mit Zunahme der Vaskularisation ohne Konsistenzverlust
- Konsistenzverlust unter Beibehaltung der Organstruktur (Reifung)
- Öffnung unter der Geburt (Dilatation)

Während zahlreiche Untersuchungen an Maus, Ratte, Meerschweinchen und Schaf und humanem Gewebe über die Veränderungen der Zervix in dieser Periode vorliegen, gibt es beim Rind nur wenige systematische Studien.

Nach Rüsse und Grunert (1993) nehmen das Gewicht und die Länge der Zervix beim Rind bis zum Ende der Gravidität deutlich zu, während sich der Querdurchmesser kaum verändert. Dies deckt sich mit den Befunden von Abusineina (1969). Durch die Vergrößerung und den kranio-ventralen Zug des Uterus kommt es zu einer Verlagerung der Zervix von intrapelvin in das Abdomen und des *Canalis cervicales* aus der waagerechten in die senkrechte Achse (Rüsse, 1965).

Als Grundlage der Hypertrophie wird ein Syntheseanstieg von Molekülen der extrazellulären Matrix, insbesondere von Kollagenen, Proteoglykanen und Glykoproteinen, gesehen (Kaidi et al., 1991, 1995; Winkler und Rath, 1999; Regassa und Noakes, 2001).

Während in der älteren Literatur, die Zervixöffnung als Folge der intrauterinen Druckerhöhung beschrieben wurde, wird heute davon ausgegangen, dass die Reifung der Zervix unabhängig von uterinen Kontraktionen stattfindet (Stys et al., 1978; Holligworth und Gallimore, 1981; Ledger et al., 1985). In der antepartalen

Periode werden das Kollagen und die Glykosaminoglykane dann wieder massiv abgebaut, was eine erhöhte Dehnbarkeit des Zervikalgewebes bedingt (Huszar und Naftolin, 1984). Weiterhin kommt es zu einer Steigerung der Hyaluronsäurekonzentration und des Wassergehaltes, was eine Ödematisierung und Auflockerung der Organwand nach sich zieht. Der Anstieg der Hyaluronsäurekonzentration bedingt eine abnehmende Affinität des Fibronektins zu Kollagen, wodurch dieses Strukturprotein einer enzymatischen Spaltung zugänglich wird.

Im Rahmen der Zervixreifung kann einerseits eine Kollagenolyse, andererseits eine Dissoziation der Kollagenfasern beobachtet werden (Aughey et al., 1983; Luque et al., 1997). Breeveld-Dwarkasing (2002) gelang es durch wiederholte Entnahme von Zervixgewebe bei neun Kühen während der Gravidität zu zeigen, dass der Kollagengehalt zunächst ansteigt und zum Partus hin wieder abfällt. Dabei finden die Umbauvorgänge vor allem in der tiefen Schicht der *Lamina propria mucosae* statt.

Ursächlich für den verstärkten Kollagenabbau kommt eine Freisetzung von Kollagenasen aus den zervikalen Fibroblasten und aus den eingewanderten Leukozyten in Frage. Es wird angenommen, dass die massive Ansammlung von Granulozyten im Bindegewebe während der antepartalen Phase eine entscheidende Rolle in der Veränderung des Matrixstoffwechsels spielt. So lässt sich ein positiver Zusammenhang zwischen Menge der infiltrierten Zellen und dem Grad der Kollagenolyse feststellen (Junqueira et al., 1980; Minamoto et al., 1987; Osmers et al., 1992; Luque et al., 1997). Zeitgleich erhöht sich der Gehalt an Kollagenasen und granulozytären Proteinasen (Owiny et al., 1995; Winkler et al., 1999).

Tierartiglich vergleichend ist festzustellen, dass es sich bei der intrapartalen zervikalen Zellinfiltration der Ratte (Luque und Montes, 1989; Duchesne und Badia, 1992; Luque et al., 1996) und des Igels (Bassett, 1962) um eosinophile Granulozyten handelt, während dieser Vorgang beim Schaf von neutrophilen Granulozyten getragen wird (Luque et al., 1997). Die Befunde bei der Frau widersprechen sich, so dass zum jetzigen Zeitpunkt nicht gesagt werden kann, welche Granulozytenpopulation diese Funktion übernimmt (Knudsen et al., 1997; Winkler et al., 1999; Stygar et al., 2001).

Die Modifikation der amorphen und faserigen Grundsubstanz im Zusammenhang mit der Veränderung der zervikalen Zellpopulationen führt zu einem aktiven Umbau des

Stromas mit neuen biophysikalischen und mechanischen Eigenschaften (Fosang und Handley, 1988). Diese Umstrukturierung bedeutet eine Vorbereitung des Organes, für die vollständige Öffnung mit Expulsion des Fetus durch die Geburtsmechanik (Egartner und Husslein, 1998).

Ein bis zwei Wochen vor der eigentlichen Öffnungsphase der Geburt ist bereits eine Erschlaffung des Organes zu registrieren, die sich im Bereich des *Orificium externum* als geringgradige trichterförmige Öffnung manifestieren kann (Walter und Marx, 1957; Rice et al., 1966; Ward, 1975). Gleichzeitig führt die Wassereinlagerung zu einer rektal palpierbaren Organvergrößerung (Grunert, 1993b).

Gregory (1977) stellte eine hohe individuelle Variabilität dieser antepartalen Öffnung der *Portio vaginalis* zwischen ein bis drei Zentimetern fest. Eine Beziehung zwischen einem in diesen Grenzen liegenden Öffnungsgrad und dem Geburtszeitpunkt lässt sich nicht erkennen. Färsen zeigten sogar bis unmittelbar vor dem Geburtszeitpunkt eine vollständig geschlossene Zervix.

An diese Vorbereitungsphase schließt sich die intrapartale Öffnung an, die in einen passiven und aktiven Abschnitt unterteilt wird. Rüsse (1965) bezeichnet den ersten Abschnitt auch als latente Phase. Die Tonussenkung der Zervikalmuskulatur führt zu einer Öffnung des inneren Muttermundes auf einen Durchmesser von fünf bis sieben Zentimeter.

Mit einsetzenden Uteruskontraktionen beginnt die aktive Phase. Durch die periodischen Wehen wird die Frucht im noch intakten Allantochorion gegen den inneren Muttermund geschoben und gleitet mit dessen zunehmender Öffnung in den *Canalis cervicalis*. Es wird angenommen, dass es durch den Zug des kontrahierenden Uterus am *Orificium internum* zusätzlich zu einer Weitung der Zervix kommt (Grunert, 1993b).

Insgesamt dauert die klinische Öffnungsphase beim Rind etwa 13 Stunden, wobei fünf Stunden auf den passiven und durchschnittlich acht Stunden auf den aktiven Abschnitt dieses Prozesses entfallen (Gregory, 1977).

Gregory (1977) untersuchte die Öffnung der Zervix bei zehn Kühen. Es konnten erst zu dem Zeitpunkt Uteruskontraktionen nachgewiesen werden, zu dem der Zervikalkanal bereits einen Durchmesser von etwa zehn Zentimetern aufwies. Die Öffnung bis zu diesem Querdurchmesser setzt der Autor der passiven Phase gleich. Diesen Ergebnissen stehen die Untersuchungen von Kündig et al. (1990) sowie

Breeveld-Dwarkasing und Mitarbeitern (2002) entgegen. Diese beiden Arbeitsgruppen konnten bereits deutliche tubozervikal gerichtete Uteruskontraktionen von einer Dauer von 5 - 15 Minuten und Amplituden zwischen 50 und 180 mmHg nachweisen, bevor es zu einer Öffnung des Muttermundes kommt.

Aufgrund von ultrasonographischen Messungen der Zervixdilatation bei fünf Kühen nach Geburtseinleitung mit Prostaglandinen teilen Breeveld-Dwarkasing und Mitarbeiter (2002) den Vorgang der Öffnung in vier Phasen ein:

- Latente Phase: 25 – 43 Stunden nach Geburtseinleitung
- Akzelerationphase: Öffnung in einer Geschwindigkeit von 0,49 – 0,84 cm/Stunde; Dauer: 4,3 – 6,8 Stunden
- Phase der schnellen Öffnung: Dilatation in einer Geschwindigkeit von 1,47 – 8,48 cm/Stunde; Dauer: 0,5 – 4,8 Stunden; In dieser Phase besteht ein Zusammenhang zwischen Zervixdilatation und uterinen Kontraktionen
- Phase der Dezeleration: 0,24 – 2,28 cm /Stunde Öffnungsgeschwindigkeit

Bei einer Geburt in Hinterendlage mit beidseitiger Hüftgelenksbeugehaltung wiesen die Autoren eine deutlich verzögerte Öffnungsphase als bei Vergleichstieren, die Kälber in Vorderendlage in gestreckter Haltung gebären, nach.

Über graviditäts- und geburtsbedingte Veränderungen der Vagina liegen nur wenige Untersuchungen vor. Tillmann (1960) beobachtet eine Zunahme der Dehnbarkeit, die mit einer Hypertrophie und Hyperplasie der *Tunica mucosa* verbunden ist.

### 2.3 Bedeutung der Zervix und Vagina als Geburtshindernis beim Rind

Eine Enge im Zervikal- und Vaginalkanal wird zu den maternalen Gründen einer Schweregeburt gezählt. Jackson (1995) und Noakes (2001a) sehen eine mangelhafte Dilatation des Zervikovaginalkanales in 9 % der Schweregeburten beim Rind als Ursache. Nach fetomaternalen Disproportionen und fehlerhaften Lagen, Haltungen

und Stellungen wird diese als dritthäufigste Dystokieursache bewertet. Auch Baier und Mitarbeiter (1973) ordnen die Bedeutung einer mangelhaften Zervixöffnung als dritthäufigsten Grund für Schweregeburten ein, auch wenn sie bei der Auswertung von 1330 Rindergeburten zu einer anderen Angabe in der Häufigkeit dieser Dystokieursache kommen. So wiesen 2,4 % der Erstgebärenden eine mangelhafte Zervixöffnung auf, während dies bei 17,6 % der pluriparen Kühen diagnostiziert werden konnte. Noakes (2001a) sieht die Gründe einer mangelhaften Zervixöffnung in hormonellen Dysfunktionen, einer mangelhaften Ansprechbarkeit des Gewebes auf Steuerungsreize und einer Fibrosierung des Organes durch vorausgehende Verletzungen.

Schmidt (1924) verwendet die Einteilung der zervikal bedingten Dystokieursachen in:

- Krampf des Muttermundes
- Erweiterungsunfähigkeit (Rigidität)

Unter dem Krampf des Muttermundes wird ein tonischer Spasmus der Zervikalmuskulatur verstanden. Schmidt (1924) ist der Meinung, dass diese Art von Störung beim Wiederkäuer keine Bedeutung habe, und man besser von einer verzögerten Erweiterung der Zervix sprechen solle. Eine Erweiterungsunfähigkeit der Zervix liegt dann vor, wenn aufgrund von Gewebeveränderungen keine Öffnung des Zervikalkanales möglich ist. Als Ursachen werden narbige Strikturen, Verwachsungen, Missbildungen und tumoröse Entartungen gesehen.

Götze (1950) differenziert zwischen mangelhafter Öffnung und mangelhafter Weite. Die mangelhafte Öffnung wird als Sistieren der zervikalen Aufweitung während der Öffnungsphase verstanden. Der Autor unterscheidet dabei vier Grade:

1. Grad: Kopf und Gliedmassen sind in das Becken eingetreten. Der kaudalste Zervixring liegt dem Kalb wie eine Manschette an.
2. Grad: Der Zervikalkanal ist nur für den Kopf oder die Gliedmassen passierbar.
3. Grad: Die Öffnung der Zervix erlaubt nicht das Durchtreten von Fruchtteilen.
4. Grad: Der Zervikalkanal ist vollständig verschlossen.

Unter dem Begriff der mangelhaften Weite wird eine bereits wieder einsetzende Involution des Zervikalkanales verstanden, während sich der Fetus noch *in utero* befindet. Analog zur Einteilung der mangelhaften Öffnung kann auch hier eine genauere Beschreibung durch vier Grade erfolgen.

Götze (1950) ist der Meinung, dass sich eine mangelhafte Weite sekundär als Folgeerscheinung aller Geburtsstörungen entwickeln kann. Schaetz (1984a) schränkt diese Vorstellung dahingehend ein, dass einer mangelhaften Weite immer eine mangelhafte Öffnung vorausgeht. Busch und Schulz (1993) differenzieren die mangelhafte Öffnung und Weite der Zervix nur in drei Grade, wobei der vollständige Schluss des Zervikalkanales nicht berücksichtigt wird. Als zusätzliche Ursache einer mangelhaften Öffnung nennen sie die *Torsio uteri*. Eine pathologische Enge des Zervikalkanales nach Retorsion einer Gebärmutterverdrehung gibt Tamm (1997) in 59,9 % der Fälle an (n = 462). Andere Autoren beschreiben, dass die Zervix nach Retorsion meist vollständig geöffnet ist (Pearson, 1971; Duncanson, 1985). Während Berchtold und Rüsck (1993a) postulieren, dass sich der Öffnungsgrad der Zervix nach Retorsion nicht mehr ändert, vertritt Schaetz (1984b) die Meinung, dass sich die Zervix innerhalb von 1 - 2 Stunden nach der Korrektur noch weiten kann.

Die bovine Vagina kann aufgrund einer Verengung durch narbige Strikturen, Hämatomen, Missbildungen und Tumoren oder wegen einer mangelhaften Weitung zum Geburtshindernis werden (Schmidt, 1924; Benesch, 1952; Lagerlöf und Rosenberger, 1960; Jackson, 1995). Nach Noakes (2001a) stellt die mangelhafte Weite der Vagina ein relativ häufiges Geburtshindernis bei Milchkühen da. Vor allem bei verfetteten Muttertieren und bei Stress vor der Abkalbung soll diese Störung gehäuft auftreten. Nach Berchtold und Rüsck (1993b) befindet sich der Engpass meist im Bereich des Hymenarings bei primiparen Tieren.

Als wichtigste Differentialdiagnose der mangelhaften Öffnung von Vagina und Zervix ist ein zu frühes Eingreifen in den Geburtsvorgang in Betracht zu ziehen bevor die physiologischen Prozesse der Aufweitung stattgefunden haben (De Kruif, 1995).

## 2.4 Physiologische postpartale Involution der Zervix und der Vagina beim Rind

Noakes (2001b) beschreibt die postpartalen Vorgänge an den Genitalorganen auf vier Ebenen, wobei Wechselwirkungen zwischen diesen bestehen:

- Reduktion der graviditätsbedingten Größenzunahme mit Expulsion von Uterusinhalt
- Reparation und Regenerationsvorgänge
- Aufnahme der zyklischen Ovarfunktion
- Elimination der bakteriellen Kontamination des *Cavum uteri*

Die Rückbildungsvorgänge an den Genitalorganen führen jedoch zu keiner *Restitutio ad integrum* (Grunert, 1993a). So beschreibt Abusineina (1969), dass nach jeder Gravidität Gewicht und Größe der Zervix zunehmen.

Während in der Literatur eine Reihe von sonographischen, histologischen und biochemischen Arbeiten zur puerperalen uterinen Involution beim Rind vorliegen (Buch et al., 1955; Perkins und Kidder, 1963; Marion et al., 1968; Wagner und Hansel, 1969; Olds und Coopers, 1970; Okano und Fukuhara, 1980; Bastidas et al., 1984; Okano und Tomizuka, 1987; Sobiraj, 1992; Kamimura et al., 1993; Aslan et al., 2002) wurde dieser Aspekt für die Zervix und Vagina in der Vergangenheit kaum behandelt. Okano und Tomizuka (1987) beschreiben zwar anhand von ultrasonographischen Verlaufsuntersuchungen bei 11 Kühen auch die Involution der Zervix, doch setzen die transrektalen Studien erst am achten Tag *post partum* ein und erfassen nur den Querdurchmesser des Organes ohne Beachtung der Reorganisation der Zervikalfalten und des Öffnungsgrades des *Canalis cervicales*. Die Autoren berichten eine Abnahme des Querdurchmessers bis zum 43. Tag *post partum*. Detailliertere Angaben finden sich bei Gier und Marion (1968). Sie geben einen Querdurchmesser von 15 cm am zweiten Tag *post partum*, 9 – 11 cm am zehnten, 7 – 8 cm am 30. und von 5 – 6 cm am 60. Tag *post partum* an. Peche (1979) konnte an 20 Deutsch-Fleckvieh-Kühen nach Eutokie zeigen, dass nur acht Tiere zwischen dem achten und zehnten Tag *post partum* einen Zervixdurchmesser um fünf cm aufwiesen. Nach sechs Wochen war dieser Querdurchmesser bei allen Kühen erreicht.

Maurer (1983) führte systematische rektal palpatorische Kontrollen der Zervixinvolution bei 144 Kühen nach Normalgeburten durch. Der Anteil von Tieren mit einer vollständigen Rückbildung, wobei diese anhand eines Querdurchmesser von  $\leq 5$  cm definiert wurde, betrug am 10. – 12. Tag *post partum* 14,6 %, am 28. Tag *post partum* 53,5 % und am 40. Tag *post partum* 85,4 %. Gloor (1973) untersuchte den postpartalen Zervixschluss bei 36 Kühen nach Spontangeburt mit zeitgerechtem Abgang der *Secundinae*. Bei primiparen Kühen ist der *Canalis cervicales* bereits nach sechs bis zehn Stunden *post partum* nur noch für einen Finger passierbar, bei pluriparen Kühen ist dieser Zustand nach 24 Stunden erreicht. Im weiteren Verlauf des Puerperiums bleibt nach Meinung des Autors der Zervikalkanal in diesem Öffnungszustand.

Weitere Angaben zur Zervixinvolution finden sich in den veterinärmedizinisch, geburtshilflichen Lehrbüchern, wobei jedoch nicht deutlich wird, auf welchen Originaluntersuchungen die Angaben beruhen. Nach Grunert (1993a) findet der Involutionsprozess weitestgehend innerhalb der ersten zwölf Stunden *post partum* statt. Das *Orificium externum* ist bereits nach vier Stunden reorganisiert. Nach 48 Stunden ist der *Canalis cervicales* nur noch für zwei Finger zu passieren. Diese Beschreibung findet sich auch bei Baier und Berchtold (1984a). Den Verschluss des *Orificium internum* geben sie für den 14. Tag *post partum* an, den des äußeren Muttermundes nach der vierten Woche *post partum*. Benesch (1952) beschreibt den Verschluss des Zervikalkanales von kranial nach kaudal. Nach drei bis vier Tagen ist die Durchgängigkeit nur noch für zwei Finger und am fünften Tag nur noch für einen Finger möglich.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass metrische Messungen der frühen puerperalen Zervixkanalinvolution und für die Vagina bisher fehlen. Einer raschen Reduktion nach Expulsion des Kalbes innerhalb der ersten 48 Stunden folgt eine Phase der langsamen Reorganisation, die sich bis zum 40.- 60. Tag *post partum* fortsetzt. Eine erneute Öffnung während der Puerperalphase wird von keinem Autor beschrieben.

## 2.5 Involutionsstörungen der Zervix und der Vagina beim Rind

Angaben über Involutionsstörungen der Zervix und der Vagina beim Rind beschränken sich auf Verletzungen und Entzündungen dieser Organe (Baier und Berchtold, 1984b; Grunert, 1993b). Einige Autoren beschreiben zusätzlich eine verzögerte Involution bei Kühen mit *Retentio secundinarum* und nach Dystokien anhand eines im Vergleich zu Kontrolltieren rektal palpatorisch erfassten größeren Durchmessers des Organes (Peche, 1979; Maurer, 1983; Bostedt und Maurer, 1990). Fleckviehkühe mit Nachgeburtshaltung zeigten im Gegensatz zu Tieren mit zeitgerechter Expulsion der *Secundinae* eine deutlich verzögerte Involution am achten und 35. Tag nach der Geburt (Peche, 1979). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen von Maurer (1983), der am 10. – 12. Tag sowie am 28. Tag, jedoch nicht am 40. Tag *post partum* bei Kühen nach Dystokie eine verzögerte Zervixinvolution feststellen konnte. Bostedt und Mitarbeiter (1979) sehen in einer Kontraktilitätsschwächung der Myofibrillen nach Schweregeburten eine Ursache für die gestörte Involution. Roberts (1971) weist darauf hin, dass bei Kühen mit *Retentio secundinarum* der Zervikalkanal bis zur 72. Stunde *post partum* noch für die Hand passierbar sein kann.

Der Schluss des Zervikalkanales scheint unabhängig von der Involution der Gebärmutter abzulaufen (Bostedt, 2002). Zwar existieren über diesen Aspekt keine exakten wissenschaftlichen Untersuchungen, jedoch Beobachtungen aus der Praxis (Glock, 1996).

## 2.6 Plasmakonzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östrogen während des Partus und im Frühpuerperium beim Rind

Die antepartale Periode ist endokrinologisch von einem Abfall der Progesteron- und einem Anstieg der Glukokortikoid- und Östrogenkonzentrationen gekennzeichnet (Pope et al., 1969; Stabenfeldt et al., 1970; Edquist et al., 1973; Hoffmann et al., 1973; Heuwieser et al., 1987; Eissa und El-Belely, 1990; Rexha et al., 1993; Birgel et al., 1996). Dabei beeinflussen sich die Steroidhormone gegenseitig. So stimulieren die Glukokortikoide im peripartalen Zeitraum die Östrogensynthese in der *Placenta fetalis* (Möstl et al., 1985; Wagner et al., 1992).

Während der Gravidität kommt es zu einem Anstieg der Gesamtöstrogenkonzentration im peripheren Plasma, der vor allem von der plazentaren Synthese konjugierter Östrogene getragen wird (Hoffman et al., 1979). Im präpartalen Zeitraum ist eine zusätzliche deutliche Konzentrationszunahme zu registrieren, die mit dem Anstieg freier Östrogene verbunden ist und unmittelbar vor der Geburt Maximalwerte erreicht (Möstl et al., 1985; Hoffmann et al., 1997). Nach dem Partus fallen die Östrogenkonzentrationen innerhalb von zwölf Stunden auf Werte unter 1ng/ml ab (Silva, 1979). Dieser Vorgang kann durch eine Verzögerung des Nachgeburtsabganges verlangsamt sein. Der puerperale Anstieg der Östrogenkonzentration im peripheren Blut ist von der Wiederaufnahme der Ovarfunktion *post partum* abhängig. Diese hängt von vielen Faktoren, wie z.B. Leistung und Haltung ab und zeigt eine hohe individuelle Variabilität (Bostedt et al., 1985).

Die Progesteronkonzentrationen im maternalen Plasma variieren während der Gravidität zwischen 5 - 10 ng/ml, wobei im letzten Drittel der Trächtigkeit ein leichter Abfall zu beobachten ist. In den letzten zwei Tagen vor dem Partus kommt es zu einem steilen Abfall auf Werte um 1 ng/ml, der als Voraussetzung für das Eintreten der Geburt angesehen wird. Im Frühpuerperium werden Progesteronkonzentrationen um 0,5 ng/ml gemessen (Klauke und Hoffmann, 1992; Birgel et al., 1996). Wie bei den Östrogenen ist der erneute postpartale Anstieg vom Wiedereinsetzen der Ovarfunktion abhängig (Bostedt et al., 1985; Bekana et al., 1996).

Zum Zeitpunkt des antepartalen Progesteronabfalles kommt es zu einem Anstieg der Gesamtglukokortikoide im maternalen Plasma. Innerhalb von 24 Stunden *post partum* fallen die Konzentrationen wieder auf Basalwerte ab (Adams und Wagner, 1970; Hoffman, 1976).

## 2.7 Beeinflussung der peripartalen Veränderungen der Zervix und Vagina durch Progesteron und Östrogene

Systematische Untersuchungen zum hormonellen Einfluss auf zervikale und vaginale Veränderungen im peripartalen Zeitraum beim Rind fehlen. Aufgrund von Ergebnissen bei Ratte, Maus, Kaninchen, Schaf und humanem Gewebe wird von

einer Wechselwirkung verschiedener Hormone auf das zervikale Bindegewebe ausgegangen. Einzelne Untersuchungen beim Rind weisen ebenfalls in diese Richtung.

Während der Gravidität stimulieren Östrogene die Hypertrophie der Zervix (Steinetz et al., 1980). Unter der Geburt konnte Silva (1979) signifikant niedrigere Gesamtöstrogenwerte bei Rindern mit einer Dystokie aufgrund einer mangelhaften Zervixöffnung zweiten und dritten Grades als bei Tieren mit physiologischer und mangelhafter Öffnung ersten Grades nachweisen. Owiny und Mitarbeiter (1987) beobachteten nach Infusion von Östradiol-17 $\beta$  bei tragenden Schafen eine Auflockerung des zervikalen Bindegewebes, die von einem Anstieg der Plasmakonzentration von Prostaglandinen, ohne eine Veränderung der Progesteronwerte begleitet wurde. Nach Blockierung der Prostaglandinwirkung durch Antagonisten konnten die Autoren trotzdem eine Separierung einzelner Kollagenfibrillen der Matrix nachweisen. Fitzpatrick und Liggins (1980) gelang es, bei trächtigen Schafen durch Injektion von Östrogenen die Synthese von Prostaglandinen zu stimulieren.

Zahlreiche speziesübergreifende Untersuchungen konnten die positive Wirkung von Prostaglandinen auf die peripartale Zervixreifung nachweisen, was den Einsatz der lokalen Prostaglandinapplikation zu diesem Zweck in der humanen Gynäkologie und Geburtshilfe begründet (Ulmstein und Wingerup, 1980; Trofatter et al., 1985; Laube et al., 1986; Owiny und Fitzpatrick, 1990; Rigby et al., 1998). Duchnes und Mitarbeitern (1993) gelang es, durch die intravaginale Applikation von Prostaglandin E<sub>2</sub> bei Färsen im ersten Drittel der Trächtigkeit eine Erweichung des Zervikalgewebes und eine erhöhte Mukussekretion, ohne eine Veränderung der peripheren Progesteronkonzentrationen zu induzieren.

Die Wechselwirkung der vor der Geburt hohen Östrogenwerte und den Prostaglandinen wird auf unterschiedlichen Ebenen diskutiert. So vermuten Owiny und Fitzpatrick (1992) eine direkte Stimulation der Prostaglandinsynthese. Diese These wird durch die Beobachtung unterstützt, dass Östrogene zu einem Anstieg der Prostaglandinsynthese und der Cyclooxygenasekonzentration von Endometriumzellen des Meerschweinchens und der Kuh führen (Asselin et al., 1997; Bracken et al., 1997). Diese *in vitro* – Befunde konnten bei der Ratte *in vivo* bestätigt werden (Dong et al., 1996). Diskutiert wird auch eine östrogenvermittelte gesteigerte Prostaglandinrezeptorsynthese (Uldbjerg et al., 1983).

Generell wird davon ausgegangen, dass Progesteron für den Verschluss der Zervix beim in graviden und graviden Säugetier erforderlich ist (Döcke, 1994). Die genaue Bedeutung des antepartalen Gestagenabfalles für die Zervixreifung und -öffnung ist jedoch noch nicht geklärt. So konnten Owiny und Fitzpatrick (1992) bei Schafen kurz vor der Geburt die Reifung durch die Applikation von Prostaglandinsynthesehemmern trotz niedriger Plasmaprogesteronwerte unterdrücken. Duchens und Mitarbeitern (1993) gelang es zudem, durch intrazervikale Prostaglandingabe bei trächtigen Rindern diesen Vorgang bei hohen Progesteronkonzentrationen zu induzieren.

Während bei allen bisher untersuchten Haussäugetieren der Geburt ein antepartaler Progesteronabfall vorausgeht, weist das Ausmaß dieser endokrinologischen Veränderung speziesspezifische Besonderheiten auf. Bei Rind, Ziege und Hund wird in der Regel ein Abfall unter dem Wert von 1 ng/ml registriert; beim Schaf und Pferd liegen die Plasmakonzentrationen häufig deutlich über diesem Niveau (Currie et al., 1988; Bostedt, 1996a; Nohr et al.; 1993; Hoffmann et al., 1996). Klauke und Hoffmann (1992) geben für das Schaf eine Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch. Trotz relativ hoher Plasmaprogesteronwerte verliert das Myometrium seine Ansprechbarkeit für Gestagene in der peripartalen Periode, da die Progesteronrezeptorzahl stark abfällt. Dies kann beim Rind nicht beobachtet werden. Eine Ausschaltung der graviditätserhaltenden Gestagenwirkung findet beim Rind folglich durch Progesteronentzug und beim Schaf durch Minderung der Gestagenbindungsstellen statt. Dieser Mechanismus der Geburtsvorbereitung konnte vorher von Thilander und Mitarbeitern (1990) beim Schwein und von Saito et al. (1985) bei der Ratte beschrieben werden.

Chwalisz und Mitarbeiter (1998) sehen in einem Progesteronentzug den auslösenden Stimulus für die Zervixreifung. Durch die Anwendung von Gestagenantagonisten lässt sich eine Zervixreifung trotz gleichzeitiger Unterdrückung der Prostaglandinsynthese beim Menschen, Meerschweinchen und der Ratte induzieren (Cabrol et al., 1991; Radestad und Bygedeman, 1992; Shi et al., 1997). Trotz umfangreicher Forschung ist die genaue Bedeutung von Progesteron im komplexen Vorgang der Zervixreifung bisher nicht bekannt (Shi et al., 2000).

Sicherlich liegt ein Grund dafür darin, dass auch andere Hormone Einfluss nehmen. So konnte eine synergistische Wirkung von Östrogenen und Relaxin bei der Ratte

beschrieben werden (Luque et al., 1998). Beim Rind gibt es Hinweise, dass Oxytocin die zervikale Prostaglandinsynthese anregt (Fuchs et al., 1995; Shemesh et al., 1997).

Untersuchungen zur peripartalen Veränderung des vaginalen Gewebes fehlen.

## 2.8 Steuerung der peripartalen zervikalen Leukozyteninfiltration

Im peripartalen Zeitraum kommt es zu einer Infiltration des zervikalen Bindegewebes mit Leukozyten. Die Art der dominierenden Population der Granulozyten unterscheidet sich dabei speziesspezifisch. Im humanen und ovinen Zervixgewebe wird dieses Geschehen von neutrophilen Granulozyten getragen, bei der Ratte von eosinophilen Granulozyten. Die Infiltration wird über verschiedene Entzündungsmediatoren gesteuert, wie Interleukin-8, Prostaglandin E und  $F_{2\alpha}$ , das Monozyten chemotaktische Protein-1 und Metalloproteinasen (Chwalisz et al., 1994; Bokström et al., 1997; Winkler et al., 1999; Sennström et al., 2000), deren Freisetzung als Folge einer Aktivierung lokaler Reaktionskaskaden durch Sexualsteroiden verstanden werden kann (Critchley et al., 1996; Robertson et al., 1996; Chwalisz et al., 1998). Ob dies im Rahmen der präpartalen Zervixreifung durch Östrogenwirkung oder durch Progesteronentzug geschieht, ist strittig.

Die Expression des Östrogenrezeptor- $\beta$  von Leukozyten im zervikalen Gewebe und von Gefäßendothelien in diesem Bereich lässt einen direkten Einfluss der Östrogene auf die Leukozyteninvasion und -aktivierung vermuten (Stygar et al., 2001).

### 3 Eigene Untersuchungen

#### 3.1 Material und Methoden

Im ersten Teil der Arbeit wurde die physiologische Zervixinvolution nach Spontangeburt in den ersten zehn Tagen *post partum* vor dem Hintergrund der endokrinologischen Veränderungen mit Hilfe eines intrazervikal eingeführten Messinstrumentes und der Sonographie untersucht. Im zweiten Abschnitt erfolgte die Entnahme von vaginalen und zervikalen Gewebe in diesem Zeitraum zur histologischen und molekularbiologischen Aufarbeitung. Zum Interspeziesvergleich fanden ebenfalls ovine Proben aus der Vagina und Zervix Verwendung. Abschließend wurde anhand retrospektiver und klinischer Untersuchungen die Bedeutung der Zervix als Dystokieursache beim Rind im Vergleich zu den Spezies Pferd, Schaf, Schwein und Hund dargestellt und Einflussfaktoren auf eine gestörte Zervixinvolution beim Rind analysiert.

##### 3.1.1 Untersuchungen zur makroskopischen Zervixinvolution

Als Versuchstiere dienten 20 Deutsch-Schwarzbunte Rinder, die in der Klinik zur Geburtsüberwachung zwischen November 1999 und August 2001 eingestellt wurden. Bei allen Tieren handelte es sich um pluripare Kühe, die laut Angaben der Besitzer bislang keine Schweregeburt erlitten hatten. Alle Tiere wurden durch mehrmalige tägliche Berührungen im perianalem Bereich während der Hochträchtigkeit an den Untersucher und an das Einführen des Messinstrumentes in den Vestibulo-Vaginalkanal gewöhnt.

Von der Einstellung bis zur Entlassung am zehnten Tag *post partum* erfolgte täglich eine klinische Untersuchung. Die Tiere gebaren nach einer Trächtigkeitsdauer zwischen 278 und 286 Tagen je ein vitales Kalb. Die Austreibungsphase betrug zwischen 30 und 60 Minuten. Bei allen Tieren ging die Nachgeburt innerhalb von sechs Stunden *post partum* ab, und es entwickelten sich keine puerperalen Störungen.

Die Fütterung erfolgte der Trockenstehperiode und der Laktation angepasst mit Heu und Grassilage sowie mit Krafftutter und Mineralstoffergänzung entsprechend des Grundbedarfes und der Milchleistung. Wasser stand *ad libitum* zur Verfügung.

Die 20 Kühe wurden randomisiert nach der Kartenmethode in zwei Gruppen eingeteilt (Köhler et al., 2001). An den Tieren der Gruppe 1 (n = 10) erfolgte die sonographische Darstellung der Zervixinvolution unter besonderer Berücksichtigung der Reorganisation der Ringfalten. An den Kühen der Gruppe 2 (n = 10) wurde intrazervikal die Formation des *Canalis cervicalis* mit einer modifizierten Zervixfazzange nach Albrechtsen gemessen, deren Einsatz in Voruntersuchungen getestet wurde.

Alle sonographischen Untersuchungen erfolgten mit einem transportablen Ultraschallgerät<sup>1</sup> mit einem 5,0 MHz Linearschallkopf<sup>2</sup> am stehenden, fixierten Tier transrektal mit einer Bilddokumentation durch einen Video Graphic Printer<sup>3</sup>.

Voruntersuchung zur Darstellung der zervikalen Strukturen fanden an isolierten Organen von gesunden Schlachttieren statt.

Zur Darstellung der Ringfaltenreorganisation wurde bei zehn Kühen die Zervix zum ersten Mal direkt nach Expulsion des Kalbes sonographisch dargestellt. Dabei erfolgte ein Festlegung der Untersuchungslokalisierung anhand der kaudalsten Karunkeln. Ausgehend von dieser Lokalisation gelang eine systematische Darstellung der Zervix bis zum Übergang in die Vagina. Die folgenden Untersuchungszeitpunkte lagen bei 2, 4, 6, 8, 12, 18 und 24 Stunden *post partum* und wurden dann in 24 - stündigen Abständen bis zum zehnten Tag weitergeführt.

Bei zehn Kühen (Gruppe 2) wurde durch das Einbringen einer Zervixfaßzange nach Albrechtsen in den Zervikalkanal dessen Formierung *post partum* gemessen. Das Prinzip der Methode beruht darauf, dass sich der Abstand der Zangenschenkel proportional zur Öffnung der Zangenspitze verhält. Anhand einer Eich Tabelle gelang es, über die Messung des Abstandes der Zangenschenkel den Öffnungsgrad der intrazervikalen Zangenspitze zu bestimmen. Die Objektivierung der aufgewendeten Kraft gewährleistete ein Messkopf, der zwischen die Griffe integriert war, mit einem

---

<sup>1</sup> SSD 500; Aloka

<sup>2</sup> UST-5820-5; Aloka

<sup>3</sup> UP-860 CE; Sony

nachgeschalteten Messkonverter und angeschlossenen Computer. Die einwirkende Kraft ließ sich auf diese Weise bei jeder Messung auf 2 kp begrenzen.

Eine genaue Beschreibung der Messtechnik bezüglich der Kommunikation und Anordnung der Kraftaufnehmer und Messkonverter befindet sich bei Wehrend et al. (2002a) und Padberg (1993). Im Messkopf<sup>4</sup> sind Dehnungstreifen untergebracht, die proportional zur Längenveränderung ihren Widerstand verändern. Das elektrische Ausgangssignal wird im Konverter<sup>5</sup> entsprechend der Aufnehmersignalintensität verstärkt. Jede Messung wurde zweimal durchgeführt und der Mittelwert aufgenommen. In Vorversuchen konnte für die Wiederholbarkeit zweier Messungen eine Standardabweichung von 0,87 cm ermittelt werden; ohne die Kraftbegrenzung ergab sich eine Standardabweichung von 2,91 cm.

Die Untersuchungen erfolgten analog zu den Zeitpunkten der Darstellung der Formierung der Ringfalten und des Zervikalkanals.

### 3.1.2 Hämatologische Untersuchungen

Bei allen Kühen, denen Gewebeproben für weitergehende Untersuchungen entnommen wurden, erfolgte vor der Euthanasie oder Schlachtung, die Entnahme einer venösen Blutprobe<sup>6</sup> zur Bestimmung des Differentialblutbildes mit dem Hämatologie-Analysegerät Cell-Dyn® 3500 CS<sup>7</sup>.

Weiterhin erfolgte die Bestimmung des Differenzialblutbildes bei vier Schafen *intra partum*, von denen zervikales und vaginales Gewebe für histologische Untersuchungen zur Verfügung stand. An dem Hämatologie-Analysegerät sind in der Klinik entsprechende Referenzbereiche für die peripheren Konzentrationen der Blutzellen in der peripartalen und puerperalen Phase beim Rind und Schaf erarbeitet worden (Ceylan, 2000; Bleul et al., 2002), die in der vorliegenden Arbeit als Vergleichswerte dienten.

---

<sup>4</sup> Genauigkeitsklasse: 0,1; Temperaturkoeffizient:  $< \pm 0,1$  % bei einem Gebrauchstemperaturbereich von  $-30 - 85$  °C

<sup>5</sup> Messweg in mm:  $< 0,1$ ; Linearitätsabweichung: 0,1 %

<sup>6</sup> Mikro-Probengefäß, EDTA beschichtet, Sarstedt

<sup>7</sup> Abbott, Wiesbaden-Delkenheim

### 3.1.3 Endokrinologische Untersuchungen

Zehn Kühen wurde durch Punktion der *Vena jugularis* Blut<sup>8</sup> entnommen. Die Blutgewinnung erfolgte analog zu den Messungen der Zervixinvolution. Direkt nach der Entnahme wurden die Proben in einer Kühlzentrifuge<sup>9</sup> bei 3000 UpM 15 Minuten zentrifugiert. Das dekantierte Plasma erfuhr bis zur Untersuchung eine Lagerung bei – 20°C. Die Bestimmung von Progesteron und Östradiol-17 $\beta$  erfolgte mit standardisierten und validierten Verfahren durch das Laborpersonal von Professor Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen. Für die Progesteronmessungen kam eine automatische Chemilumineszenz zum Einsatz<sup>10</sup>. Die genaue Beschreibung der Testdurchführung findet sich bei Papa (2001). Die Bestimmung von Östradiol-17 $\beta$  erfolgte als Sequenztest (Hoffmann et al., 1992)<sup>11</sup>. Zusätzlich erfolgte eine Bestimmung der beiden Steriodhormone bei allen Tieren vor Euthanasie oder Schlachtung, von denen Gewebe zur weiteren Bearbeitung gewonnen wurde.

### 3.1.4 Lichtmikroskopische Untersuchungen

#### 3.1.4.1 Untersuchungszeitpunkte, Probenentnahme und –bearbeitung

Von jeweils vier Kühen direkt nach einer komplikationslosen Spontangeburt, am 5. und 10. Tag *post partum*, die wegen unheilbaren Muskelabrissen oder Knochenbrüchen euthanasiert wurden, konnte Gewebe zur weiteren Untersuchung gewonnen werden. Die Entnahme der Vaginalproben erfolgte in der Mitte der Strecke vom *Ostium urethrae* zur *Portio vaginalis cervicis* im dorsalen Bereich. Das Zervixgewebe wurde in der Mitte des Organes entnommen. Nach Spülung der Proben (0,8 cm x 0,8 cm x 0,8 cm) in Natriumphosphatpuffer, um anheftende Blutreste zu entfernen, erfolgte eine Halbierung des Gewebes in gleich große

---

<sup>8</sup> Monovetten; heparinisiert; Sarstedt

<sup>9</sup> Kühlzentrifuge; Heraeus Christ GmbH

<sup>10</sup> Gerät ACS:180, Bayer Diagnostics; Fernwald; Intraassaykoeffizient lag bei 11,6 %, der Interassaykoeffizient bei 15,1 %; untere Nachweisgrenze bei 0,11 ng/ml

<sup>11</sup> Intraassaykoeffizient lag bei 11,4 %, der Interassaykoeffizient bei 13,2 %; untere Nachweisgrenze bei 1,47 pmol/l

Stücke. Die eine Hälfte wurde anschließend 48 Stunden in 4%igem neutral gepufferten Formol nach Lillie (1951) bei 4 °C fixiert; die andere Hälfte für 48 Stunden bei 4 °C in Bouinsche Lösung<sup>12</sup> eingelegt. Durch die Behandlung in Bouinscher Lösung werden die morphologischen Eigenschaften des Gewebes für spätere Messungen besser konserviert. Nach der Fixierung erfolgte eine Lagerung in Natriumphosphatpuffer bei 4 °C bis zur Einbettung in Paraffin. Die in Bouinscher Lösung fixierten Proben wurden vorher mit 70 %igem Alkohol gewaschen bis keine Gelbfärbung der Waschlösung mehr zu beobachten war. Die Einbettung erfolgte mit einem Einbettautomaten<sup>13</sup> im Institut für Veterinäranatomie, -histologie und – embryologie.

Nach Lagerung der Blöcke für mindestens 24 Stunden im Kühlschrank wurden 4 - 5 µm dicke Schnitte angefertigt<sup>14</sup> und auf APES<sup>15</sup>-beschichtete Objektträger überführt.

Zum Intraspeziesvergleich konnte auf dem Schlachthof Gießen vaginales und zervikales Gewebe von vier Kühen im Interöstrus gewonnen werden.

Zum Interspeziesvergleich der Zellinfiltration in den kaudalen weichen Geburtsweg erfolgte bei vier Schafen, die aufgrund von Knochenbrüchen nach Spontangeburt eingeschläfert wurden, die Entnahme von Biopaten aus der Vagina und der Zervix. Die Proben erfuhren eine entsprechende Behandlung wie das bovine Gewebe.

#### 3.1.4.2 Färbungen

Die genauen Färbeprotokolle befinden sich in der Anlage (8.3). An dieser Stelle wird nur das Prinzip der angewandten Methoden erklärt. Die Beurteilung der Präparate erfolgte bei 100 – 1000 facher Vergrößerung im Durchlichtverfahren.

Als Übersichtfärbung und zur Kontrolle der Intaktheit der Gewebestrukturen wurden alle Blöcke mit einer Hämatoxylin – Eosin - Färbung gefärbt. Hämatoxylin wird an der Luft zum sauren Hämatein oxidiert, das in wässriger Lösung mit Metallionen basische Chelate bildet. Diese färben selektiv saure Zellstrukturen an. Eosin wird dagegen verstärkt von basischen Proteinen gebunden.

---

<sup>12</sup> Pikrinsäure-Formol-Eisessig-Gemisch

<sup>13</sup> Einbettautomat Microm Laborgeräte GmbH; Heidelberg

<sup>14</sup> Mikrotom; Reichardt Jung AG; Heidelberg

<sup>15</sup> 3-Aminopropyltriethoxysilan, Merck, Darmstadt

Mit Hilfe der Sirius-Red-Färbung ist es möglich, selektiv eosinophile Granulozyten darzustellen. Die Färbung erfolgte modifiziert nach Reibiger und Spänel-Borowski (2000). Die Autoren nutzten diese Methode, um eosinophile Granulozyten im ovariellen Gewebe von Rindern zu visualisieren. Zusätzlich wurden die eosinophilen Granulozyten anhand ihrer Morphologie angesprochen. Abbildung 1 zeigt einen bovinen eosinophilen Granulozyten im vaginalen Gewebe nach Sirius-Red-Färbung. Durch die Toluidin-Blau-Färbung gelingt es, anhand Hervorhebung der sulfatierten Glykosaminoglykane die Mastzellgranula selektiv anzufärben (Jolly et al., 1999).

Die Technik erfolgte modifiziert nach Galeotti et al. (1997), die diese zur Mastzelldetektion in Färsenuteri einsetzten. Abbildung 2 zeigt eine bovine Mastzelle im vaginalen Gewebe nach Toluidin-Blau-Färbung. Die Spezifität dieser Färbemethode konnte von Özen und Mitarbeiter (2002) elektronenmikroskopisch verifiziert werden.

Die Azanfärbung nach Heidenhain diente der Darstellung des kollagenen und retikulären Bindegewebes (Romeis, 1989). Zur besseren Visualisierung von Blutungen und Entzündungszellinfiltraten erfolgte eine Färbung nach Giemsa (Romeis, 1989).

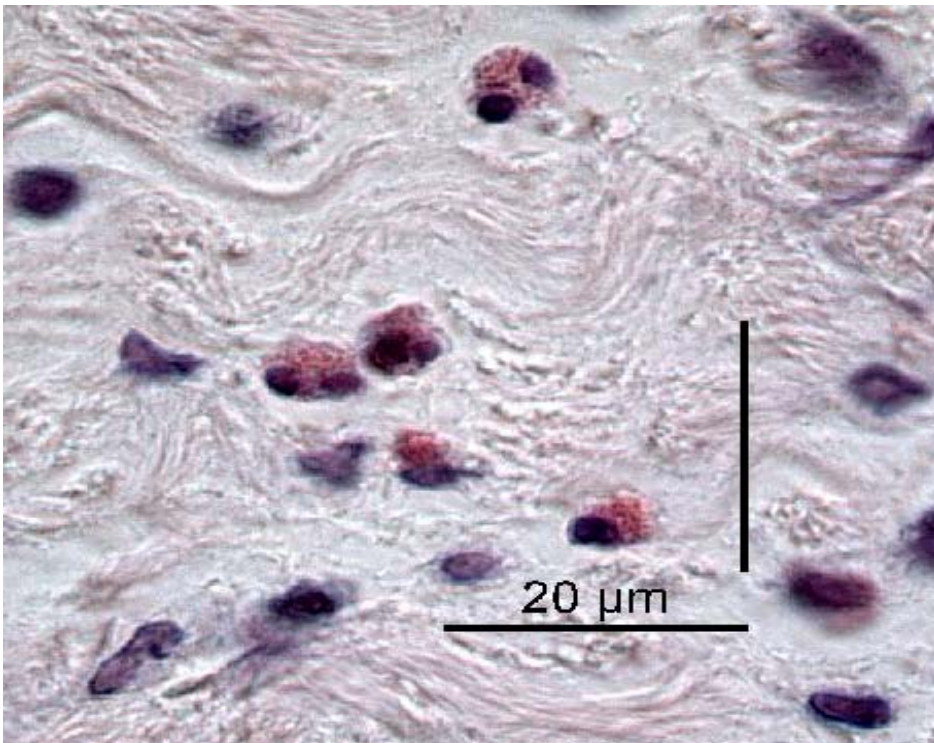


Abbildung 1: Eosinophile Granulozyten in der *Lamina propria mucosae* der bovinen Vagina (Sirius-Red-Färbung).

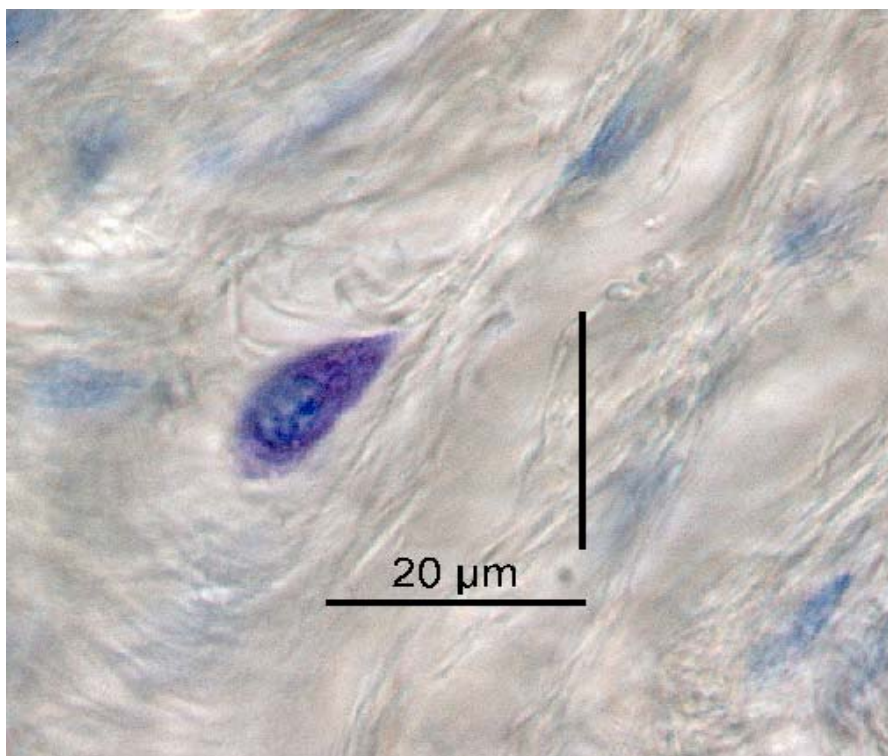


Abbildung 2: Mastzelle in der *Lamina propria mucosae* der bovinen Vagina (Toluidin-Blau-Färbung).

### 3.1.4.3 Immunhistologische Untersuchungen

Die Untersuchungszeitpunkte, die Probenentnahme und Aufbereitung erfolgte wie unter 3.1.4.1 beschrieben.

Die immunhistologische Darstellung des Progesteron- und Östrogenrezeptors erfolgte, wie von Aupperle und Mitarbeitern (2000) beschrieben, nach der Peroxidase-Anti-Peroxidase-Methode (PAP) im Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig (Prof. Dr. H.A. Schoon). Die Schnitte wurden nach einer Erwärmung auf 96°C für 30 Minuten in einem Natrium-Zitrat-Puffer (10 mmol/l; pH-Wert: 6,0) inkubiert. Es folgte eine Reaktion mit dem Primärantikörper (Maus anti-Mensch-Progesteronrezeptor 1:20<sup>16</sup>; Maus anti-Mensch-Östrogenrezeptor 1:10<sup>17</sup>) bei 4°C über Nacht. Nach Auswaschen des Primärantikörpers mit TBS erfolgte eine Inkubation mit dem Sekundärantikörper<sup>18</sup> (Ratte anti-Maus, 1:100) über 30 Minuten bei Raumtemperatur. Es schloss sich eine Reaktion über 30 Minuten mit einer Maus-PAP-Lösung<sup>19</sup> (1:100) an. Abschließend fand nach Inkubation in DAB<sup>20</sup>-Lösung eine Gegenfärbung in einer Papanicolau-Lösung<sup>21</sup> statt. Als Positivkontrolle diente bovines Endometrium. Als Negativkontrolle erfolgte statt der Verwendung der Primärantikörper eine Inkubation mit IgG von der Ratte<sup>22</sup>.

### 3.1.4.4 Mikroskopische Auswertung

Die histologischen Untersuchungen wurden mit einem Mikroskop<sup>23</sup> durchgeführt. Nach Übertragung der Bilder durch eine Digitalkamera<sup>24</sup> auf einen PC<sup>25</sup> erfolgte die

---

<sup>16</sup> Monoklonaler Progesteronrezeptor (Ab-1), Clone: PR4-12, Oncogene Research Products, Cambridge, Massachusetts, USA; detektiert den A und B – Progesteron-Rezeptor

<sup>17</sup> Monoklonaler Östrogenrezeptor, Clone: 6F11, Novocastra Laboratories, Newcastle upon Tyne, UK; detektiert den Östrogenrezeptor alpha

<sup>18</sup> Dianova GmbH, Hamburg

<sup>19</sup> Dianova GmbH, Hamburg

<sup>20</sup> Diaminobenzidintetrahydrochlorid, Fluka Feinchemikalien, Neu Ulm

<sup>21</sup> Merck, Darmstadt

<sup>22</sup> Monoklonaler Antikörper gegen Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten

<sup>23</sup> Mikroskop DMR, Leica, Wetzlar

<sup>24</sup> Digitalkamera DC300, Leica, Wetzlar

<sup>25</sup> GX240, Dell

Auswertung mit Hilfe eines Bildanalyseprogrammes<sup>26</sup>. Das Bildverarbeitungsprogramm erlaubt es, die Regionen, in welchen die Homogenität des Gewebes unterbrochen ist (größere Gefäßlumina, Faltentäler, usw.), zu markieren und von der ausgezählten Gesamtfläche abzuziehen.

Die Auswertung der Schnitte erfolgte als Blindversuch. Dazu wurden die Präparate von einer Person, die nicht mit dem Versuchsaufbau und –ziel vertraut war, mit einem Buchstaben-Zahlen-Code verschlüsselt. Die Präparate wurden zur genauen Beschreibung der Lokalisation in drei Zonen unterteilt:

- Zone I: *Epithelium mucosae*
- Zone II: *Lamina propria mucosae*
- Zone III: *Tunica muscularis*

Zur Darstellung der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen erfolgte die Auswertung von fünfzehn bis zwanzig Gesichtsfeldern pro Präparat. Mit Hilfe des Bildverarbeitungsprogrammes wurde die Anzahl der Zellpopulationen in den verschiedenen Zonen auf 0,5 mm<sup>2</sup> berechnet.

Weiterhin erfolgte die Zählung der Gesamtzahl der Fibroblasten und Fibrozyten pro 0,5 mm<sup>2</sup> in der *Lamina propria mucosae* und der Muskelzellkerne in der *Tunica muscularis* ohne die infiltrierten Abwehrzellen, um einerseits den Rückgang des peripartalen Gewebsödemes zu objektivieren und andererseits eine Bezugsgröße für die immunhistologischen Untersuchungen zu erhalten.

Die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen wurden nach zwei verschiedenen Methoden ausgewertet:

- Absolute Anzahl der rezeptorpositiven Zellen pro 0,5 mm<sup>2</sup>
- Darstellung des immunreaktiven Scores (IRS)

Die Bewertung der immunhistologischen Reaktion wurde leicht modifiziert nach der von Özgen et al. (1997) beschriebenen Methode, welche auf die Arbeit von Remmle und Stegner (1987) zur Beurteilung von Östrogenrezeptoren im Mammakarzinomen der Frau zurückgeht, durchgeführt. Dazu wird neben der Anzahl der kernpositiven

---

<sup>26</sup> Leica Image Manager, Leica, Wetzlar

Zellen im Verhältnis zur Gesamtzellzahl auch die Färbeintensität (Tabelle 1) in Form eines immunreaktiven Scores (IRS) berücksichtigt.

Zur Berechnung des IRS gilt folgende Formel:

$$\text{IRS} = 1/100 \sum \{PP_n \times \max [\varphi \times (SI_n - 1), 1]\}$$

Laufindex	n
Skalierungsfaktor $\varphi$	5
Prozentsatz positiver Zellen	PP
Färbeintensität	SI
immunreaktiver Score	IRS

Tabelle 1: Färbeintensitätseinteilung der rezeptorpositiven Zellen

Laufindex	Färbereaktion	Wert
1	Keine	0
2	Schwach	1
3	Mäßig	2
4	Stark	3

Dazu wurden bei 400facher Vergrößerung die Anzahl positiver Zellen auf 0,5 mm<sup>2</sup> in fünf Gesichtsfeldern pro Region erfasst.

Im Gegensatz zur Methode nach Özgen et al. (1997) erfolgte keine Schätzung der unterschiedlichen Zellpopulationen, sondern eine Auszählung mit Hilfe des Bildverarbeitungsprogrammes.

### 3.1.5 Molekularbiologische Untersuchungen

Um Kontaminationen zu vermeiden, wurden bei allen Arbeitsschritten Einweghandschuhe getragen. Die Lagerung aller Chemikalien und Reaktionssysteme erfolgte entsprechend der Herstelleranweisungen. Wenn nicht anders erwähnt, fanden die mit den Reaktionssystemen gelieferten Lösungen Verwendung.

Als Kontrollorgan für die molekularbiologischen Untersuchungen diente bovines Lebergewebe, da durch die Untersuchungen von Pfaffl und Mitarbeitern (2002) eine Expression des Östrogenrezeptor  $\alpha$  in der Leber beim Rind nachgewiesen werden konnte.

#### 3.1.5.1 Untersuchungszeitpunkte, Probenentnahme und -bearbeitung

Zur Aufarbeitung gelangten Proben von jeweils vier Kühen nach einer komplikationslosen Spontangeburt direkt nach Expulsion des Kalbes, am fünften und zehnten Tag *post partum*, die wegen unheilbaren Muskelabrissen oder Knochenbrüchen euthanasiert wurden. Unmittelbar nach Entnahme schloss sich eine Überführung des Gewebes in Zell-Lysis-Puffer eines kommerziellen RNA-Isolationssystems<sup>27</sup> und eine Lagerung bei – 86 °C bis zur weiteren Verarbeitung an.

#### 3.1.5.2 RNA-Isolation

Alle Schritte der RNA-Isolation fanden in einem Kühlraum bei 8°C statt. Die Proben wurden auf Eis aufgetaut und in Lysispuffer mit Hilfe eines Homogenisators<sup>28</sup> zerkleinert. Anschließend erfolgte die Isolation der RNA nach Herstellerangaben. Zur Entfernung chromosomaler DNA aus der RNA-Präparation fand ein DNase-Verdau statt. Auf 10  $\mu$ l RNA-Lösung wurde 1  $\mu$ l DNase<sup>29</sup> gegeben und bei 37°C für 30 Minuten inkubiert. Anschließend erfolgte zur Inaktivierung der DNase für 15 Minuten eine Erwärmung auf 70°C. Zur Kontrolle der Intaktheit der RNA fand die Auftrennung

---

<sup>27</sup> RNagents Total RNA Isolation System, Promega GmbH, Mannheim

<sup>28</sup> Ultraturrax, IKA-Werke, Reiskirchen

<sup>29</sup> DNase I (10 U/ $\mu$ l), Amersham Biosciences Europe, Freiburg

eines Aliquots jeder Präparation in einem 1 %igen denaturierenden horizontalen Formaldehyd-Agarosegel mit anschließender Ethidiumbromidfärbung statt. Die RNA wurde als intakt bewertet, wenn sich die beiden Banden der 28S- und 18S-RNA unter UV-Bestrahlung klar darstellten und die Intensität der 28S-RNA deutlich gegenüber der 18S- Bande überwog. Zur genaueren Methodik siehe bei Wehrend (1997).

Zur quantitativen und weiteren qualitativen Bestimmung der RNA wurden in einem Aliquot jeder Isolation nach entsprechender Verdünnung mit *Aqua bidest.* mit Hilfe eines Photometers<sup>30</sup> die Absorption der Lösung bei 260 und 280 nm Wellenlänge gemessen. Die Berechnung der RNA-Konzentration erfolgte nach folgender Formel:

$$A_{260} \times \text{Verdünnungsfaktor} \times 44,19 = \text{RNA } \mu\text{g/ml}$$

$A_{260}$  = Absorption bei 260 nm Wellenlänge in optischer Dichte (OD)

44,19 = Extinktionskoeffizient der RNA

Der Quotient aus  $A_{260}/A_{280}$  gilt als Parameter der Reinheit der RNA-Präparation. Es wurden nur Isolationen weiterverarbeitet, bei denen dieser Wert über 1,7 lag.

### 3.1.5.3 Reverse Transkription

Zur nicht selektiven Umschreibung der mRNA wurden oligo-(dt)-Primer<sup>31</sup> verwendet. Jede reverse Transkription fand in Doppelansätzen statt. In einem 0,5 ml-Reaktionsgefäß wurden folgende Lösungen gemischt:

- RNA	500 ng
- oligo-(dt)-Primer	2 $\mu$ l
- <i>Aqua bidest.</i>	ad 17,1 $\mu$ l

---

<sup>30</sup> Photometer Smart Spec 3000, Bio Rad Laboratories

<sup>31</sup> Oligo-(dt)-Primer, Carl Roth GmbH, Karlsruhe

Dieses Gemisch wurde zehn Minuten bei 70°C inkubiert, um Sekundärstrukturen der RNA zu zerstören und ein effektives *Anneling* der Primer zu gewährleisten.

Nach einer kurzen Zentrifugation erfolgte die Zugabe folgende Komponenten:

- 5 x cDNA-Puffer <sup>32</sup>	5 µl
- RNasin (40 U/µl) <sup>33</sup>	0,65 µl
- dNTP (10 mM) <sup>34</sup>	1,25 µl
- Reverse Transkriptase (200 U/µl) <sup>35</sup>	1 µl

Der Ansatz wurde 60 Minuten bei 42°C inkubiert<sup>36</sup>. Anschließend erfolgte eine Inaktivierung durch Erhitzung für fünf Minuten bei 95°C und eine Abkühlung auf Eis. Nach einem Zentrifugationsschritt wurde das cDNA-Gemisch durch Verdünnung mit *Aqua bidest.* auf eine Konzentration von 4 ng/µl eingestellt und in Aliquots zu 20 µl bei -20°C gelagert.

#### 3.1.5.4 Amplifikation der cDNA durch PCR

Es erfolgte eine Mischung folgender Reaktionskomponenten:

- 10 x PCR-Puffer <sup>37</sup>	2,5 µl
- MgCl <sub>2</sub> (25 mM) <sup>38</sup>	2 µl
- dNTP (2 mM)	1,5 µl
- Primer I (10 µM)	1,0 µl
- Primer II (10 µM)	1,0 µl
- Taq-Polymerase (5 U/µl) <sup>39</sup>	0,15 µl
- cDNA-Lösung (4 ng/µl)	2 µl
- <i>Aqua bidest.</i>	ad 25 µl

---

<sup>32</sup> 5 x cDNA-Puffer, Promega GmbH, Mannheim

<sup>33</sup> Rekombinantes Rnasin, Promega GmbH, Mannheim

<sup>34</sup> dNTP-Mix, MBI Fermentas GmbH, St. Leon Rot

<sup>35</sup> Reverse Transkriptase, Promega GmbH, Mannheim

<sup>36</sup> Thermoblock TM 130-6, HLC Heap Labour Consult, Bovenden

<sup>37</sup> 10 x PCR-Puffer, MBI Fermentas GmbH, St. Leon Rot

<sup>38</sup> MgCl<sub>2</sub>, MBI Fermentas GmbH, St. Leon Rot

<sup>39</sup> Taq DNA-Polymerase, MBI Fermentas GmbH, St. Leon Rot

Als Negativkontrolle wurde im Reaktionsansatz die cDNA-Lösung gegen ein entsprechendes Volumen *Aqua bidest.* ersetzt. Als Positivkontrolle fand cDNA aus bovinen Lebergewebe Verwendung.

Die Sequenzen der verwendeten Primer für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) und dem Östrogenrezeptor  $\alpha$  (Abbildung 3) wurden mit Hilfe der Gendatenbank des *National Center for Biotechnology* ausgewählt.

Da die Sequenz des bovinen Östrogenrezeptor  $\alpha$  zum Zeitpunkt der Experimente nicht bekannt war, wurde bei der Festlegung der Primer auf die ovine Sequenz zurückgegriffen.

GAPDH	Upstreamprimer (5' → 3')
	TGGTCACCAGGGCTGCT
	Downstreamprimer (5' → 3')
	ACTGGTCCTCAGTGACG
Fragmentlänge:	791 bp
ER $\alpha$	Upstreamprimer (5' → 3')
	ATAATCGACGTCAAGGTGGCA
	Downstreamprimer (5' → 3')
	AGGTCTGGTAGGGTCATACTC
Fragmentlänge:	545 bp

Abbildung 3: Sequenz der verwendeten Primer für den Östrogenrezeptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) und die Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)

Die Amplifikation der GAPDH, als sogenanntes *house keeping gene*, ergab sich aus der Notwendigkeit, eine Vergleichbarkeit der Expressionsraten zwischen den Probanden herzustellen. In Vorversuchen zeigte sich, dass die exponentielle Phase der PCR für die GAPDH und den ER mit dem gleichen Amplifikations-Protokoll getroffen werden konnte. Die Amplifikation<sup>40</sup> in den Hauptversuchen erfolgte in 28 Zyklen (Denaturierung 93°C für eine Minute; *Annealing* 61°C für zwei Minuten; Elongation 72°C für zwei Minuten) nach einer initialen Denaturierung bei 93°C über vier Minuten und einer finalen Elongation bei 72°C für zehn Minuten.

### 3.1.5.5 Semiquantitative Auswertung der Expressionsrate des bovinen Östrogenrezeptors $\alpha$

Die semi-quantitative Auswertung der Expressionsrate erfolgte mittels Bestimmung der optischen Dichte<sup>41</sup> der PCR-Fragmente nach Auftrennung in einem 1%igen Agarosegel<sup>42</sup> nach Färbung mit Ethidiumbromid<sup>43</sup>. Die Auswertung wurde mit dem Analyse-Programm Totallab<sup>44</sup> durchgeführt. Um eine Vergleichbarkeit der einzelnen Proben zu erhalten, wurden alle Ansätze, die miteinander verglichen werden sollten, in einem PCR-Durchgang amplifiziert. Zur Bereinigung der optischen Dichten der verschiedenen Proben erfolgte eine Korrektur der für die GAPDH ermittelten Werte auf einen zufällig ausgewählten Ansatz mit Hilfe der Formel

$$Y_i = X / X_i$$

$Y_i$  = Korrekturfaktor

$X$  = Messwert der zufällig ausgewählten Probe

$X_i$  = übrige Messwerte

Mit dem Korrekturfaktor wurden alle berechneten Ergebnisse der untersuchten Expressionsraten eines PCR-Durchganges multipliziert. Bei jedem PCR-Durchgang wurde entsprechend der GAPDH-Expression der Quotient erneut berechnet.

Die durchgeführte Methode zur Expressionsanalyse hat sich nach Angaben in der Literatur vor allem bei der Untersuchung von Proben mit geringen Transkriptmengen bewährt (Nash et al., 1998; Marone et al., 2001).

---

<sup>40</sup> Mastercycler Gradient, Eppendorf, Hamburg

<sup>41</sup> Kamerasystem Phoretix GrabberComputerprogramm Total Lab., Nonlinear Dynamics, Newcastle

<sup>42</sup> siehe Wehrend (1997)

<sup>43</sup> Ethidiumbromid, Sigma, Deisenhofen

<sup>44</sup> Nonlinear, Dynamics

### 3.1.5.6 Sequenzierung einer Teilsequenz des bovinen Östrogenrezeptors $\alpha$

Die Sequenzierung erfolgte im Genlabor der Abteilung für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie der Justus-Liebig-Universität Gießen (Prof. Dr. L. Gortner). Dazu wurden die PCR-Produkte über eine Säule<sup>45</sup> aufgereinigt. Anschließend fand eine direkte Sequenzierung nach dem Prinzip der Kettenabbruchmethode nach Angaben des Herstellers<sup>46</sup> statt.

Mit Hilfe des Computerprogrammes BLASTN 2.2.3 wurde die Nukleotidsequenz mit bekannten Sequenzen in der GenBank verglichen (Altschul et al., 1997).

### 3.1.6 Retrospektive Datenauswertung zur quantitativen Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis

Zur tierartlich vergleichenden Darstellung der quantitativen Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis erfolgte die Auswertung von Dystokiefällen bei Kühen/Rindern, Schafen, Stuten, Sauen und Hündinnen der Jahre 1992 bis Juli 2002.

Die Befunderhebungen geschahen nach den in der Klinik üblichen Untersuchungsgängen.

Dabei wurden an die Patientendaten folgende Einschlusskriterien gestellt:

- Beendigung der Geburt nur durch veterinärmedizinische Hilfestellung möglich
- Eindeutige Diagnose der Dystokieursache
- Entwicklung der Dystokie nach ungestörter Trächtigkeit und Ablauf der physiologischen Graviditätsdauer
- Nur beim Pferd und Hund erfolgte eine Unterscheidung zwischen absolut und relativ zu großem Fetus, da diese Einteilung in hohem Maß von der subjektiven Einschätzung des Geburtshelfers beeinflusst wird. Entsprechend der Untersuchung von Schulz und Bostedt (1995) wurden diese Dystokiefälle bei den anderen Tierarten unter dem Begriff „fetomaternales Missverhältnis“ zusammengefasst.
- Es erfolgte keine Differenzierung zwischen den verschiedenen Formen der Wehenschwäche.

---

<sup>45</sup> Qiaquick PCR Purifikation Kit®, Qiagen, Hilden

<sup>46</sup> 310 Gentech Analyser®, Applied Biosystems, Weiterstadt

- Bei den Rindergeburten fanden keine Fetotomien Berücksichtigung, da in diesen Fällen keine sichere Differenzierung zwischen primär mangelhafter Zervixöffnung als Geburtshindernis oder sekundär mangelhafter Zervixweite aufgrund einer überangenen Geburt getroffen werden konnte.

### 3.1.7 Untersuchungen zur Störung der Zervixinvolution beim Rind

In diesem Abschnitte der Arbeit stand die Beantwortung der Frage im Mittelpunkt, wie häufig zervikale Involutionsstörungen nach Schweregeburten beim Rind auftreten, und ob ein Zusammenhang zwischen dieser puerperalen Störung und dem vorausgehenden geburtshilflichen Eingriff besteht. Es wurden nur Rindergeburten und deren puerperaler Verlauf, die zwischen Mai 1998 und Juli 2002 in der Klinik stattfanden, aufgenommen. Tiere, deren Einlieferung in einer *Torsio uteri* begründet war, fanden keine Berücksichtigung, da diese Geburtsstörung einen Einfluss auf die Zervixinvolution besitzen soll (Tamm, 1997). Ebenso wurden keine Geburten verfolgt, bei denen massive Auszugversuche mit Verletzungen des weichen Geburtsweges vor Einlieferung in die Klinik stattgefunden hatten.

Die meisten geburtshilflichen Diagnosen und Eingriffe erfolgten durch den Autor (Fetotomie: 82 = 100 % der berücksichtigten Fälle; *Sectio caesarea*: 73 = 65 % der berücksichtigten Fälle; Konservative Geburtshilfe: 86 = 67,5 % der berücksichtigten Fälle). Nach jeder Geburt fanden die puerperalen Untersuchungen und die entsprechende Dokumentation der Zervixinvolution durch den Autor statt. Dazu erfolgte neben einer Allgemeinuntersuchung jeden zweiten Tag bis zum zehnten Tag *post partum* eine manuelle vaginale Exploration.

Als Zervixinvolutionsstörung wurde folgende Situation bewertet:

- Öffnungsgrad über 8 cm am zweiten Tag *post partum*
- Öffnungsgrad über 5 cm am vierten Tag *post partum*

Im zweiten Abschnitt dieser Teiluntersuchung wurde die puerperale Involution des Uterus und der Zervix von 77 Rindern aus dem Patientengut der Klinik über die ersten zehn Tage *post partum* dokumentiert. Dazu erfolgte jeden zweiten Tag eine vaginale und rektale Kontrolle der Zervix und der Gebärmutter. Ließ sich anhand der rektalen Untersuchung kein eindeutiger Befund über die uterine Situation erheben, schloss sich eine transrektale sonographische Kontrolle an (siehe 3.1.2.1).

Die Rückbildung der Gebärmutter wurde als gestört beurteilt, wenn das Organ am zehnten Tag *post partum* nicht abgrenzbar war und sich eine deutliche Flüssigkeitsfüllung zeigte. Die Beurteilung der Zervixinvolution erfolgte nach den oben aufgeführten Kriterien.

### 3.1.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung fand mit Unterstützung der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität Gießen unter Verwendung der Statistikprogramme BMDP (Dixon, 1993) und BIAS (Ackermann, 1998) statt. Zur Wiedergabe der Ergebnisse wurden Zahlen bis auf eine Stelle hinter dem Komma gerundet.

Bei der Benennung von Signifikanzen fanden folgende Bezeichnungen Verwendung:

- $p \leq 0,001$ : hoch signifikant
- $p \leq 0,01$ : signifikant
- $p \leq 0,05$ : schwach signifikant
- $p > 0,05$ : nicht signifikant

Die Datendeskription erfolgte durch die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes und der einfachen Standardabweichung. Lag keine Normalverteilung vor, wurde eine logarithmische Transformation durchgeführt (dekadischer Logarithmus). Die graphische Darstellung dieser Daten erfolgte als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Dieses Verfahren war bei der Bearbeitung der endokrinologischen Messwerte und der Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchungen notwendig.

Zur Beantwortung der Frage nach der speziesvergleichenden Bedeutung der Zervix als Dystokieursache, fand der Chi<sup>2</sup>-Test und eine anschließende Konfigurationsfrequenz-Analyse Anwendung (Lehmacher, 1981).

Mit Hilfe einer 2-faktoriellen Varianzanalyse wurde der Einfluss der Variablen Alter und Parität auf die notwendige geburtshilfliche Maßnahme (konservative Geburtshilfe, *Sectio caesarea*, Fetotomie), das Auftreten einer zervikal bedingten Dystokie und Involutionsstörungen der Zervix berechnet.

Die Überprüfung der These, dass eine mangelhafte Öffnung der Zervix in der Regel eine *Sectio caesarea* notwendig macht und dass vermehrt Involutionsstörungen der Zervix nach Fetotomie auftreten, erfolgte durch den Chi<sup>2</sup>-Test (Sachs, 1997).

Mit dem gleichen statistischen Verfahren fand die Überprüfung der Aussage, dass kein Zusammenhang zwischen der Ausbildung einer Involutionsstörung des Uterus und der Zervix *post partum* bestehe, statt.

Zur Beschreibung der Zervixinvolution bis zum siebten Tag *post partum* wurde versucht, diesen Vorgang mit Hilfe eines mathematischen Modelles in Form einer Exponentialfunktion zu beschreiben. Weiterhin erfolgte durch eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen im Faktor Zeit die Überprüfung, ob sich die zu beobachtende Zervixöffnung zwischen dem siebten und zehnten Tag *post partum* statistisch absichern lässt.

Die Messwerte der endokrinologischen Untersuchungen wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung im Faktor Zeit bearbeitet. Anschließend erfolgte die Berechnung des Kreuzkorrelationskoeffizienten zwischen der Zervixinvolution und den Östrogen- und Progesteronkonzentrationsverläufen.

Die lichtmikroskopischen Ergebnisse wurden hinsichtlich der Einflußfaktoren Zeitpunkt der Entnahme, Herkunft der Probe (Vagina oder Zervix) und Lokalisation der Probenentnahme aus dem Organ (*Tunica mucosa*, *Tunica muscularis*) mit Hilfe einer dreifaktoriellen Varianzanalyse bearbeitet.

Die Messwerte der RT-PCR des Östrogenrezeptor  $\alpha$  wurden mit Hilfe einer Trendanalyse mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman hinsichtlich der Einflussgröße Zeit beschrieben. Weiterhin erfolgte eine zweiseitiger exakter Test.

## 3.2 Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden zuerst die Resultate der Untersuchungen zur makroskopischen Involution der Zervix nach Spontangeburt während der ersten zehn Tage *post partum* vor dem Hintergrund der endokrinologischen Veränderungen in diesem Zeitraum dargestellt. Anschließend erfolgt die Wiedergabe der histologischen Ergebnisse. Dabei dienten ovines Zervikal- und Vaginalgewebe, das *intra partum* gewonnen wurde, und entsprechende bovine Organteile, die von interöstrischen Tieren stammten, als Vergleichsproben.

Nach Darstellung der molekularbiologischen Daten zur Expression des Östrogenrezeptors  $\alpha$  in der Vagina werden am Ende dieses Abschnittes die Ergebnisse der retrospektiven und klinischen Untersuchungen zur Bedeutung der Zervix als Dystokieursache beim Rind und mögliche Einflussfaktoren auf eine gestörte Zervixinvolution wiedergegeben.

### 3.2.1 Makroskopisch physiologische Involution der Zervix

Bei zehn Kühen wurde nach Eutokie die Reduktion der intrapartalen Zervixöffnung bis zum zehnten Tag nach der Geburt aufgezeichnet. Vom ersten Untersuchungszeitpunkt an - direkt nach Expulsion des Kalbes – zeigt sich eine durchschnittliche Reduktion des Zervikalkanaldurchmessers von  $26,9 \pm 1,3$  cm bis auf  $1,9 \pm 0,3$  cm am siebten Tag *post partum* (Tabellen 2, 3; Abbildungen 4, 5). In diesem Zeitraum findet der Involutionsvorgang nicht gleichmäßig statt, sondern einer Phase mit protrahiertem Schluss des Muttermundes folgt einer Periode der schnellen Involution. In einer genaueren Beschreibung dieses Vorganges zeigt sich eine Verkleinerung des *Canalis cervicalis* um 82,5 % während der ersten 24 Stunden. In den anschließenden Tagen nimmt die Reduktionsgeschwindigkeit kontinuierlich ab (Abbildung 6).

Bei vier Kühen ist der minimalste Durchmesser am sechsten Tag nach der Geburt erreicht, bei sechs Tieren stellt sich dieser Zustand erst einen Tag später ein (Tabelle 3). Insgesamt steigt der Öffnungsgrad der Zervix zwischen dem siebten bis zum zehnten Tag *post partum* wieder auf  $5,6 \pm 0,6$  cm an. Diese Zunahme des Lumendurchmessers ist statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ).

Tabelle 2: Reduktion des *Canalis cervicalis* von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum* als individuelle Werte und arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichung (s) in cm.

Std.	0	2	4	6	8	12	16	24
Kuh								
1	26,2	18,3	16,7	11,6	12,4	6,4	7,3	5,8
2	27,6	19,7	17,3	10,5	7,8	5,9	9,3	4,7
3	24,8	22,1	16,4	17,8	13,1	11,4	7,8	7,5
4	27,5	18	17,2	9,8	7,5	7,4	8,9	6,8
5	25,3	19,2	15,2	11,1	6,8	5,8	9,3	7,1
6	28,3	20,6	14,7	13,2	10,5	11,2	5,6	6,1
7	27,4	17,3	12,5	13,8	6,3	9,3	7,2	7,3
8	25,8	19,3	16,4	10,3	7,2	8,1	9,6	5,9
9	27,3	18,2	15,3	9,7	10,6	9,4	6,2	6,4
10	28,4	16,4	12,7	9,2	8,3	7,5	5,2	5,8
$\bar{x}$	26,9	18,9	15,4	11,7	9,1	8,2	7,6	6,3
$\pm s$	1,3	1,6	1,7	2,6	2,4	2,0	1,6	0,9

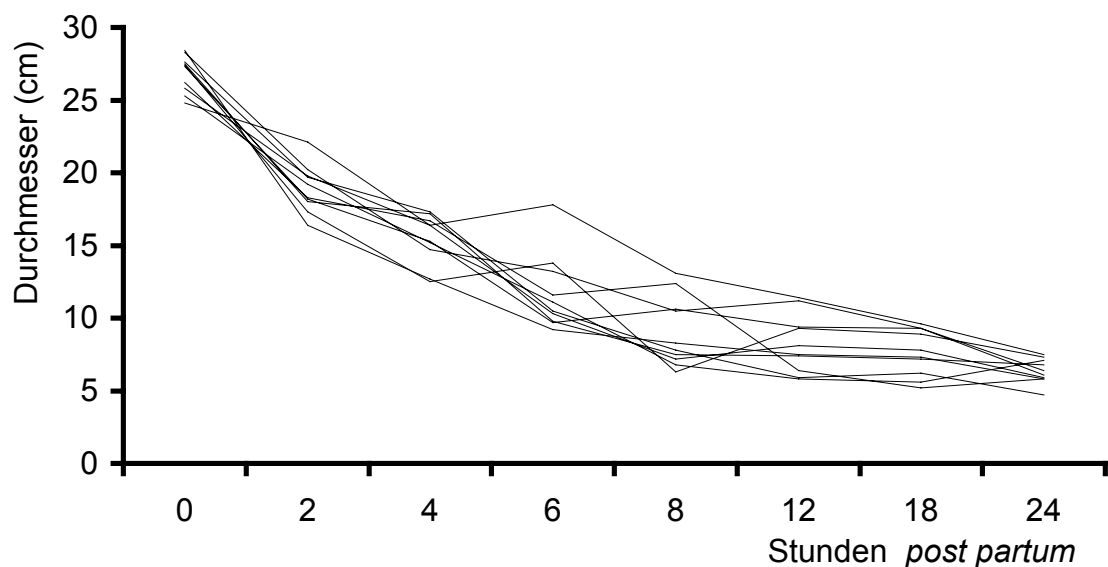


Abbildung 4: Zervixschluss von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum*.

Tabelle 3: Reduktion des *Canalis cervicalis* von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum* als individuelle Werte und arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichung (s) in cm.

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kuh											
1	26,2	5,8	4	4,3	2	2,3	1,8	2,3	3,4	4,2	5,2
2	27,6	4,7	4,3	3,8	4,4	3,1	2,7	1,9	2,3	3,9	5,8
3	24,8	7,5	3,8	2,5	3,4	2,4	2,1	1,6	1,9	2,7	6,2
4	27,5	6,8	5,4	4,3	3,9	3,2	2,1	1,9	2,1	3,8	5,9
5	25,3	7,1	5,6	3,7	3,1	2,8	2,4	1,6	2,2	3,2	4,8
6	28,3	6,1	4,5	4,1	3,7	2,4	1,6	2,3	2,1	4,2	5,3
7	27,4	7,3	4,3	3,8	4,1	2,7	1,9	1,7	1,9	3,9	6,2
8	25,8	5,9	5,1	3,6	2,9	2,3	2	2,6	2,3	4,7	4,9
9	27,3	6,4	7,2	4,1	3,1	2,6	1,5	2,1	3,1	4,8	5,2
10	28,4	5,8	4,9	3,2	2,5	2,3	2,1	1,9	2,4	3,6	6,4
$\bar{x}$	26,9	6,3	4,9	3,7	3,3	2,6	2,0	2,0	2,4	4,0	5,6
$\pm s$	1,3	0,9	0,6	0,7	0,3	0,4	0,3	0,5	0,6	0,6	0,6

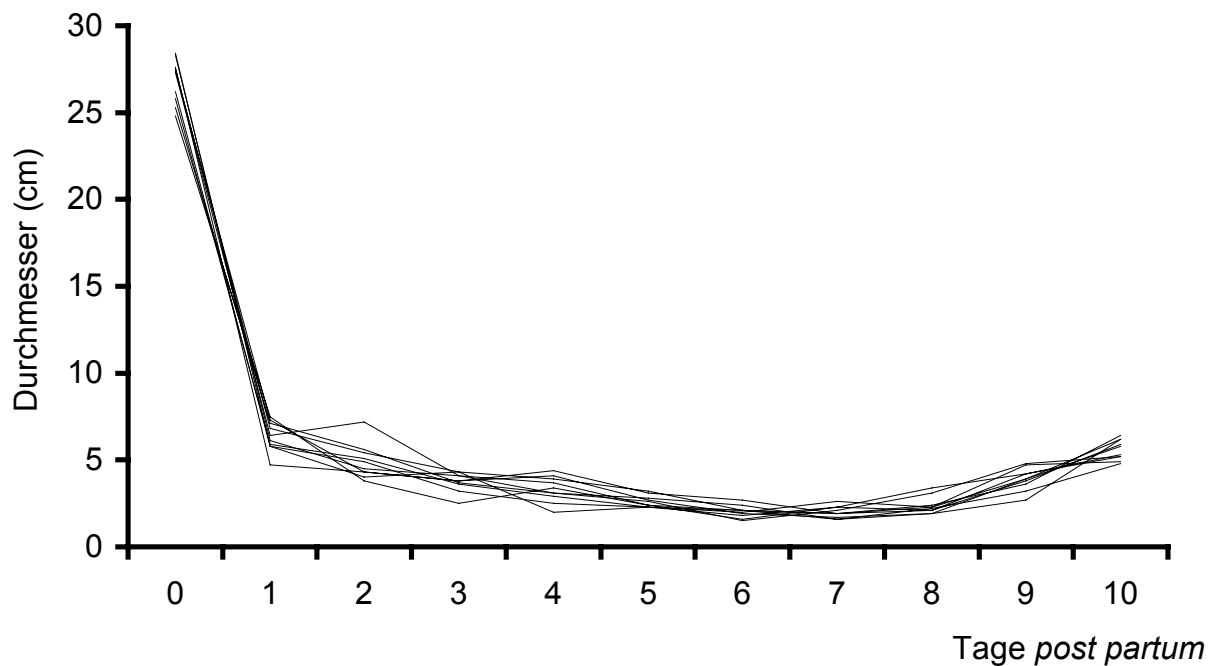


Abbildung 5: Zervixschluss von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum*.

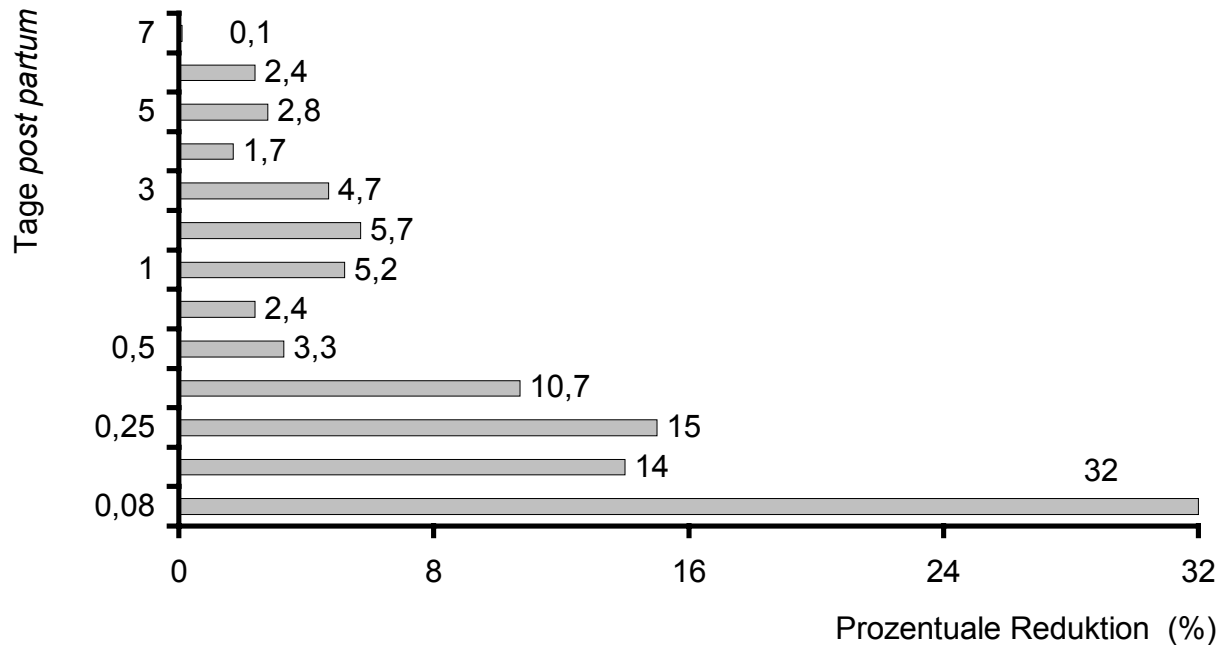


Abbildung 6: Prozentuale Reduktion bezogen auf die maximale Öffnung unmittelbar nach der Geburt bis zum siebten Tag *post partum* als arithmetischer Mittelwerte. Bei dieser Darstellung wird die Reduktion vom Geburtszeitpunkt bis zum siebten Tag als 100 % gesetzt.

Es wurde versucht, den Reduktionsvorgang mit Hilfe eines mathematischen Modelles als nicht lineare Regression durch eine Exponentialfunktion zu charakterisieren:

$$y = \text{Basiswert} + \text{Reduktion} \times e^{-b \times t}$$

Basiswert = Maximale Öffnung am ersten Messzeitpunkt

Reduktion = Reduktion vom Basiswert auf den Endwert

-b = exponentieller Steigungskoeffizient

Da der Zervixdurchmesser mit der Zeit abfällt, besitzt der Koeffizient ein negatives Vorzeichen.

t = Durch diese Variable findet der Faktor Zeit Eingang in die Gleichung.

Dabei zeigte sich, dass die beobachteten Werte eine hohe Divergenz zu den errechneten Werten aufwiesen, was am Beispiel der Kuh Nr. 10 deutlich wird (Abbildung 7).

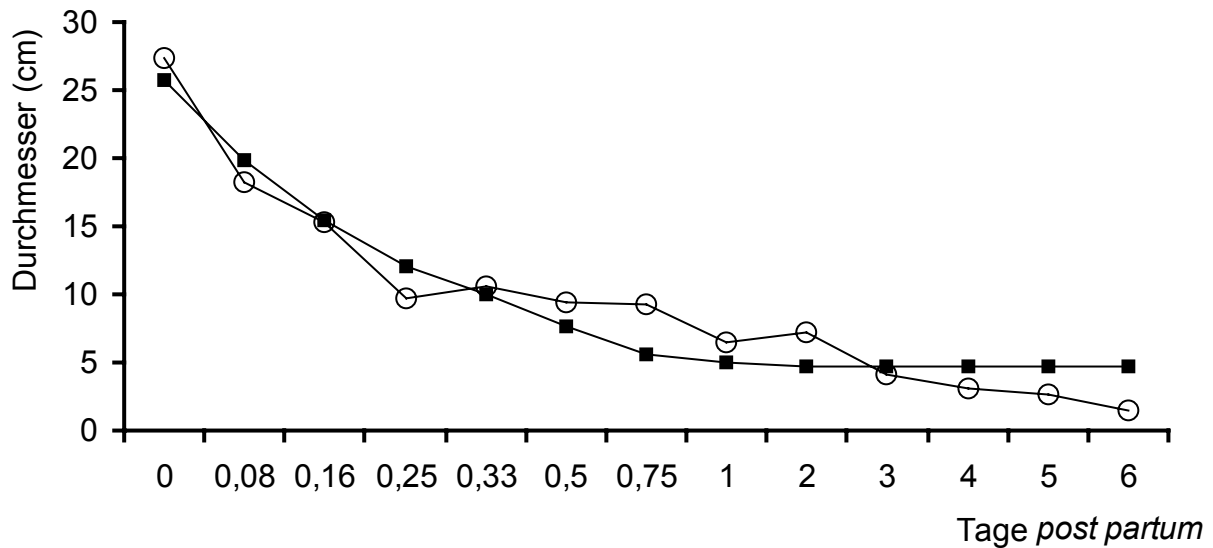


Abbildung 7: Vergleich der beobachteten (O) und errechneten (■) Werte mit Hilfe einer Exponentialfunktion ( $y = \text{Basiswert} + \text{Reduktion} \times e^{-b \times t}$ ) am Beispiel der Kuh Nummer 10.

Durch die Verwendung von zwei Regressionsgleichungen gelingt es, die Reduktion in Übereinstimmung mit dem beobachtetem Verlauf besser zu beschreiben (Abbildung 8 - 10).

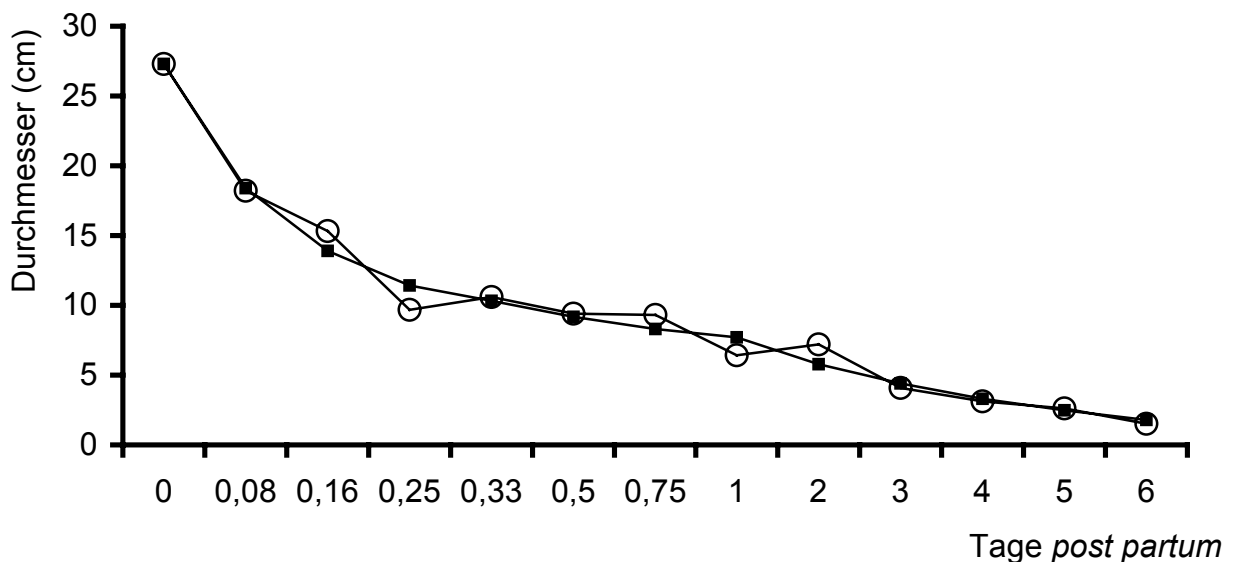


Abbildung 8: Vergleich der beobachteten (O) und errechneten (■) Werte durch die Summe zweier Exponentialfunktionen ( $y = \text{Reduktion 1} \times e^{-b_1 \times t} + \text{Reduktion 2} \times e^{-b_2 \times t}$ ) am Beispiel der Kuh Nummer 10.

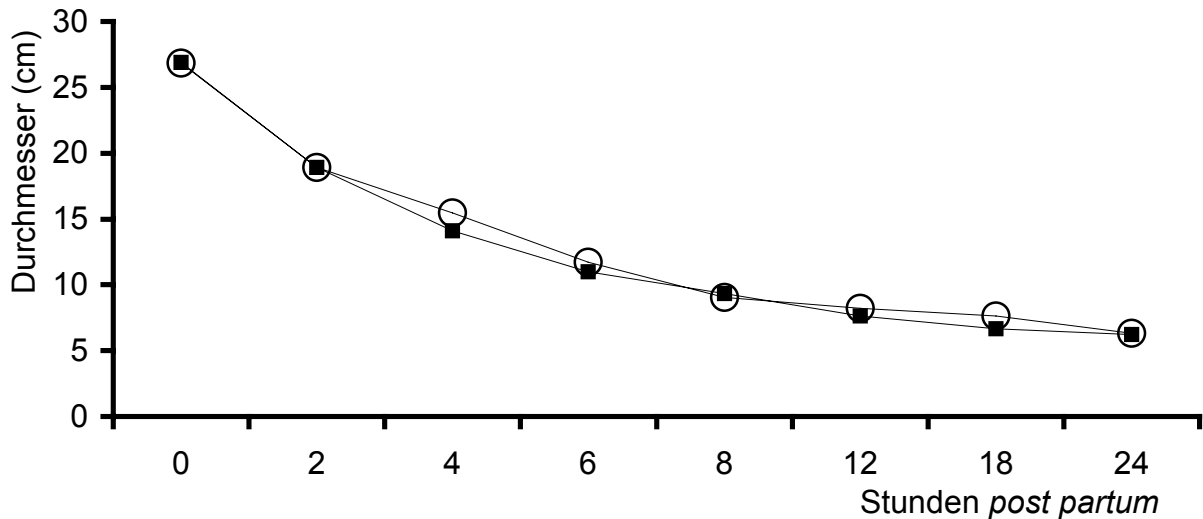


Abbildung 9: Vergleich der beobachteten (O) und errechneten (■) Mittelwerte ( $y = 19,09 \times e^{-6,66 \times t} + 7,71 \times e^{-0,21 \times t}$ ) während der ersten 24 Stunden *post partum*.

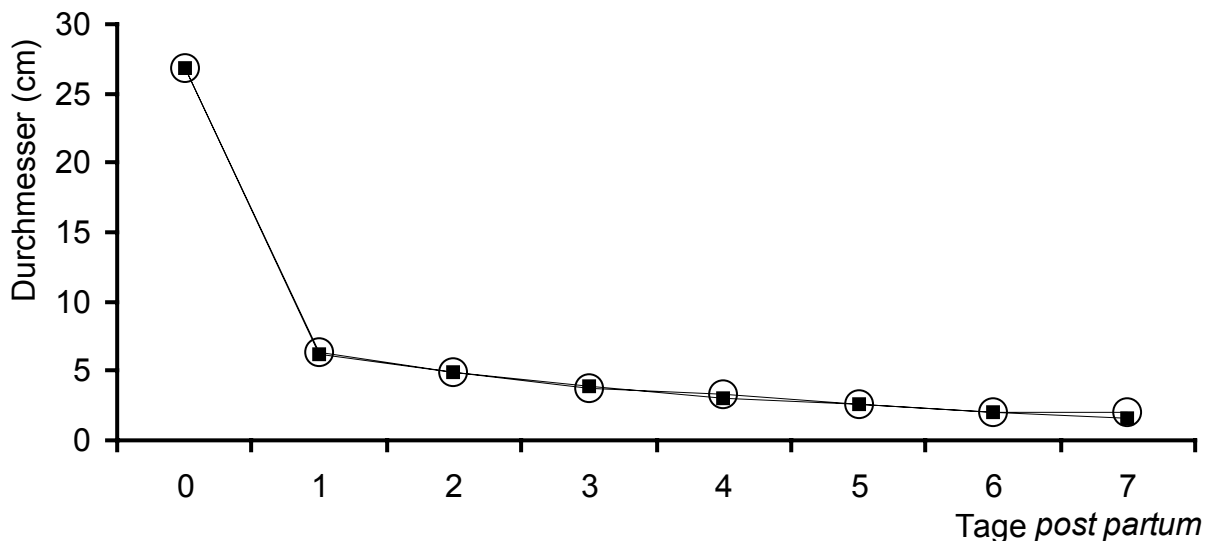


Abbildung 10: Vergleich der beobachteten (O) und errechneten (■) Mittelwerte ( $y = 19,09 \times e^{-6,66 \times t} + 7,71 \times e^{-0,21 \times t}$ ) während der ersten sieben Tage *post partum*.

Der Reduktionsvorgang kann demnach als Summe von zwei Exponentialfunktionen mit unterschiedlichem Steigungskoeffizienten dargestellt werden:

$$y = \text{Reduktion 1} \times e^{-b_1 \times t} + \text{Reduktion 2} \times e^{-b_2 \times t}$$

Diese mathematische Beschreibung unterstützt die Beobachtung, dass sich der Gesamtreduktionsvorgang in zwei Phasen unterteilt - eine Periode der schnellen und eine Phase der langsamen Reduktion. Für beide Abschnitte gelten unterschiedliche Halbwertszeiten (Tabellen 5, 6), die sich wie folgt errechnen:

$$G = \ln 2 / b$$

G = Halbwertszeit als Maß der Schnelligkeit der Involution

b = exponentieller Steigungskoeffizient

Tabelle 5: Individuelle Werte, arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (s) der Variablen Reduktion (R1), exponentielle Steigung (b1) und Halbwertszeit (G1) bei zehn Kühen. Die Halbwertszeiten der Kühe mit der schnellsten Reduktion sind grau unterlegt.

1. Phase (schnelle Reduktion)			
Kuh	Reduktion (R1)	Exponentielle Steigung (b1)	Halbwertszeit (G1) in Std.
1	19,9	- 4,2	3,8
2	22,7	- 5,2	3,1
3	18,1	- 2,3	7,2
4	20,0	- 6,7	2,4
5	19,5	- 5,8	2,9
6	17,8	- 7,2	2,4
7	17,6	- 9,7	1,7
8	18,9	- 6,0	2,9
9	17,0	- 8,8	1,9
10	20,0	- 10,1	1,7
$\bar{x}$	19,2	- 6,6	2,0
$\pm s$	1,6	2,5	1,6

Tabelle 6: Individuelle Werte, arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) mit Standardabweichung (s) der Variablen Reduktion (R2), exponentielle Steigung (b2) und Halbwertszeit bei zehn Kühen. Die Halbwertszeiten (G2) der Kühe mit der schnellsten Reduktion sind grau unterlegt.

2. Phase (langsame Reduktion)			
Kuh	Reduktion (R2)	Exponentielle Steigung (b2)	Halbwertszeit (G2) in Std.
1	5,7	- 0,2	98,4
2	5,2	- 0,1	161,5
3	6,3	- 0,2	83,0
4	7,5	- 0,2	91,9
5	6,4	- 0,2	101,8
6	10,5	- 0,3	55,0
7	9,7	- 0,3	61,0
8	7,4	- 0,2	81,6
9	10,2	- 0,3	61,0
10	8,3	- 0,3	62,6
$\bar{x}$	7,7	- 0,2	85,8
$\pm s$	1,9	0,1	31,5

Auffällig ist, dass es bei fünf Tieren (Kühe 1, 2, 3, 7, 9) zu einer Unterbrechung des Reduktionsvorganges am zweiten (Kuh 9), dritten (Kuh 1) oder vierten Tag *post partum* (Kühe 2, 3, 7) mit einer erneuten, geringgradigen Öffnung kommt (Tabelle 3; Abbildung 11).

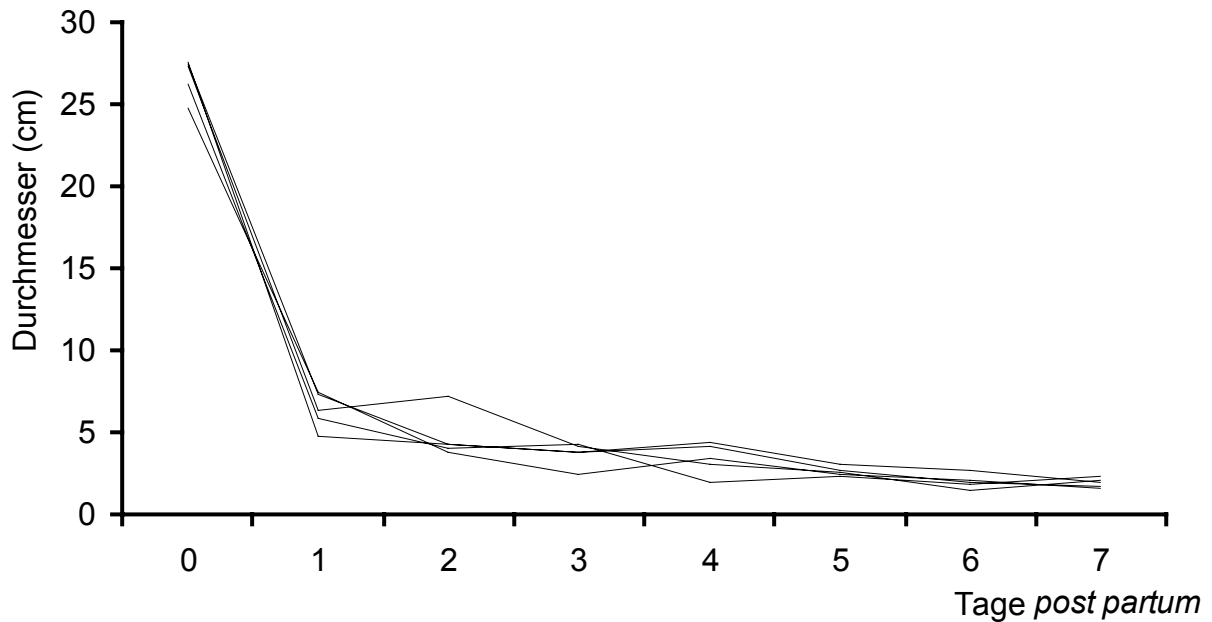


Abbildung 11: Zervixschluss der Kühe 1, 2, 3, 7, 9 während der ersten sieben Tage *post partum*.

Diese Beobachtung ist kein Charakteristikum für einen verzögerten Zervixschluss, da die beiden Tiere 7 und 9 zu den Individuen mit der schnellsten Reduktionsgeschwindigkeit zählen (Tabellen 5, 6).

Von den fünf Kühen mit der schnellsten Reduktion in der ersten Phase (Tiere 4, 6, 7, 9, 10) befinden sich vier Kühe ebenfalls in der Gruppe der Tiere mit der schnellsten Reduktion in der zweiten Phase (Tiere 6, 7, 8, 9, 10).

Die sonographischen Untersuchungen an den zehn Tieren der Gruppe 2 zeigen ab dem dritten Tag *post partum* eine Formierung der *Plicae cervicales* (Abbildung 12). Dabei beginnt die Reorganisation der Strukturen kranial und schreitet nach kaudal fort (Abbildung 13).

Bis zum dritten Tag *post partum* kann bei allen Kühen ein Lumen im Zervikalkanal nachwiesen werden, welches vom vierten bis zum siebten Tag verschwindet und am Ende des Untersuchungszeitraumes bei allen Tieren wieder darstellbar ist.

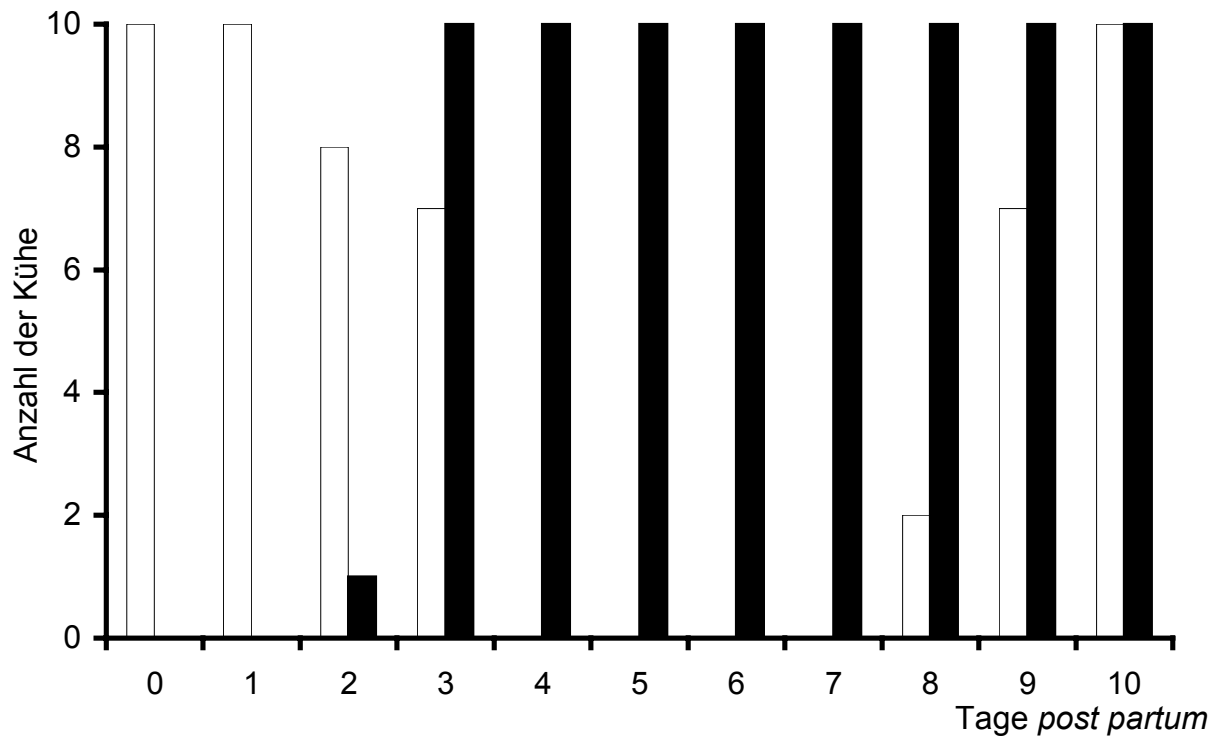


Abbildung 12: Sonographische Darstellbarkeit der *Plicae cervicales* (■) und des Lumens des *Canalis cervicalis* (□) bei zehn Kühen *post partum*.

Zusammenfassend lässt sich die Involution der Zervix bis zum zehnten Tag *post partum* in vier Phasen unterteilen:

- Schnelle Reduktion bis zur sechzehnten Stunde *post partum*
- Protrahierte Reduktion bis zum zweiten Tag *post partum* ohne nachweisbare Ringfaltenbildung
- Protrahierte Reduktion bis zum siebten Tag *post partum* mit zunehmender Ringfaltenbildung
- Erneute, diskrete Öffnung bis zum zehnten Tag *post partum* unter Erhaltung der Faltenstruktur

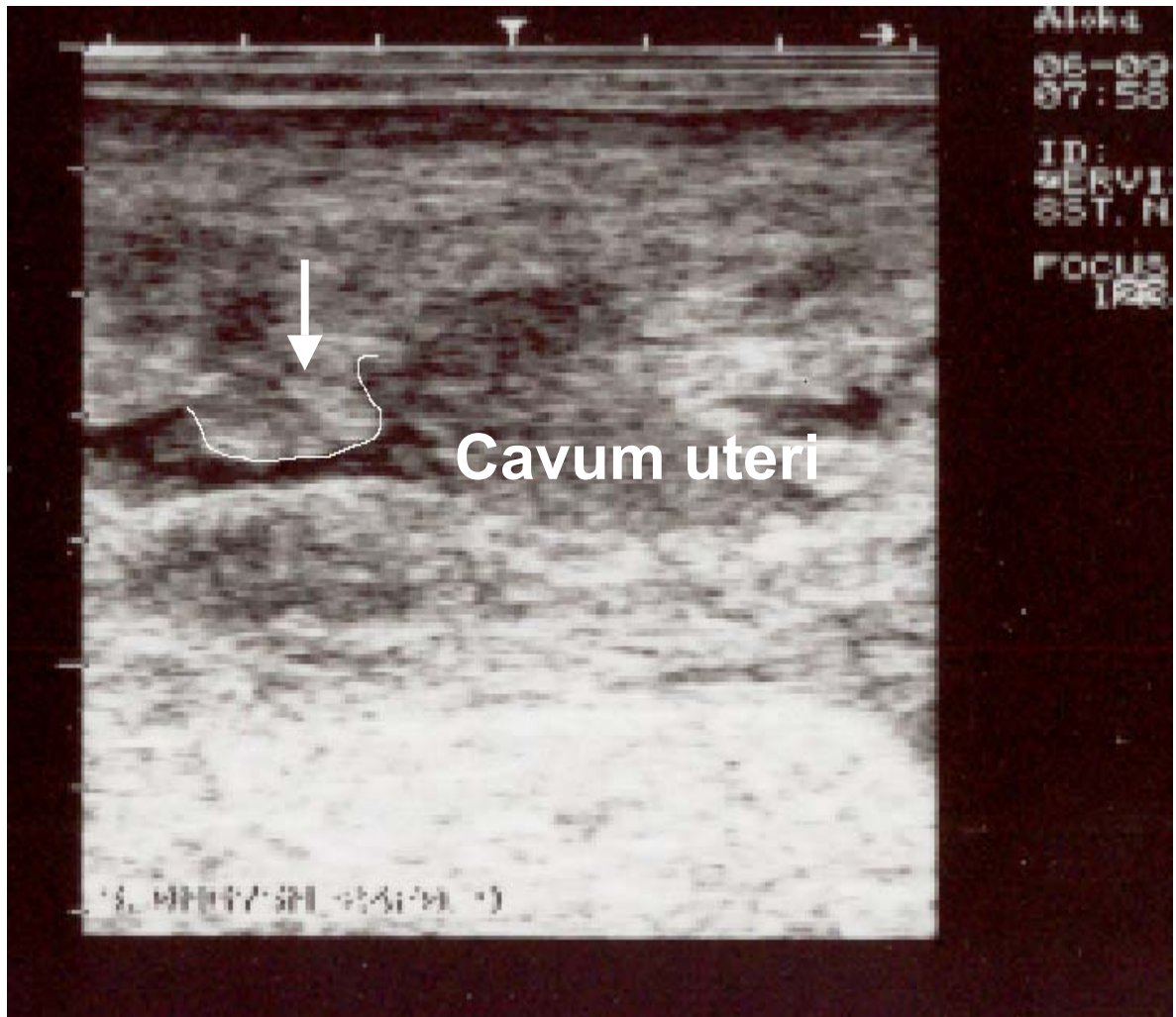


Abbildung 13: Sonographische Darstellung der Formierung einer Zervikalfalte am 3. Tag *post partum*. Die Zervikalfalte ist graphisch markiert (Aloka SSD 500; 5,0 MHz).

### 3.2.2 Verlauf der peripheren Konzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östradiol-17 $\beta$ während der ersten zehn Tage *post partum*

Parallel zur Messung der Zervixinvolution wurden von den zehn Kühen der Gruppe 1 Blutproben zur Bestimmung der Steroidhormonkonzentrationen Progesteron und Östradiol-17 $\beta$  entnommen, um den physiologischen Verlauf des Frühpuerperiums bei den Tieren unter endokrinologischen Aspekten zu verifizieren. Außerdem war dieses Vorgehen notwendig, um die Reduktion des Zervikalkanaldurchmessers mit Hilfe einer Kreuzkorrelation in Bezug zur den zeitlichen Veränderungen der Hormonkonzentrationen zu bewerten.

Bei der Auswertung der endokrinologischen Daten ergibt sich eine rechtsschiefe Verteilung. Aus diesem Grund wird im Folgenden der geometrische Mittelwert und der Streufaktor angegeben.

Die initialen Progesteronwerte ( $1,5 \pm 0,4$  ng/ml) sind nach 24 Stunden um die Hälfte abgefallen (Tabelle 7, Abbildung 14). Bis zum zehnten Tag *post partum* verringert sich die Hormonkonzentration auf  $0,3 \pm 1,3$  ng/ml (Tabelle 9; Abbildungen 16). Dabei fällt auf, dass ab dem zweiten Tag nur noch geringgradige Veränderungen nachzuweisen sind. So bleibt der geometrische Mittelwert am dritten und vierten Tag bei 0,5 ng/ml, vom fünften bis zum siebten Tag bei 0,4 ng/ml und weist an den drei letzten Tagen des Entnahmezeitraumes einen Wert von 0,3 ng/ml auf.

Die Veränderungen der Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen zeigen eine ähnliche Kinetik. Bereits vier Stunden nach der Geburt sind die Plasmawerte unter die Hälfte der initialen Konzentrationen abgesunken (Tabelle 8; Abbildung 15). Nach 24 Stunden ist ein Wert von  $22,2 \pm 2,4$  pg/ml nachweisbar. Während der letzten sechs Tage können nur noch geringgradige Veränderungen beobachtet werden (Tabelle 10; Abbildung 17). Auffällig sind die Werte am dritten Tag bei den Kühen 4 und 5, die eine kurzfristige Erhöhung der Östrogenkonzentrationen zeigen.

Zusammenfassend zeichnet sich das Verhalten der peripheren Konzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östradiol-17 $\beta$  durch einen schnellen Abfall im geburtsnahen Zeitraum und eine anschließende protrahierte Reduktion aus (Abbildung 18).

Tabelle 7: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum* als individuelle Werte und geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Std.	0	2	4	6	8	12	16	24
Kuh								
1	2,3	1,9	1,4	1,4	1,3	1,5	1,3	1,2
2	1,4	1,1	1,0	1,1	0,7	1,1	0,7	0,7
3	1,6	1,1	1,1	1,0	0,8	1,1	0,7	0,9
4	1,9	1,1	1,1	1,1	1,0	1,1	1,1	1,0
5	1,5	1,2	0,8	0,7	0,8	1,1	0,8	0,9
6	1,6	1,1	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7
7	1,2	1,2	1,0	0,7	0,8	0,6	0,5	0,5
8	1,2	0,8	0,7	0,8	0,8	0,6	0,5	0,5
9	1,3	1,2	0,7	1,0	0,9	0,9	0,6	0,5
10	1,0	1,2	0,9	1,0	0,6	0,8	0,5	0,4
$\bar{x}_g \pm$	1,5 $\pm$	1,2 $\pm$	1,0 $\pm$	0,9 $\pm$	0,8 $\pm$	0,9 $\pm$	0,8 $\pm$	0,7 $\pm$
SF	1,3	1,2	1,2	1,2	1,2	1,3	1,4	1,4

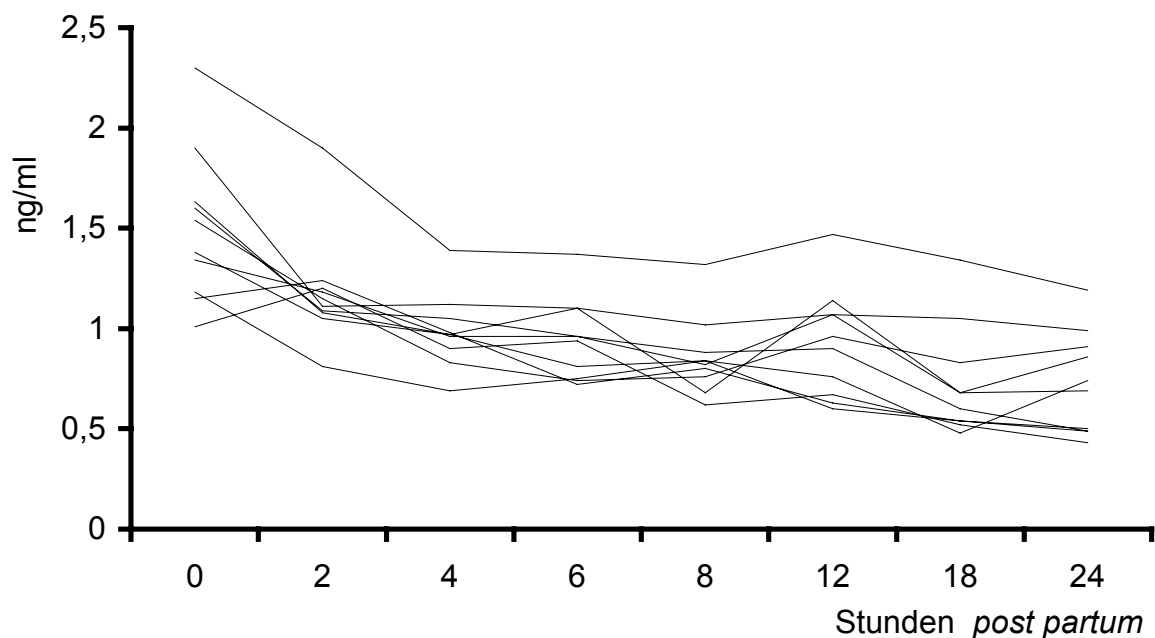


Abbildung 14: Plasma-Progesteronkonzentrationen von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum*.

Tabelle 8: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen (pg/ml) von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum* als individuelle Werte und geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Std.	0	2	4	6	8	12	16	24
Kuh								
1	507,6	485,6	456,4	351,8	305,4	273	105,4	56,24
2	277,4	186,4	91,08	68,6	36,4	28,9	16,4	7,96
3	764,4	515,4	390,6	131,9	98,9	73,3	36,2	33,8
4	649,2	466,8	159,3	122,4	136,9	97,6	79,6	58,5
5	575,6	426,6	323,2	145,5	149,3	115,6	100,7	83,7
6	601	391,6	213,2	198,6	71,9	59,6	28,4	23,9
7	962	862,6	215,4	71,7	63,8	41,5	27,5	13,1
8	400,4	642	181,2	103,2	56,1	30,5	20,6	15,4
9	377,2	351,4	133,2	52	53,6	24	19,4	7,9
10	700,2	365,2	140,4	63,8	31,2	19,9	16,2	10,2
$\bar{x}_g \pm$	548,4 $\pm$	437,8 $\pm$	204,8 $\pm$	110,7 $\pm$	79,2 $\pm$	54,6 $\pm$	34,7 $\pm$	22,2 $\pm$
SF	1,4	1,5	1,7	1,8	2,0	2,3	2,1	2,4

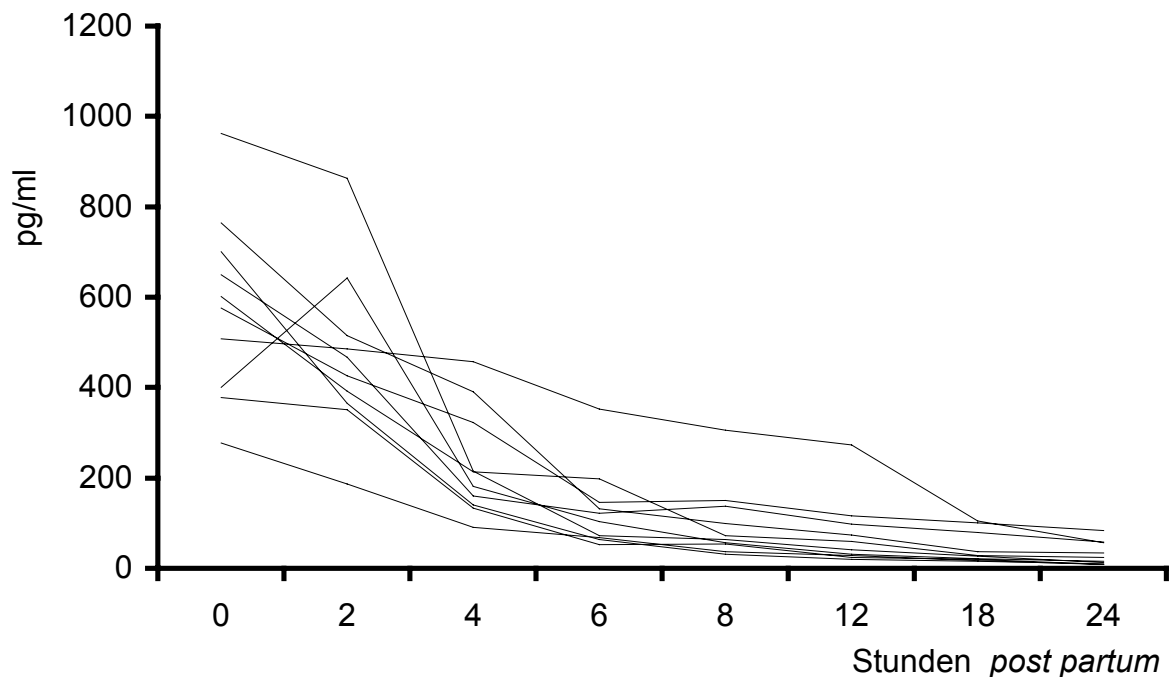


Abbildung 15: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen von zehn Kühen während der ersten 24 Stunden *post partum*.

Tabelle 9: Plasma-Progesteronkonzentrationen (ng/ml) von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum* als individuelle Werte und geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tage	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kuh											
1	2,3	1,2	1,2	0,6	0,9	0,8	0,6	0,7	0,6	0,6	0,2
2	1,4	0,7	0,5	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
3	1,6	0,9	0,9	0,6	0,5	0,5	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4
4	1,9	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,7	0,9	0,9	0,5	0,5
5	1,5	0,9	0,9	0,7	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2
6	1,6	0,7	0,7	0,4	0,5	0,5	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3
7	1,2	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
8	1,2	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
9	1,3	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3
10	1,0	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
$\bar{x}_g \pm$	1,5 $\pm$	0,7 $\pm$	0,6 $\pm$	0,5 $\pm$	0,5 $\pm$	0,4 $\pm$	0,4 $\pm$	0,4 $\pm$	0,3 $\pm$	0,3 $\pm$	0,3
SF	1,3	1,3	1,6	1,4	1,4	1,5	1,4	1,6	1,6	1,3	$\pm 1,3$

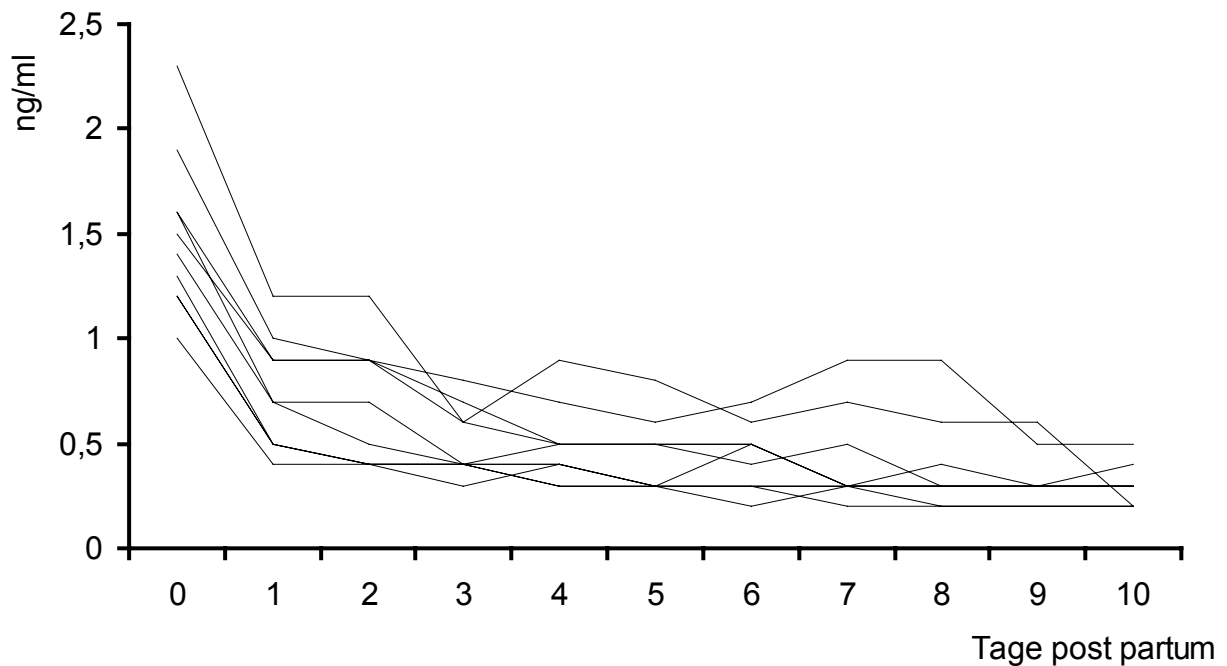


Abbildung 16: Plasma-Progesteronkonzentrationen von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum*.

Tabelle 10: Plasma-Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration (pg/ml) von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum* als individuelle Werte und geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kuh											
1	507,6	56,2	27,6	4,4	2,8	4,2	1,7	3,5	3,5	17,2	1,4
2	277,4	8,0	3,9	2,6	4	11,6	5,2	4,3	3,3	2,2	3,6
3	764,4	33,8	8	4,5	2,6	1,7	1,7	1,9	3,5	2	1,0
4	649,2	58,5	32,7	106	91,7	50,2	42,8	3,2	<1	1,8	1,6
5	575,6	83,7	48,3	72,5	7,5	6	5,2	5,3	7,5	5,5	3,6
6	601	23,9	7,8	6,7	6	7,6	7	7,2	4,3	5,2	5,8
7	962	13,1	5,8	3,9	3,9	3,8	2,4	4	4,2	3	1
8	400,4	15,4	7,8	6,4	5,9	5,9	3	5,2	5,4	6,8	6,8
9	377,2	7,9	2,7	1,7	2,4	<1	<1	<1	<1	2,4	3,1
10	700,2	10,2	3,9	1	<1	<1	<1	1,2	<1	2,1	5
$\bar{x}_g$	548,4 $\pm$	22,2 $\pm$	9,3 $\pm$	6,4 $\pm$	4,5 $\pm$	4,0 $\pm$	2,9 $\pm$	2,9 $\pm$	2,7 $\pm$	3,6 $\pm$	2,7 $\pm$
$\pm$ SF	1,4	2,4	2,7	4,5	3,7	4,1	3,7	2,2	2,9	1,7	2,3

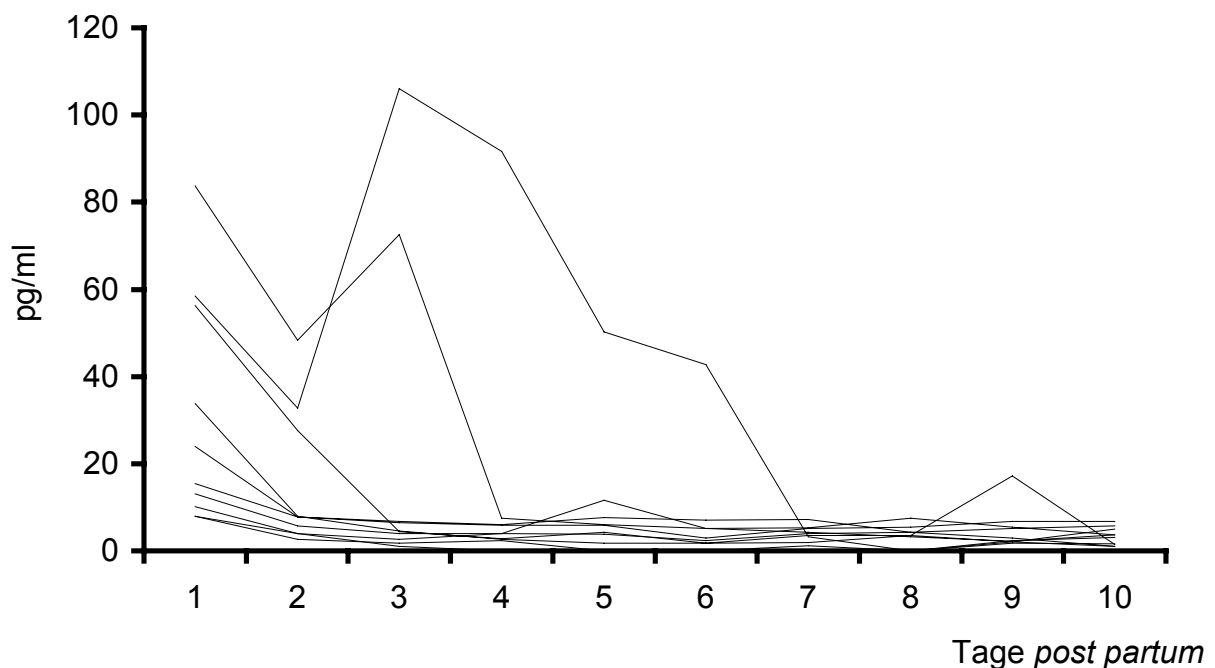


Abbildung 17: Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum*.

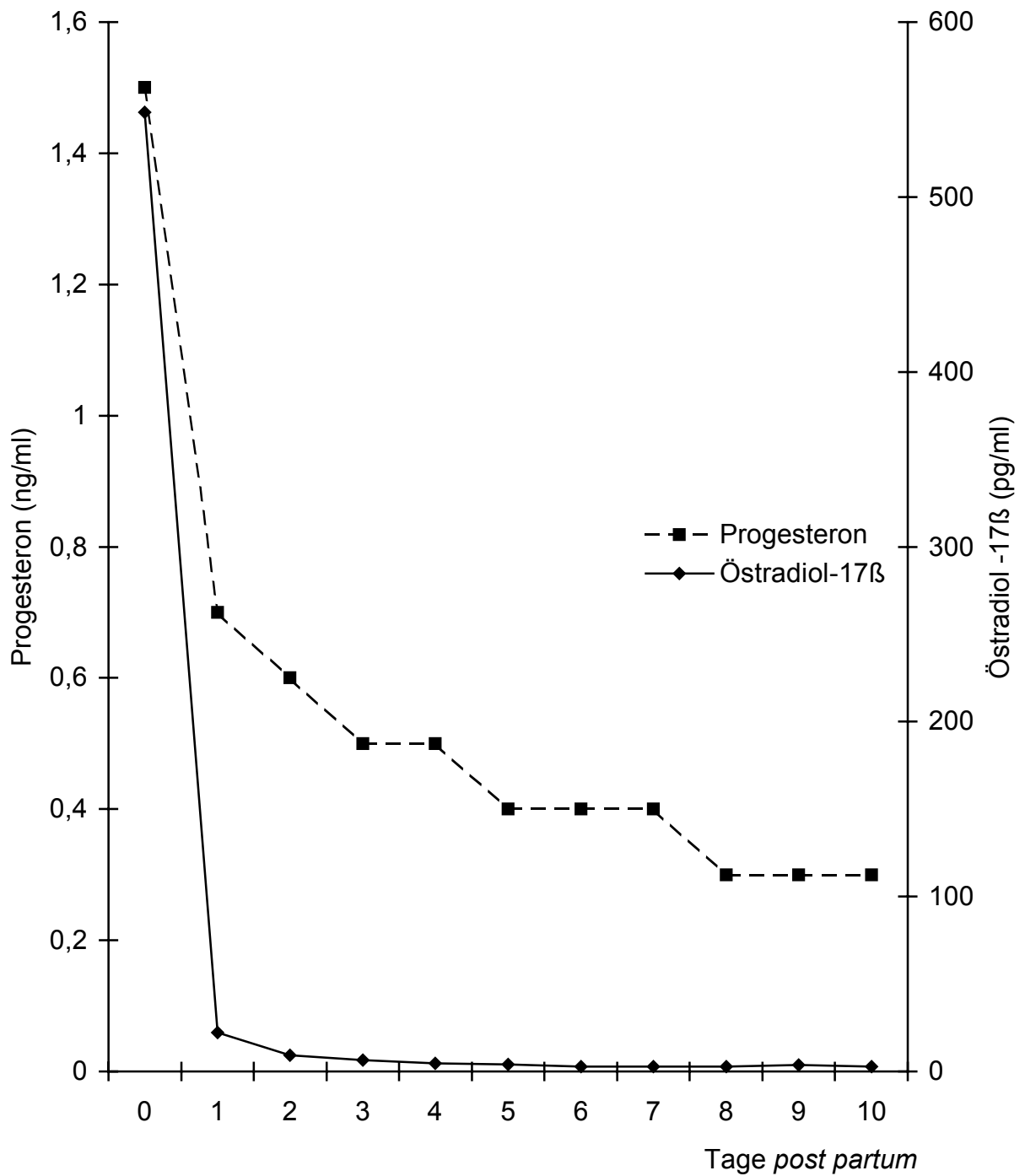


Abbildung 18: Progesteron- und Östradiol-17β-Konzentrationen von zehn Kühen während der ersten zehn Tage *post partum*, dargestellt als geometrische Mittelwerte.

Der Kreuzkorrelationskoeffizient zwischen dem Verlauf der Zervixinvolution und dem Abfall der Steroidhormon-Konzentrationen beträgt  $r = 0,726$  (Involution – Progesteronwerte) und  $r = 0,847$  (Involution – Östrogenwerte). Der Zusammenhang ist jeweils statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ), was auf eine zeitliche Koinzidenz der Reduktion des Zervikalkanaldurchmessers und der peripheren Steroidhormonwerte hinweist. Bemerkenswert erscheint, dass die Öffnung des Gebärmuttermundes zwischen dem siebten und zehnten Tag nicht mit einer entsprechenden Erhöhung der peripheren Steroidhormonkonzentrationen assoziiert ist.

Die Kinetik der Hormonwerte im Verlauf der ersten zehn Tage nach der Geburt im Vergleich zu den Veränderungen des Durchmessers des *Canalis cervicalis* sind in Abbildung 19 dargestellt.

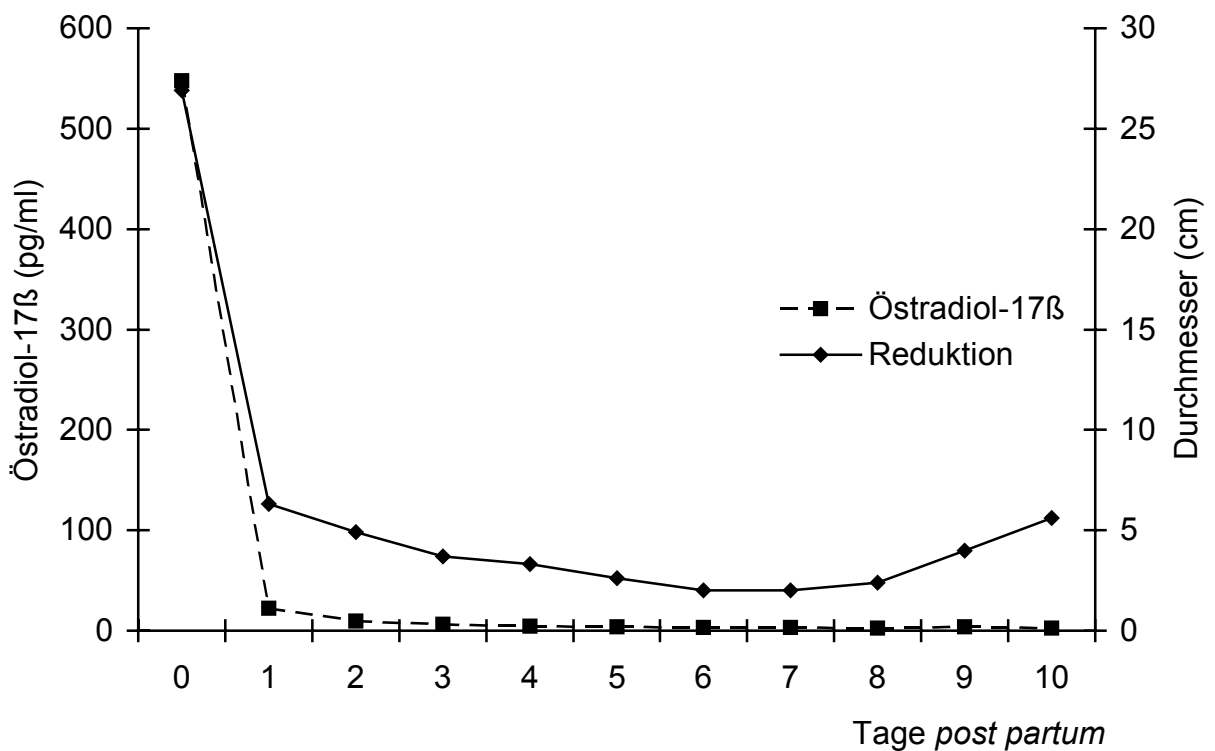
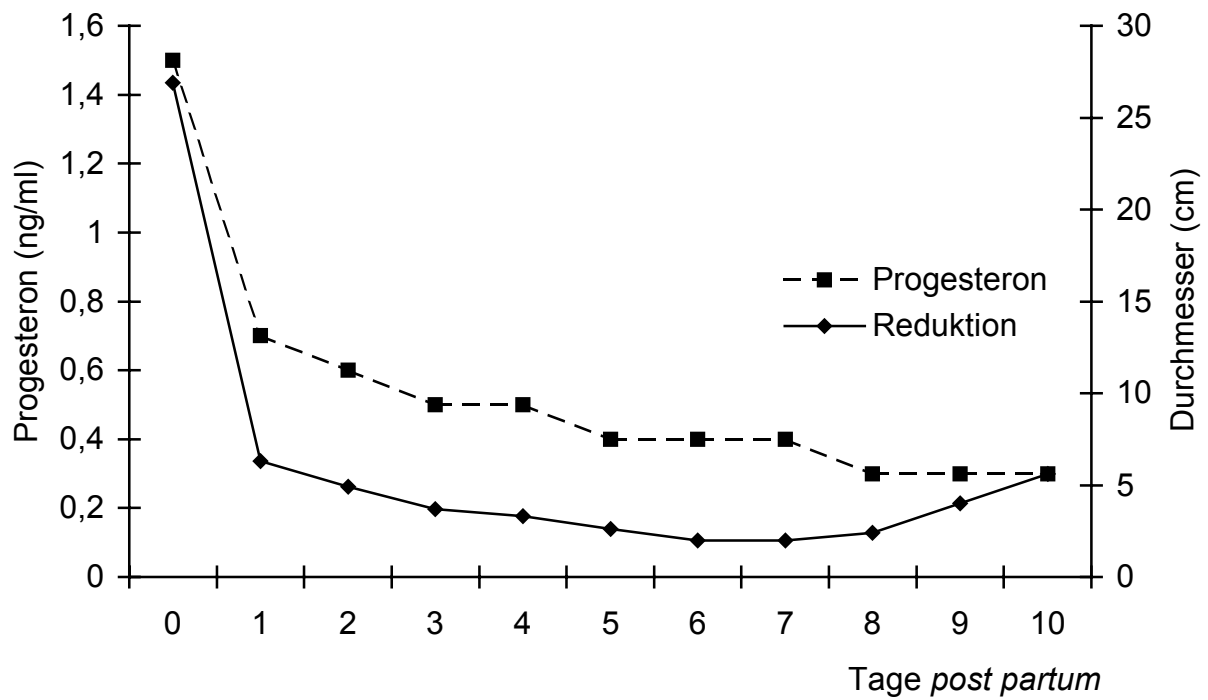


Abbildung 19: Progesteron- und Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen (geometrische Mittelwerte) sowie Verlauf der Zervixinvolution von zehn Kühen (arithmetische Mittelwerte) während der ersten zehn Tage *post partum*.

### 3.2.3 Hämatologische und endokrinologische Parameter der Tiere, deren Gewebe zur weiteren Untersuchung verwendet wurde

Zur histologischen und molekularbiologischen Untersuchung wurden von je vier Kühen im Interöstrus, in der Geburt sowie am fünften und zehnten Tag *post partum* Gewebeproben aus der Vagina und Zervix entnommen. Bei allen Tieren wurde vor der Schlachtung oder Euthanasie eine Blutprobe zur endokrinologischen und hämatologischen Analyse entnommen. Weiterhin stand zervikales und vaginales Gewebe von Schafen, das direkt nach Geburt der Lämmer gewonnen worden war, zur Verfügung. Von diesen Schafen erfolgte unmittelbar vor der Tötung die Bestimmung des Differenzialblutbildes.

Die Progesteron- und Östrogen-17 $\beta$ -Konzentrationen der intrapartalen und puerperalen Kühe liegen innerhalb der Größenordnung, wie sie im Abschnitt 3.2.2 bei den Tiere der Gruppe 1 gemessen werden konnten (Tabelle 11). Niedrige Progesteronwerte unter 1,8 ng/ml sind mit hohen Östrogen-17 $\beta$  Konzentrationen assoziiert. Am fünften und zehnten Tag sind für beide Steroidhormone nur Basalwerte messbar (Tabelle 11).

Die Leukozytenanzahl im Blut schwankt bei den Rindern zwischen 5,9 und 13,5 G/L; bei den Schafen können Werte zwischen 9,3 und 15,1 G/L nachgewiesen werden.

Intrapartal sind sowohl im ovinen als auch im bovinen Blut nur geringste Mengen eosinophiler Granulozyten zu detektieren. In drei Fällen konnte diese Zellpopulation überhaupt nicht nachgewiesen werden. Während des Frühpuerperiums und im Interöstrus beträgt der prozentuale Anteil der eosinophilen Granulozyten am weißen Blutbild zwischen 0,2 und 4,8.

Die erhobenen Parameter liegen innerhalb der entsprechenden Referenzbereiche, die im Rahmen von zwei Dissertationen in der Klinik für die verwendete Methodik erarbeitet wurden (Ceylan, 2000; Bleul und Sobiraj, 2001).

Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Tiere, von denen Gewebe zur weiteren histologischen und molekularbiologischen Aufarbeitung stammten, eine repräsentative Situation hinsichtlich des endokrinologischen und hämatologischen Zustandes für die entsprechende Phase des Puerperiums aufwiesen.

Tabelle 11: Periphere Konzentrationen der Steroidhormone Progesteron und Östradiol-17 $\beta$ , sowie der Gesamtleukozyten und der eosinophilen Granulozyten bei den Kühen und Schafen, von denen vaginales und zervikales Gewebe zur weiteren Untersuchung gewonnen wurde. Die Werte liegen innerhalb des speziesspezifischen Referenzbereiches.

Tierart	Zeitpunkt	Leukozyten (G/L)	eosinophile Granulozyten (%)	Progesteron (ng/ml)	Östradiol- 17 $\beta$ (pg/ml)
Rind	<i>intra partum</i>	9,3	nicht nachweisbar	0,9	534,7
Rind	<i>intra partum</i>	12,7	0,1	1,7	467,2
Rind	<i>intra partum</i>	13,5	nicht nachweisbar	1,2	198,9
Rind	<i>intra partum</i>	8,9	0,2	0,8	701,6
Rind	5. Tag <i>p.p.</i>	8,3	1,9	0,3	< 1
Rind	5. Tag <i>p.p.</i>	6,6	4	0,7	< 1
Rind	5. Tag <i>p.p.</i>	12,5	3	0,5	8,4
Rind	5. Tag <i>p.p.</i>	6,2	4,8	0,4	3,2
Rind	10. Tag <i>p.p.</i>	8,2	0,4	0,3	1,7
Rind	10. Tag <i>p.p.</i>	7,2	3,1	0,2	< 1
Rind	10. Tag <i>p.p.</i>	6,1	1,0	0,3	4,6
Rind	10. Tag <i>p.p.</i>	5,9	2,6	0,7	3,7
Rind	Interöstrus	7,3	0,2	3,1	5,2
Rind	Interöstrus	6,0	2,5	4,3	7,6
Rind	Interöstrus	5,9	3,1	13,5	8,4
Rind	Interöstrus	8,4	1,4	7,6	5,2
Schaf	<i>intra partum</i>	9,3	nicht nachweisbar	nicht bestimmt	
Schaf	<i>intra partum</i>	15,1	0,1	nicht bestimmt	
Schaf	<i>intra partum</i>	8,3	0,2	nicht bestimmt	
Schaf	<i>intra partum</i>	11,3	0,05	nicht bestimmt	

### 3.2.4 Mikroskopische physiologische Involution der Zervix und der Vagina

#### 3.2.4.1 Allgemeine lichtmikroskopische Beschreibung

Zur Beschreibung des Involutionvorganges nach komplikationsloser Spontangeburt wurden vaginale und zervikale Gewebeproben direkt nach Expulsion des Kalbes, sowie am fünften und zehnten Tag *post partum* lichtmikroskopisch untersucht. Die Kontrollproben stammten aus entsprechenden Organen von interöstrischen Kühen. Dabei wurden Biopate von einer Grösse von 0,8 x 0,8 x 0,8 cm entnommen, um zu beurteilen, ob sich diese Probengrösse für zukünftige Untersuchungen an lebenden Tieren eignet. Insgesamt konnten 40 Gewebeproben gewonnen und bearbeitet werden. In keinem Fall führte die Entnahme zu einer Perforation der Organwand.

Die Gewebearchitektur war in allen Fällen erhalten. Alle Proben liessen eine histologische Beurteilung der Kompartimente *Tunica mucosa* und *Tunica muscularis* und der Zellmorphologie zu. In den zervikalen Präparaten fiel auf, dass der erfasste Anteil der *Tunica muscularis* im Verhältnis zum Bindegewebe von Tier zu Tier trotz Entnahme zum gleichen Untersuchungszeitpunkt stark variierte. Dies war in der Vagina nicht der Fall.

Zur unabhängigen Beurteilung der histologischen Auswertbarkeit der Biopate wurden zwei Proben zur Begutachtung der Gewebearchitektur in das Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität gesandt (Zervix: Tagebuchnummer: T 8591/99; Vagina: Tagebuchnummer: T 8592/99)<sup>47</sup>. Die Ergebnisse deckten sich mit den eigenen Resultaten.

Im Interöstrus schließt die Vagina zum *Canalis vaginalis* mit einem mehrschichtigen *Epithelium mucosae* ab (Abbildung 20). Drüsen lassen sich nicht darstellen. Die Muskelfaserschicht weist eine deutliche Trennung in eine innere Ringmuskelschicht und eine äussere Längsmuskelschicht auf. *Intra partum* ist der Epithelverband noch fast vollständig geschlossenen. Dabei ist das *Epithelium mucosae* ein- bis mehrschichtig und weist eine starke Durchsetzung mit Entzündungszellen auf. An mehreren Lokalisationen sind subepitheliale Blutungen nachzuweisen (Abbildung 21). Insgesamt liegt eine starke disseminierte Infiltration mit eosinophilen

---

<sup>47</sup> Vielen Dank an Prof. Dr. M. Reinacher für die Beurteilung der beiden Biopate.

Granulozyten vor, die sich intra- und subepithelial konzentriert (Abbildung 22). In der *Lamina propria mucosae* und der *Tunica muscularis* zeigt sich zum Zeitpunkt der Geburt und im Puerperium ein ausgeprägtes Ödem. Das Ödem wird in der *Tunica muscularis* durch ein Auseinanderweichen der Muskelfaserbündel und einer Verbreiterung der Bindegewebssepten sichtbar. Im Bindegewebe lassen sich zwei Zonen differenzieren. So kann eine Unterscheidung in einen subepithelialen Bereich mit massiv ausgeprägter Ödematisierung und eine tiefere Zone mit weniger starker Dissoziation des Bindegewebes getroffen werden. Mit fortschreitendem Abstand zur Geburt lässt sich diese Zonierung nicht mehr nachweisen.

Am fünften Tag *post partum* ist das *Epithelium mucosae* an vielen Stellen abgelöst; fünf Tage später ist der Zellverband wieder fast vollständig geschlossen.

Mit zunehmendem Abstand von der Geburt erhöht sich die Zelldichte in der *Tunica muscularis* geringgradig. Dies zeigt sich in einer Zunahme der Anzahl der Muskelzellkerne pro 0,5 mm<sup>2</sup> (Tabellen 12, 13, 14, 15; Abbildung 23).

Tabelle 12: Zelldichte (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix im Interöstrus bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	815,1	1097,1
	<i>Tunica muscularis</i>	1552,9	3825
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	627,7	1259,3
	<i>Tunica muscularis</i>	1263,9	3857,7
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	524,2	1136,6
	<i>Tunica muscularis</i>	1347,2	3834,9
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	738,8	924,9
	<i>Tunica muscularis</i>	1591,4	4448,2
$\bar{x}_g \pm \text{SF}$	<i>Lamina propria mucosae</i>	660,7 ± 1,2	1096,5 ± 1,1
	<i>Tunica muscularis</i>	1412,5 ± 1,1	3981,0 ± 1,1

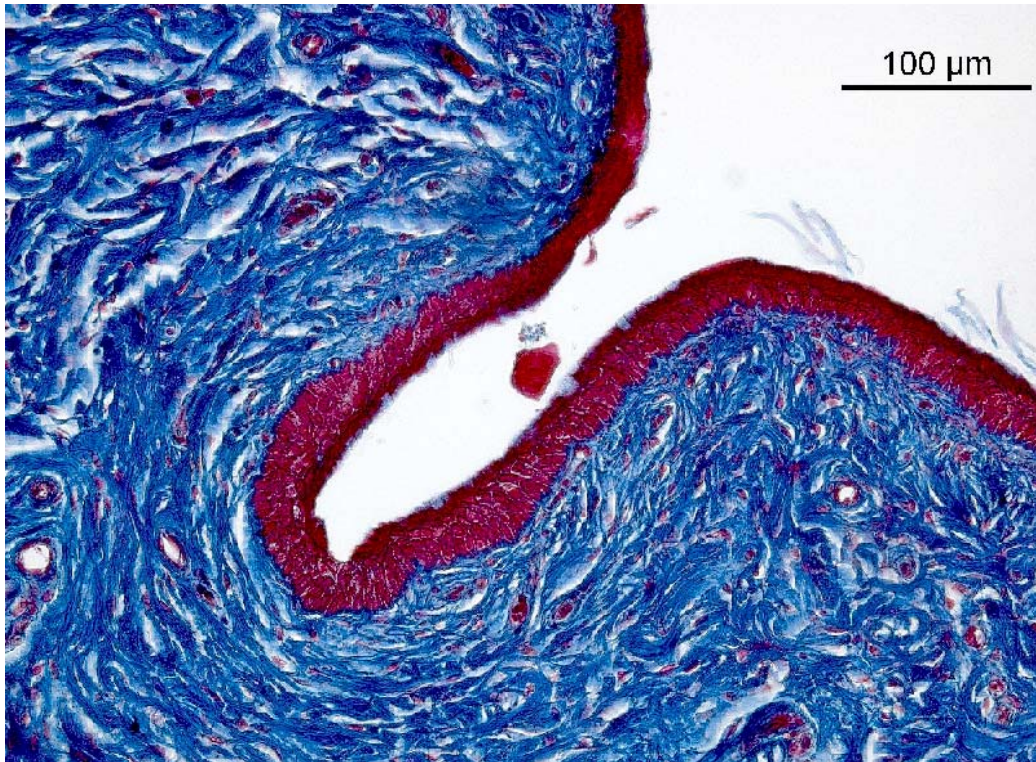


Abbildung 20: Bovine Vagina im Interöstrus (Azan-Färbung nach Heidenhain).

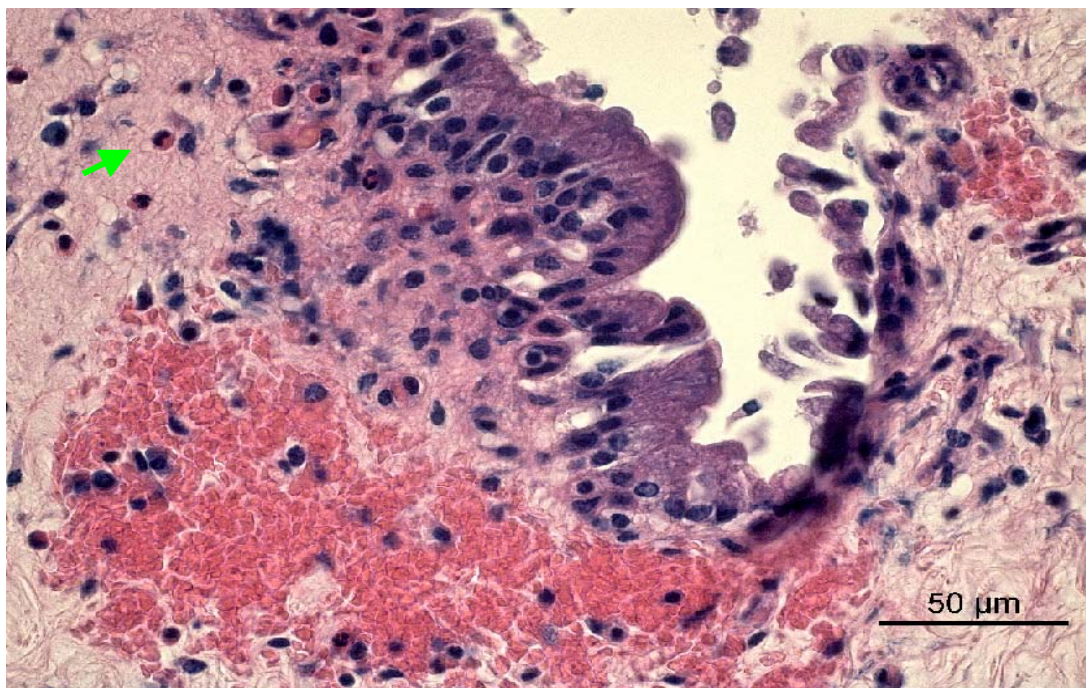


Abbildung 21: Bovine Vagina *intra partum*. Deutliche Schäden im *Epithelium mucosae* und subepitheliale Blutung. Einige eosinophile Granulozyten (Pfeil) sind bereits in dieser Übersichtsfärbung zu erkennen (H.-E.-Färbung).

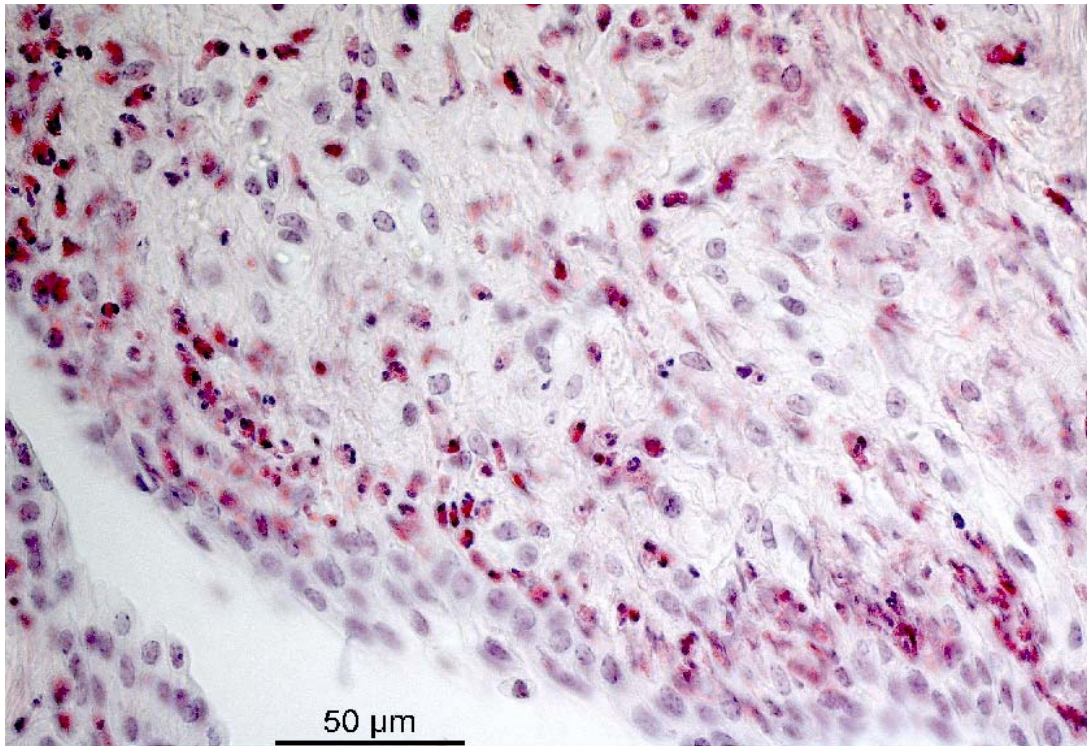


Abbildung 22: Bovine Vagina *intra partum*. Deutliche Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten (Sirius-Red-Färbung).

Tabelle 13: Zelldichte (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix *intra partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	275,7	244,3
	<i>Tunica muscularis</i>	667,8	627,7
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	297,9	341,5
	<i>Tunica muscularis</i>	742,5	752,7
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	336,2	291,5
	<i>Tunica muscularis</i>	978,6	980,2
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	297,9	334,2
	<i>Tunica muscularis</i>	750	652,3
$\bar{x}_g \pm SF$	<i>Lamina propria mucosae</i>	295,1 $\pm$ 1,1	297,3 $\pm$ 1,2
	<i>Tunica muscularis</i>	776,3 $\pm$ 1,2	724,4 $\pm$ 1,2

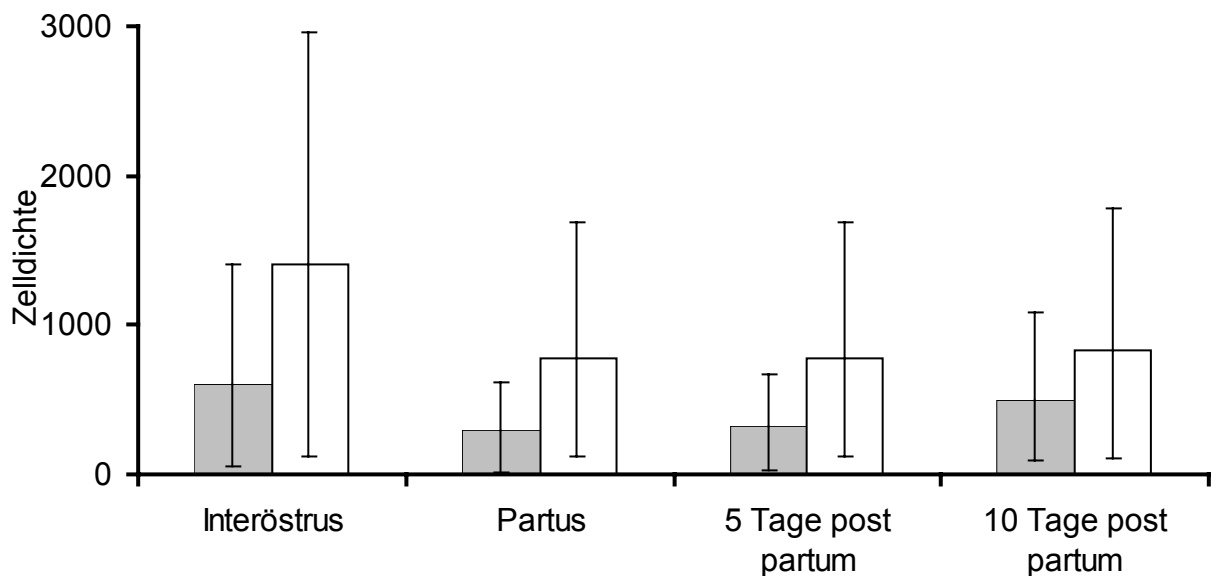


Abbildung 23: Zelldichte (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der vaginalen *Propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) im Frühpuerperium im Vergleich zum Interöstrus, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF<sup>± 1</sup>). Der Unterschied zwischen Interöstrus und Puerperium und den beiden Organkompartimenten ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Das zervikale Epithel stellt sich in der progesterondominanten Phase des Zyklusses einschichtig und hochprismatisch dar. Im Interöstrus erscheinen die Bindegewebsfasern dicht, die intrapartale Situation ist durch eine Ödematisierung gekennzeichnet (Abbildung 24). Auffällig ist die höhere Zelldichte in der zervikalen *Tunica muscularis* im Vergleich zur vaginalen Situation (Tabelle 12; Abbildung 25). Dieser Unterschied zwischen den beiden Organen ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

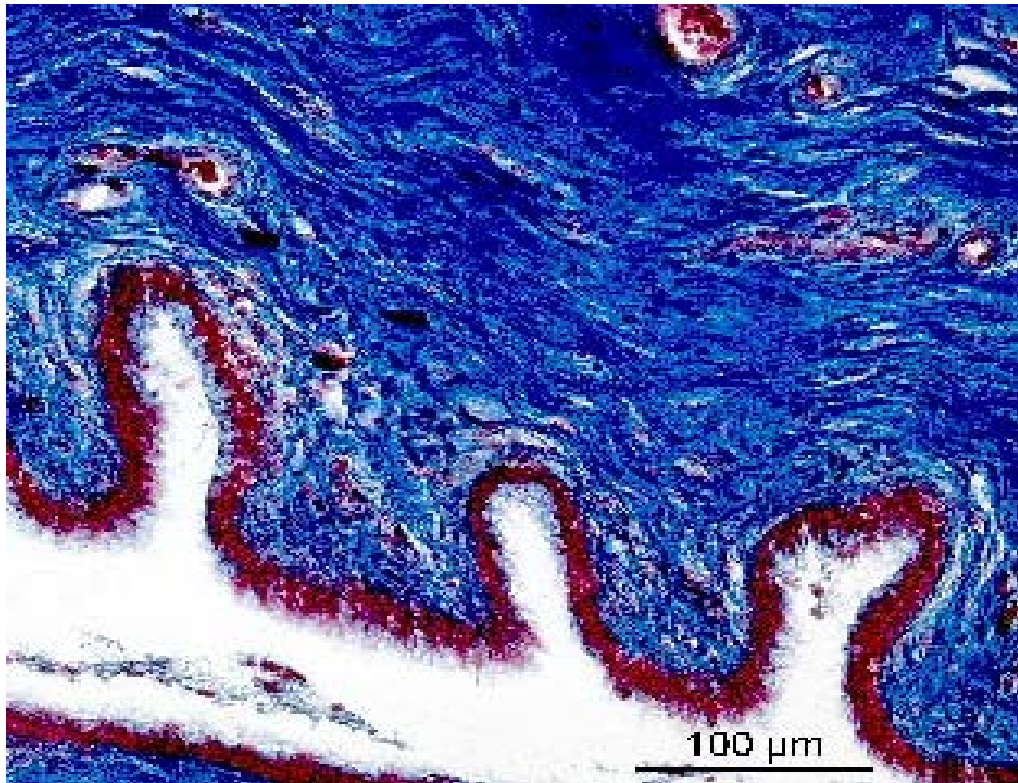
Aus der Muskelschicht ziehen Faserbündel in die Zervikalfalten. Im Gegensatz zur Vagina ist die regionale Trennung zwischen *Lamina propria mucosae* und *Tunica muscularis* daher nicht so eindeutig.

Das Epithel der Zervix ist zu allen drei Untersuchungszeitpunkten bis auf wenige Lokalisationen intakt. Es ist als einschichtiger Zellverband nachweisbar. Auch hier kann eine Infiltration mit eosinophilen Granulozyten vorgefunden werden. Mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der Geburt zeigt sich eine Reduktion des intrapartalens Ödems. Dies geht mit einer Zunahme der Zellkerne pro  $0,5 \text{ mm}^2$  einher (Tabellen 13, 14, 15).

Tabelle 14: Zelldichte (pro  $0,5 \text{ mm}^2$ ) in Vagina und Zervix am 5. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	304,7	507,5
	<i>Tunica muscularis</i>	1011,7	973,9
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	358,9	525,1
	<i>Tunica muscularis</i>	761,3	799,7
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	320	389,2
	<i>Tunica muscularis</i>	694,3	970,8
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	339,7	378,7
	<i>Tunica muscularis</i>	722,3	793,1
$\bar{x}_g \pm \text{SF}$	<i>Lamina propria mucosae</i>	$323,6 \pm 1,1$	$436,5 \pm 1,2$
	<i>Tunica muscularis</i>	$776,2 \pm 1,2$	$870,9 \pm 1,1$

A



B

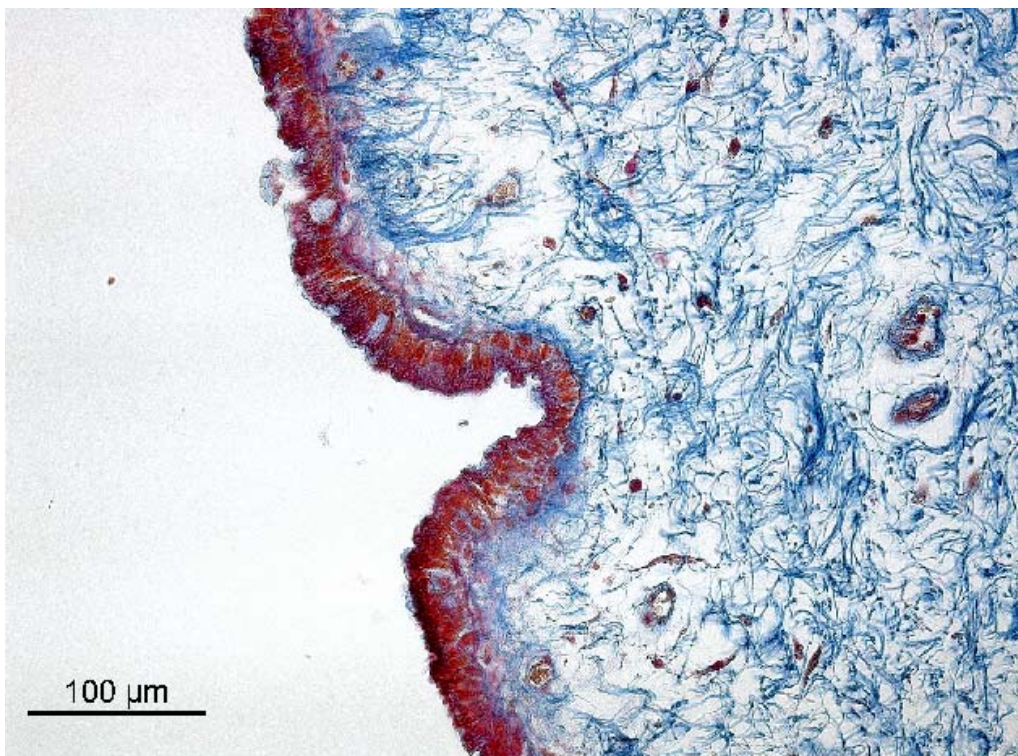


Abbildung 24: Bovine Zervix im Interöstrus (A) und *intra partum* (B). Darstellung der Auflockerung des Bindegewebes bei intaktem Oberflächenepithel (Azan-Färbung nach Heidenhain).

Tabelle 15: Zelldichte (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix am 10. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	559,1	697,2
	<i>Tunica muscularis</i>	932,4	1075,8
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	630,6	627,2
	<i>Tunica muscularis</i>	757,4	895,9
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	407,3	505,9
	<i>Tunica muscularis</i>	970,3	1185
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	409,8	501,2
	<i>Tunica muscularis</i>	714,4	1018,3
$\bar{x}_g \pm SF$	<i>Lamina propria mucosae</i>	489,8 $\pm$ 1,2	575,4 $\pm$ 1,1
	<i>Tunica muscularis</i>	831,7 $\pm$ 1,2	1023,3 $\pm$ 1,1

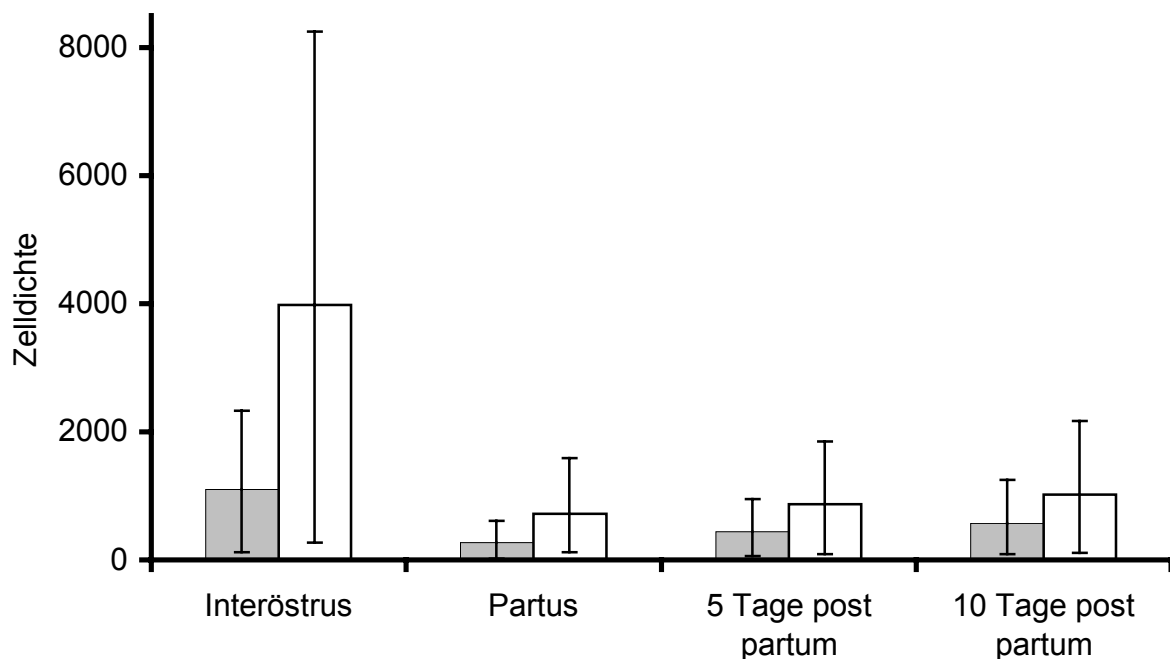


Abbildung 25: Zelldichte (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der zervikalen *Propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) im Frühpuerperium im Vergleich zum Interöstrus, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF<sup>± 1</sup>). Der Unterschied zwischen Interöstrus und Puerperium ist statistisch hoch signifikant (p<0,001).

Zusammenfassend ist das zervikale und vaginale Gewebe im Untersuchungszeitraum lichtmikroskopisch durch eine starke Ödematisierung gekennzeichnet, die eine verminderte Zelldichte im Vergleich zur interöstrischen Situation bewirkt ( $p < 0,001$ ). Die Gewebeauflockerung ist dabei in der Zervix deutlicher ausgeprägt als in der Vagina ( $p < 0,001$ ). Weiterhin ist ein statistisch hoch signifikanter Unterschied der Zelldichten zwischen *Lamina propria mucosae* und *Tunica muscularis* nachweisbar.

Während des Frühpuerperium lässt sich nur eine geringe Steigerung der Dichte sessiler Bindegewebszellen nachweisen. In beiden Abschnitten des Geschlechtstraktes werden die Zelldichten interöstrischer Tiere zum Ende des Untersuchungszeitraumes nicht erreicht. Dieser Unterschied ist vor allem in der Zervix deutlich ausgeprägt.

Der Geburtsvorgang ist mit massiven Verletzungen des vaginalen Oberflächenepithels verbunden. Im Bereich des *Canalis cervicalis* wird dagegen zu allen drei Zeitpunkten ein fast vollständig intaktes *Epithelium mucosae* vorgefunden.

### 3.2.4.2 Vorkommen von eosinophilen Granulozyten und Mastzellen im vaginalen und zervikalen Gewebe *intra* und *post partum*

Mit Hilfe von selektiven Färbetechniken wurde die Infiltration des vaginalen und zervikalen Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen untersucht. Dabei fanden die gleichen Proben Verwendung, die zur allgemeinen lichtmikroskopischen Beschreibung des Involutionvorganges herangezogen wurden. Zudem erfolgte zum speziesübergreifenden Vergleich der Eosinophileninfiltration die Untersuchung von ovinem Vaginal- und Zervikalgewebe, das von Tieren unmittelbar nach der Geburt des Lammes stammte.

Da sich in der *Tunica muscularis* nur vereinzelt eosinophile Granulozyten in den Gefäßlumina und direkt perivaskulär auffinden liessen, wird im Folgenden die Anzahl dieser Zellen nur für die Kompartimente *Lamina propria mucosae* und *Epithelium mucosae* angegeben.

In der progesterondominanten Phase des Reproduktionszyklusses können nur geringgradig eosinophile Granulozyten im Gewebe nachwiesen werden. Weder in der Zervix noch in der Vagina sind intraepithelial derartige Zellen zu detektieren (Tabelle 16). Der Unterschied zur Situation im Frühpuerperium ist hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

*Intra partum* zeigt sich eine massive Infiltration des vaginalen Bindegewebes mit eosinophilen Granulozyten (Abbildungen 26, 27). Während des Untersuchungszeitraumes verringert sich die Zellzahl im Oberflächenepithel und in der *Lamina propria mucosae*, wobei am fünften Tag *post partum* aufgrund der massiven Zellablösung keine Befunde im *Epithelium mucosae* erhoben wurden (Tabellen 17, 18, 19). Die Zelldichte im *Epithelium mucosae* ist unmittelbar nach der Geburt und am zehnten Tag *post partum* höher als im subepitheliale Bereich (Abbildung 28). Diese Unterschiede sind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

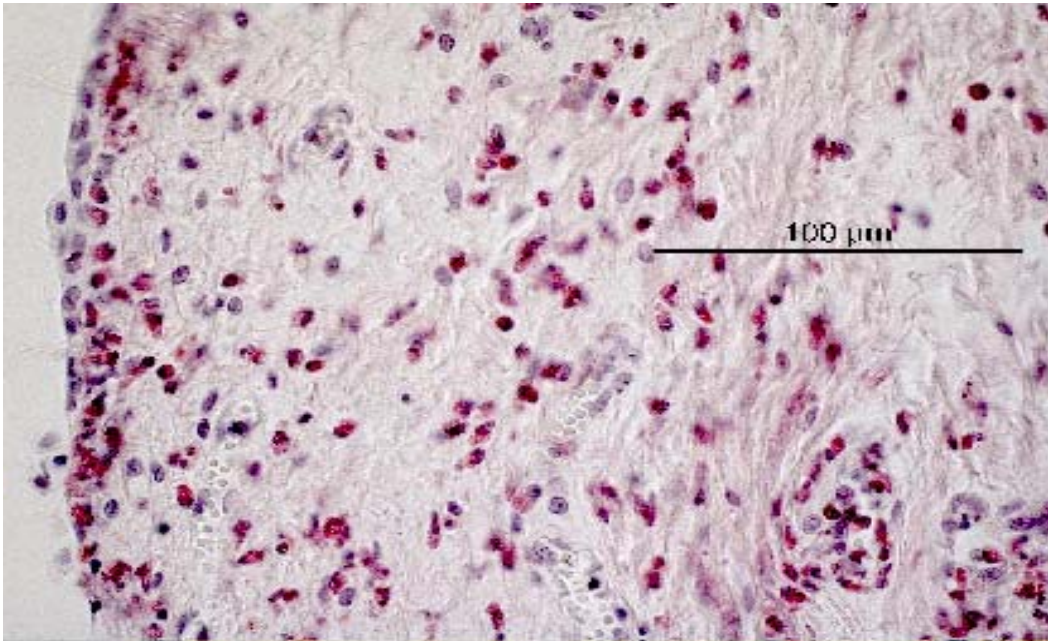


Abbildung 26: Bovine Vagina *intra partum*. Infiltration des Bindegewebes und des Oberflächenepithels mit eosinophilen Granulozyten (Sirius-Red-Färbung).

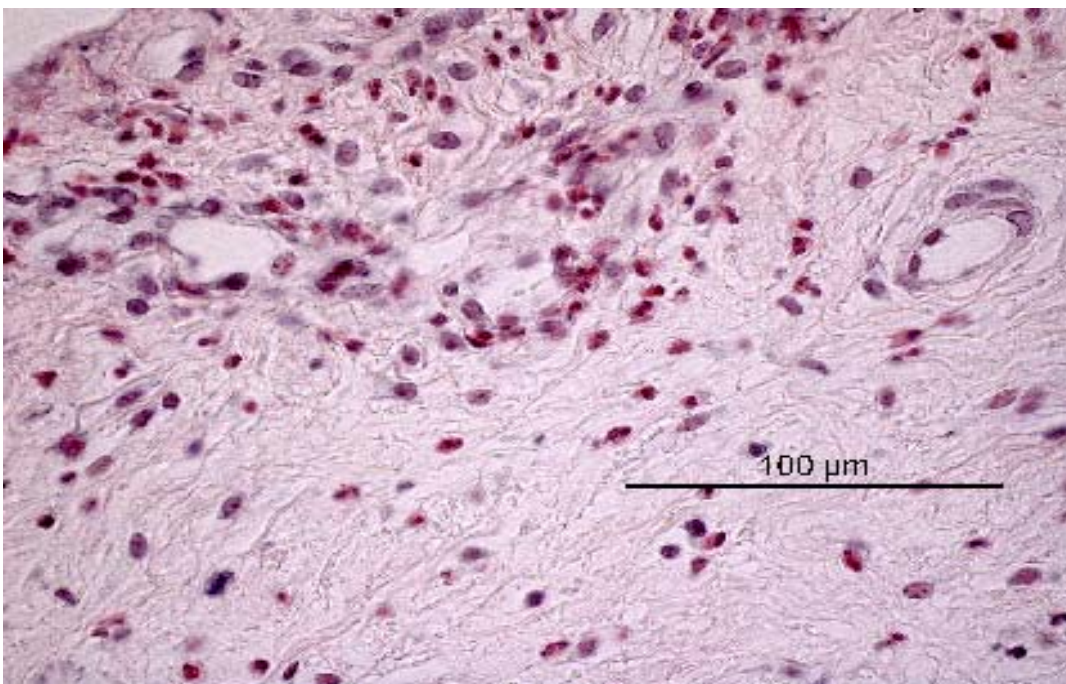


Abbildung 27: Bovine Vagina am zehnten Tag *post partum*. Die Infiltration des Bindegewebes mit eosinophilen Granulozyten geht im Vergleich zur intrapartalen Situation zurück (Sirius-Red-Färbung).

Tabelle 16: Anzahl eosinophiler Granulozyten (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix im Interöstrus bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	6,8	0,9
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	2,5	1,3
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	2,3	1,7
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	1,6	1,2
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
$\bar{x}_g \pm SF$	<i>Lamina propria mucosae</i>	2,7 ± 1,8	1,2 ± 1,3
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0

Tabelle 17: Anzahl eosinophiler Granulozyten (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix *intra partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	624,5	603
	<i>Epithelium mucosae</i>	1120,3	569,5
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	717,6	293,4
	<i>Epithelium mucosae</i>	1883,8	326,5
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	899,7	529,9
	<i>Epithelium mucosae</i>	1416,8	301,1
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	704	392,1
	<i>Epithelium mucosae</i>	1296,4	227,4
$\bar{x}_g \pm SF$	<i>Lamina propria mucosae</i>	724,4 ± 1,1	436,5 ± 1,3
	<i>Epithelium mucosae</i>	1380,4 ± 1,2	331,1 ± 1,5

In der Zervix zeigt sich ein ähnliches Bild. Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten pro 0,5 mm<sup>2</sup> steigt jedoch im Gegensatz zur vaginalen Situation während des Frühperperioms an (Abbildungen 28, 29, 30, 31). Der Zeitpunkt der maximalen Infiltration ist am zehnten Tag *post partum* erreicht. Dieser Anstieg ist statistisch hoch signifikant.

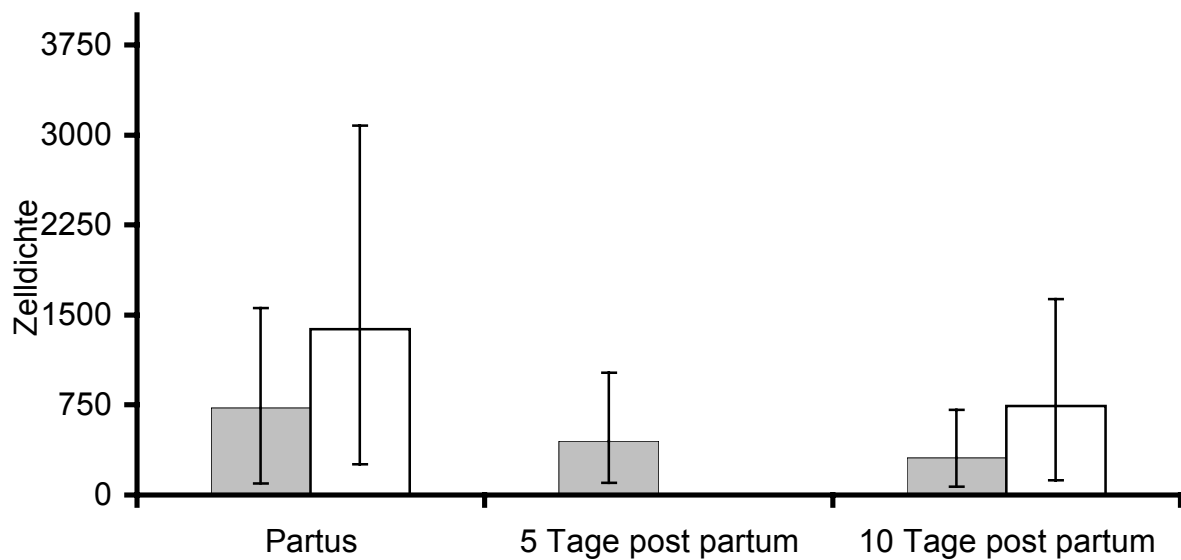
In der *Lamina propria mucosae* werden zudem höhere Zellzahlen nachgewiesen als im Oberflächenepithel (Tabellen 17, 18, 19). Dieser Unterschied ist jedoch nicht statistisch signifikant.

Tabelle 18: Anzahl eosinophiler Granulozyten (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix am 5. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Aufgrund massiver degenerativer Veränderungen im vaginalem Epithel konnte zu diesem Zeitpunkt keine sinnvolle Zählung durchgeführt werden (grau unterlegt).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	513,1	794,1
	<i>Epithelium mucosae</i>		495,9
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	355,8	785,3
	<i>Epithelium mucosae</i>		406,8
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	610	743,8
	<i>Epithelium mucosae</i>		494,3
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	369,4	841,3
	<i>Epithelium mucosae</i>		479,8
$\bar{x}_g \pm \text{SF}$	<i>Lamina propria mucosae</i>	446,7 ± 1,3	776,2 ± 1,0
	<i>Epithelium mucosae</i>		457,1 ± 1,1

Tabelle 19: Anzahl eosinophiler Granulozyten (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix am 10. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	226,1	1326,9
	<i>Epithelium mucosae</i>	817,4	1034,8
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	418,4	961,1
	<i>Epithelium mucosae</i>	569,9	1149,8
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	291,7	1103,6
	<i>Epithelium mucosae</i>	788,2	784,4
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	351,1	761,4
	<i>Epithelium mucosae</i>	843,8	1090,4
$\bar{x}_g \pm SF$	<i>Lamina propria mucosae</i>	309,0 $\pm$ 1,3	1017,4 $\pm$ 1,3
	<i>Epithelium mucosae</i>	741,3 $\pm$ 1,2	1004,4 $\pm$ 1,2



Abbildungung 28: Anzahl (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) der eosinophilen Granulozyten in der vaginalen *Propria mucosae* (■) und im *Epithelium mucosae* (□) im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF<sup>±1</sup>).

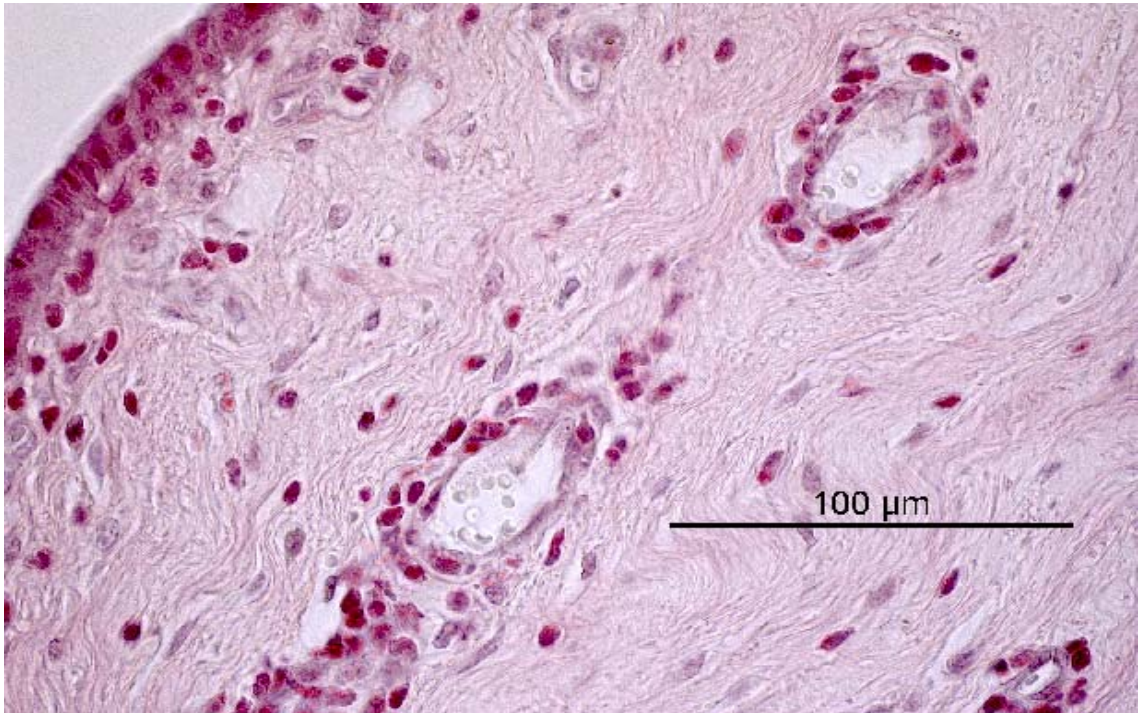


Abbildung 29: Bovine Zervix *intra partum*. Die Infiltration des Bindegewebes mit eosinophilen Granulozyten ist geringer ausgeprägt als im vaginalen Gewebe zum gleichen Zeitpunkt (Sirius-Red-Färbung).

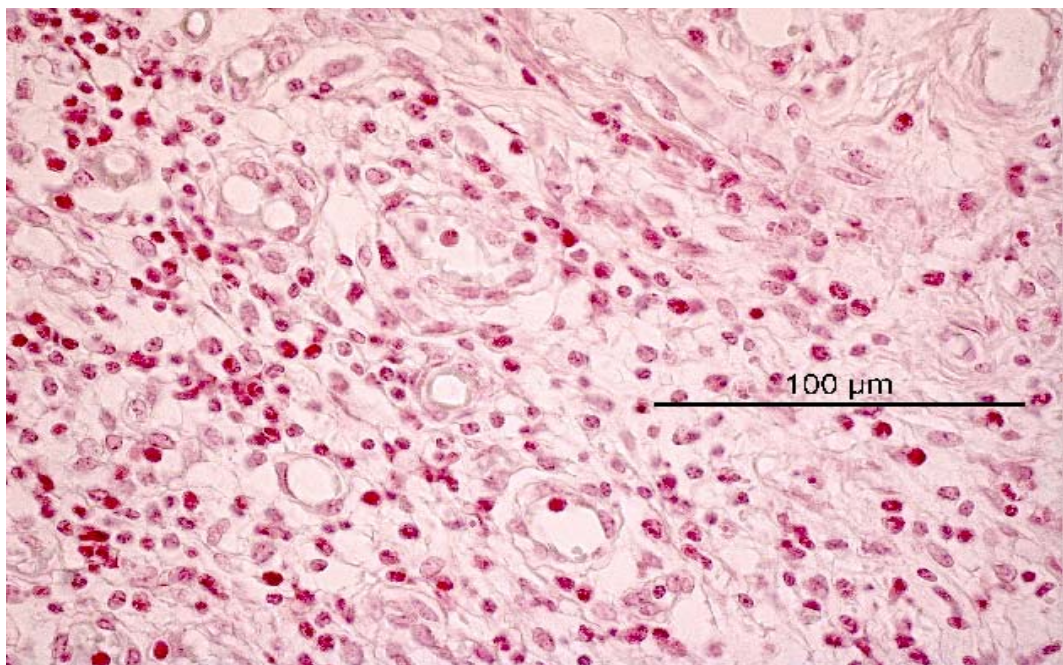


Abbildung 30: Bovine Zervix am zehnten Tag *post partum*. Massive Infiltration des Bindegewebes mit eosinophilen Granulozyten (Sirius-Red-Färbung).

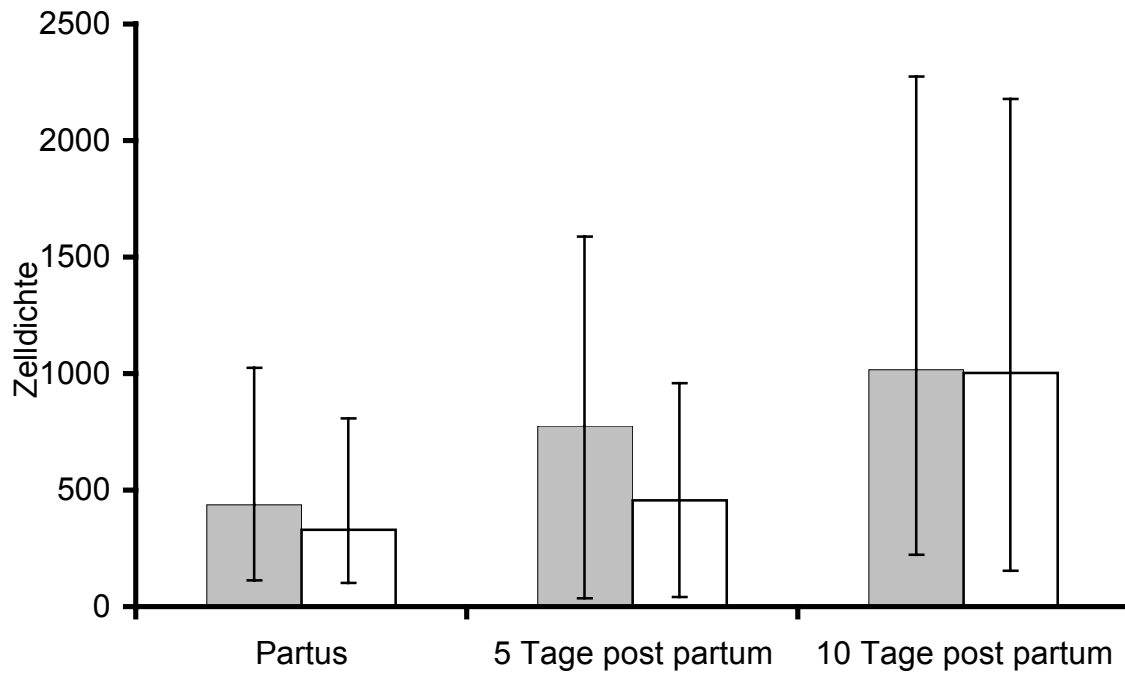


Abbildung 31: Anzahl der eosinophilen Granulozyten in der zervikalen *Propria mucosae* (■) und im *Epithelium mucosae* (□) im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Die zeitlichen Veränderungen zwischen Partus und dem zehnten Tag *post partum* sind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Beim Schaf ist eine entsprechende Infiltration mit eosinophilen Granulozyten weder in der Vagina noch in der Zervix zum Zeitpunkt des Partus nachweisbar (Tabelle 20). Die intrapartale Situation unterscheidet sich daher in diesem Aspekt vom Rind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Tabelle 20: Infiltration der ovinen Vagina und Zervix mit eosinophilen Granulozyten (pro  $0,5 \text{ mm}^2$ ) *intra partum* bei vier Schafen.

Tiernummer	Lokalisation	Vagina	Zervix
1	<i>Lamina propria mucosae</i>	0,5	1
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
2	<i>Lamina propria mucosae</i>	0,6	0,4
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
3	<i>Lamina propria mucosae</i>	0,4	1,3
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
4	<i>Lamina propria mucosae</i>	0,2	0,7
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0
$\bar{x}_g \pm \text{SF}$	<i>Lamina propria mucosae</i>	$0,4 \pm 1,6$	$0,8 \pm 1,7$
	<i>Epithelium mucosae</i>	0	0

Die Mastzellen wurden aufgrund ihres metachromatischen Verhaltens und des Phänotypes nach Toluidin-Blau-Färbung identifiziert.

Zu allen Untersuchungszeitpunkten konnten diese Zellen nicht im *Epithelium mucosae* nachgewiesen werden. Während diese Zellart nur vereinzelt subepithelial auftritt, zeigt sich ein deutliches Vorkommen in den tieferen Bereichen der *Lamina propria mucosae* und der *Tunica muscularis*. Beide Kompartimente werden im Folgenden zusammengefasst. Im Interöstrus existiert in der Zervix und in der Vagina eine höhere Mastzellendichte als im Frühpuerperium ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 32).

Bemerkenswert ist dabei die relativ hohe Zelldichte im vaginalem Gewebe im Vergleich zur zervikalen Situation (Tabelle 21, Abbildungen 32, 33, 34). Dieser Unterschied ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ). In dieser Phase des Zyklusses zeigt sich intravaginal ein relativ regelmäßiges Vorkommen in den Bindegewebssepten, welche die Muskelfaserbündel separieren (Tabelle 21).

Tabelle 21: Anzahl der Mastzellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix im Interöstrus bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschiede zwischen beiden Organen ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Tiernummer	Vagina	Zervix
1	22,3	8,9
2	15,8	7,4
3	13,9	8,2
4	14,7	10,6
$\bar{x}_g \pm SF$	15,8 $\pm$ 1,2	8,6 $\pm$ 1,1

In den ersten zehn Tagen nach der Geburt ist in der Vagina nur eine geringe Anzahl von Mastzellen zu detektieren (Tabellen 22, 23, 24; Abbildung 35). Die Zellzahl bleibt dabei relativ konstant auf gleichem Niveau.

Tabelle 22: Anzahl der Mastzellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix *intra partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Vagina	Zervix
1	6,1	5,1
2	6,8	5,2
3	8,2	4,8
4	5	6,2
$\bar{x}_g \pm SF$	6,4 $\pm$ 1,2	5,3 $\pm$ 1,1

Tabelle 23: Anzahl der Mastzellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix am 5. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Vagina	Zervix
1	5,9	4,8
2	5,9	4,4
3	5,7	2,4
4	6,3	2,8
$\bar{x}_g \pm SF$	5,9 ± 1,0	3,4 ± 1,4

Tabelle 24: Anzahl der Mastzellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der bovinen Vagina und Zervix am 10. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF).

Tiernummer	Vagina	Zervix
1	6,1	3,3
2	7,6	4
3	6,6	3,2
4	6,8	4,1
$\bar{x}_g \pm SF$	6,7 ± 1,1	3,6 ± 1,1

In der Zervix wird unmittelbar nach der Geburt eine höhere Dichte an Mastzellen pro 0,5 mm<sup>2</sup> gefunden als in den folgenden Tagen (Tabellen 22, 23, 24; Abbildung 32, 35, 36). Ausgehend von diesem intrapartalem Initialwert ist eine Reduktion bis zum zehnten Tag zu beobachten. Diese Veränderung ist jedoch nicht statistisch signifikant.

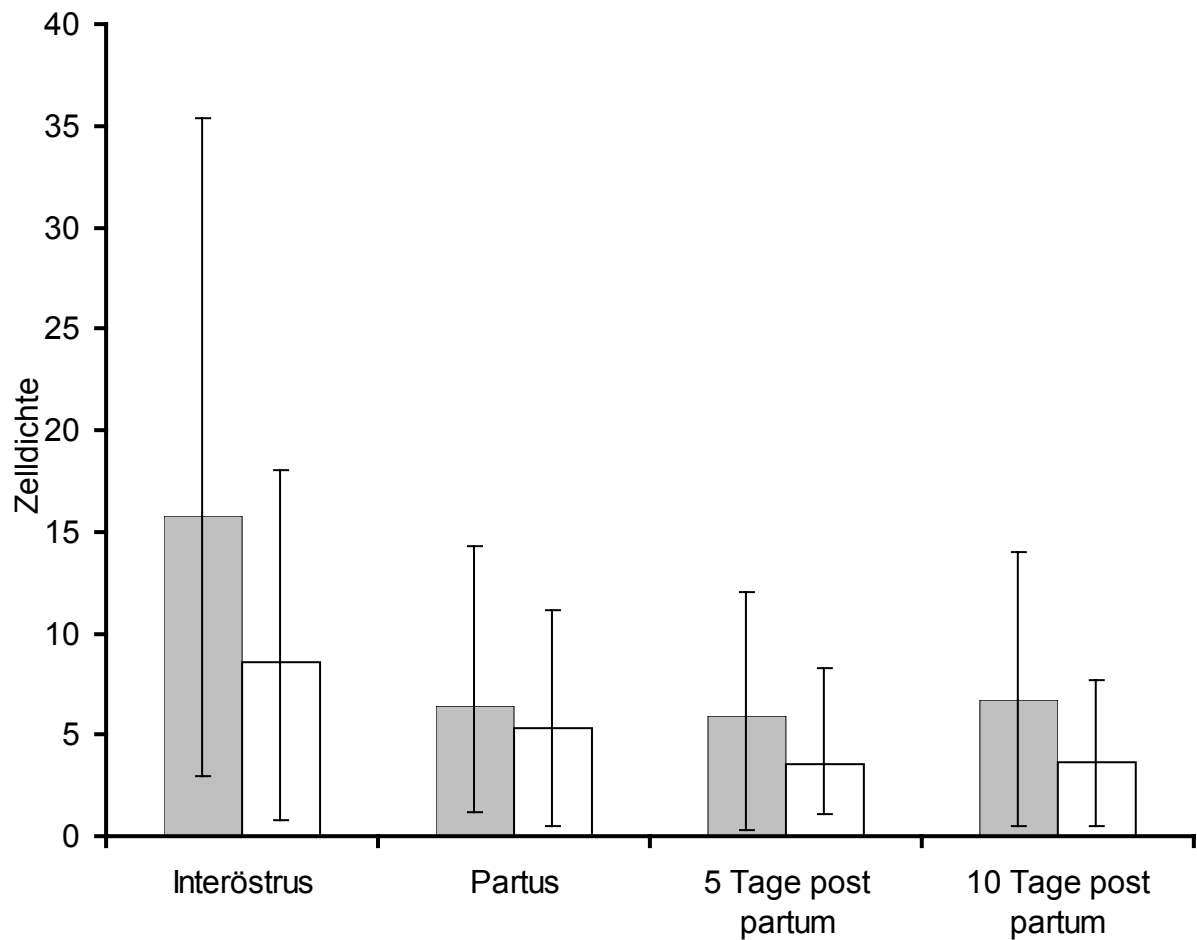


Abbildung 32: Anzahl der Mastzellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina (■) und Zervix (□) im Frühpuerperium und Interöstrus, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Der Unterschied zwischen Interöstrus und Puerperium ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

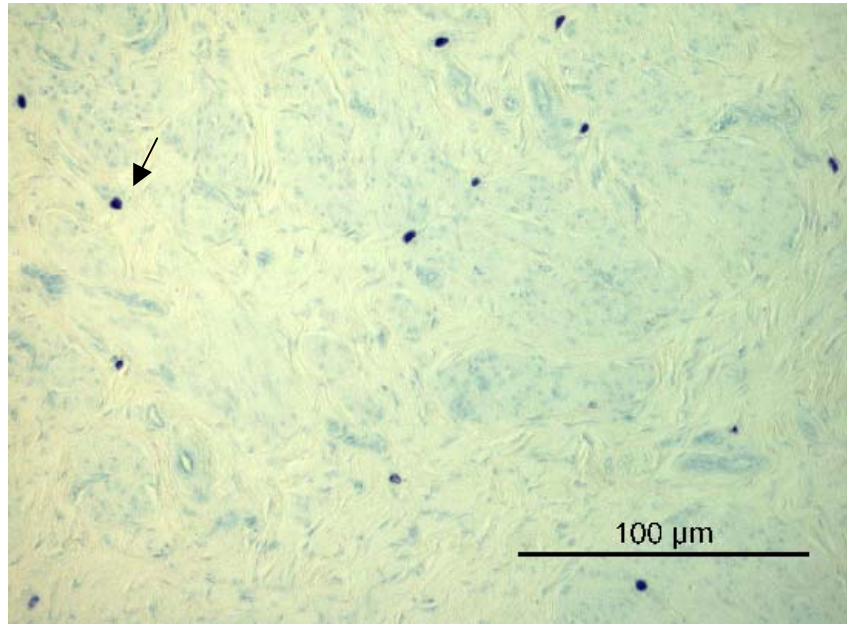


Abbildung 33: Mastzellen im vaginalen Gewebe im Interöstrus. Der Pfeil markiert eine Mastzelle, die in Abbildung 34 im Detail wiedergegeben wird (Toluidin-Blau-Färbung).

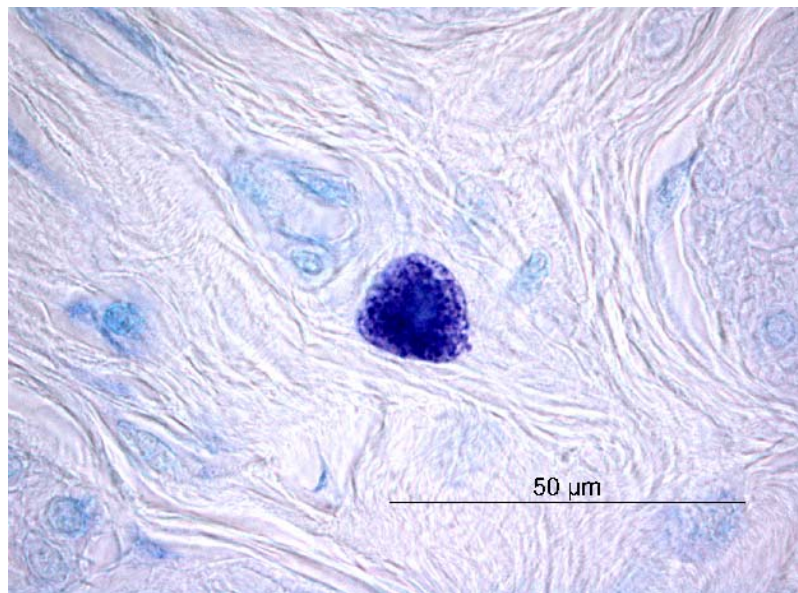


Abbildung 34: Mastzellen im vaginalen Gewebe im Interöstrus. Ausschnittsvergrößerung aus Abbildung 33 (Toluidin-Blau-Färbung).

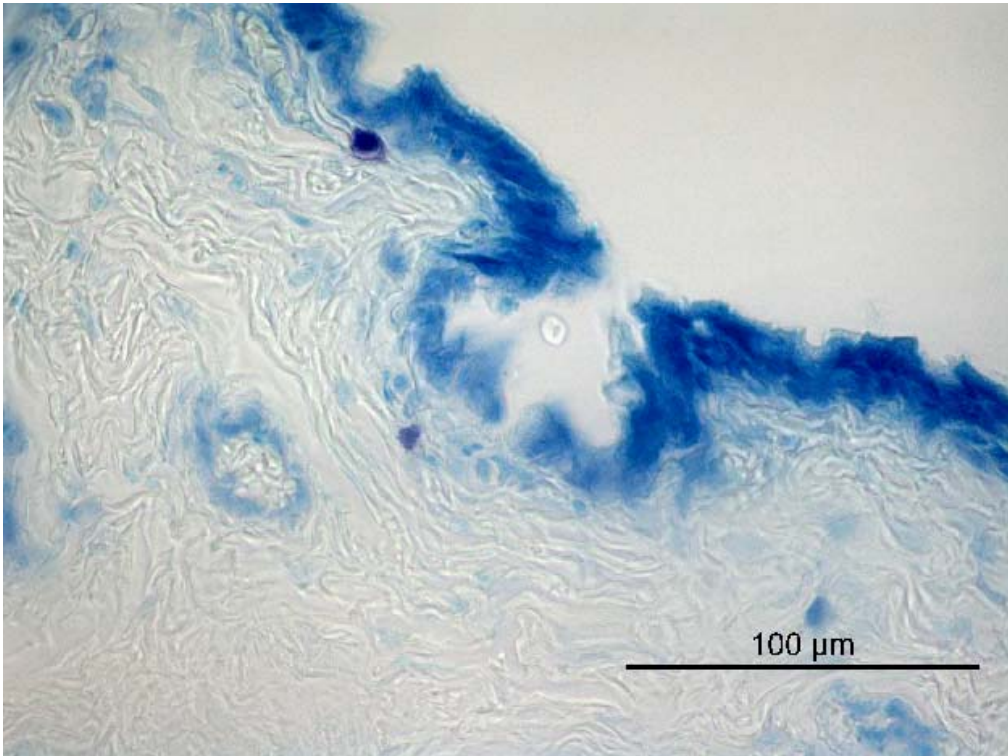


Abbildung 35: Einzelne Mastzellen im zervikalem Gewebe *intra partum* subepithelial (Toluidin-Blau-Färbung).

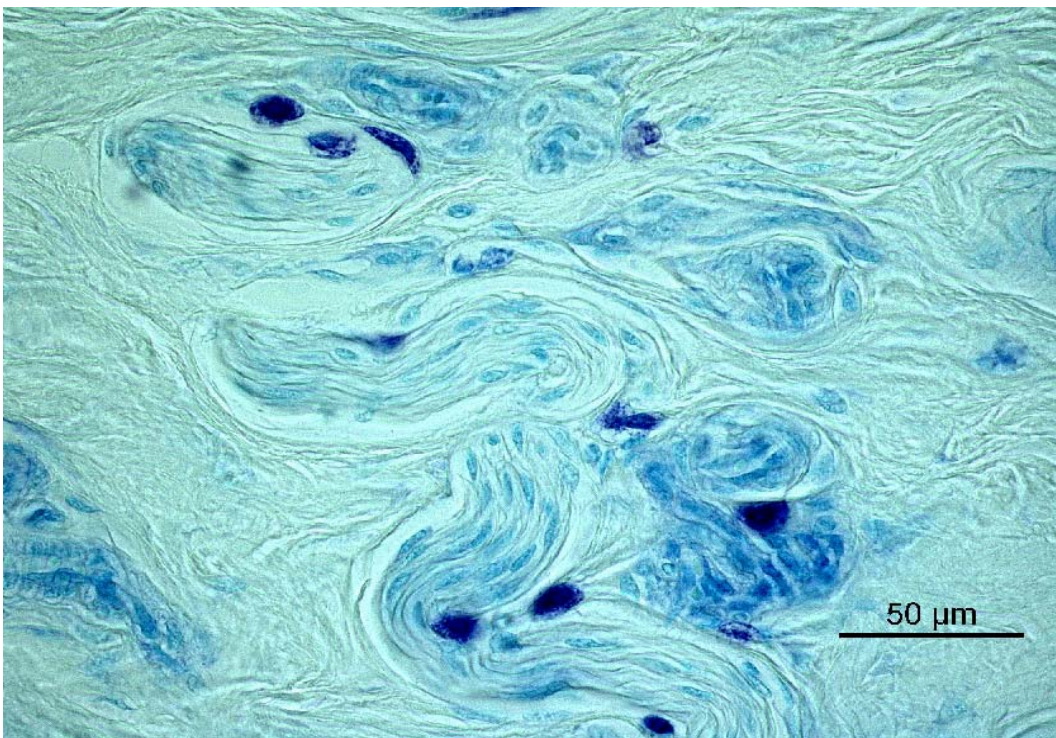


Abbildung 36: Gruppe von Mastzellen im tiefen zervikalem Bindegewebe *intra partum* (Toluidin-Blau-Färbung).

Zusammenfassend ist eine intrapartale Infiltration der *Lamina propria mucosae* und des *Epithelium mucosae* der bovinen Vagina und Zervix mit eosinophilen Granulozyten festzustellen, welche beim Schaf zum gleichen Zeitpunkt nicht gefunden werden kann. Die Durchsetzung des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten zeigt im Verlauf des Frühpuerperiums eine Dynamik, wobei die Zellzahl in der Vagina abfällt, während diese in der Zervix am zehnten Tag *post partum* ihr Maximum erreicht.

Diese zeitlichen Veränderungen und der Unterschied der Infiltration in beiden Organen sind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Mastzellen lassen sich in Puerperium in deutlich geringerer Konzentration als im Interöstrus nachweisen. Zudem ist die Zellzahl in der Lutealphase des Zyklus in der Vagina statistisch hoch signifikant höher als in der Zervix ( $p < 0,001$ ).

Mastzellen sind in anderer Lokalisation als die eosinophilen Granulozyten zu detektieren. Sie lassen sich vor allem in den tieferen Schichten der *Lamina propria mucosae* und in der *Tunica muscularis* aufzufinden. Während des Untersuchungszeitraumes bleibt die Mastzellanzahl in der Vagina auf gleichem niedrigem Niveau, während in der Zervix ein leichter Abfall bis zum zehnten Tag *post partum* zu beobachten ist.

### 3.2.4.3 Immunhistologischer Nachweis des Progesteron- und Östrogenrezeptors $\alpha$ im vaginalen und zervikalen Gewebe *intra* und *post partum*

Die Ergebnisse wurden nach zwei verschiedenen Methoden ausgewertet. Im ersten Schritt erfolgte die Zählung der absoluten Anzahl rezeptorexprimierender Zellen in der *Lamina propria mucosae* und *Tunica muscularis* pro 0,5 mm<sup>2</sup>. Das *Epithelium mucosae* fand keine Berücksichtigung, da aufgrund massiver degenerativer Veränderungen im vaginalen Epithel am fünften Tag *post partum* keine sinnvolle Zählung durchgeführt werden konnte. Es schloss sich eine Berechnung des immunreaktiven Scores (IRS) an. Die Ergebnisse beider Auswertungsverfahren zur Beurteilung temporärer Unterschiede der Rezeptorexpression werden nebeneinander dargestellt.

Zu allen drei Untersuchungszeitpunkten lassen sich in der Vagina östrogen- und progesteronrezeptorexprimierende Zellen nachweisen (Tabellen 25 - 30). Dabei ist die Anzahl in der Muskelschicht zu jedem Zeitpunkt höher als im Bindegewebe. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Weiterhin lässt sich in der Vagina zu allen drei Untersuchungszeitpunkten eine höhere Expression des Progesteron- als des Östrogenrezeptors nachweisen ( $p < 0,001$ ). Dies spiegelt sich auch in einem höheren IRS für den Progesteronrezeptor wider ( $p < 0,001$ ).

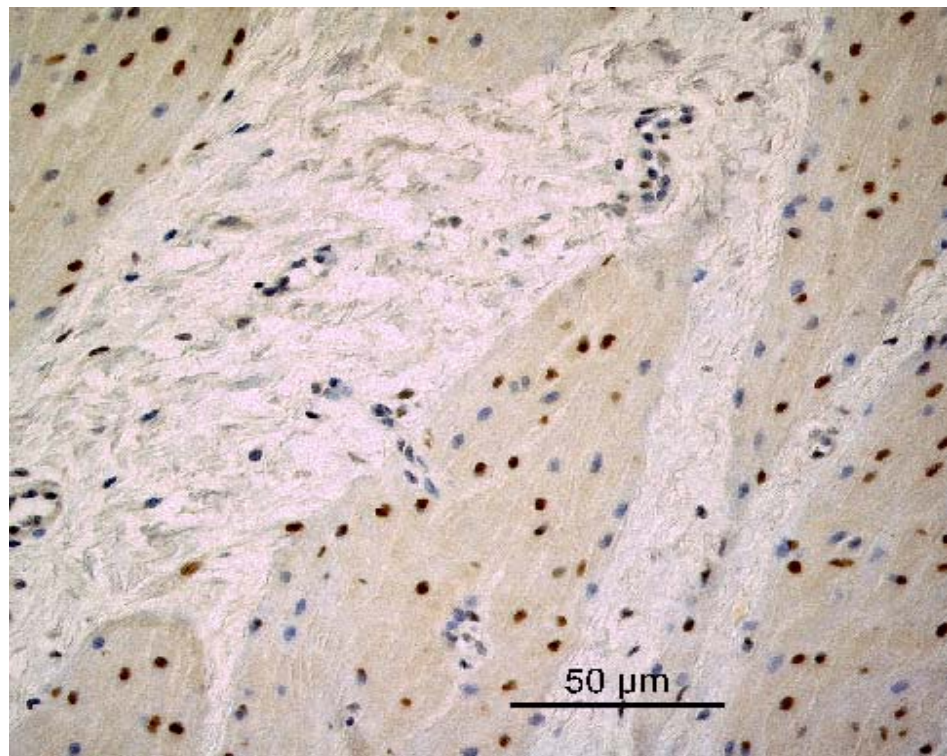
Zudem lassen sich teilweise temporäre Veränderungen der Rezeptorexpression detektieren (Abbildungen 37, 38, 39, 40, 41). Die Anzahl der Zellen mit positivem Progesteronrezeptornachweis befindet sich am fünften und zehnten Tag *post partum* auf dem gleichen Niveau wie unmittelbar nach der Geburt. Auch im IRS für den Progesteronrezeptor lassen sich keine temporären Veränderungen nachweisen. Anders verhält es sich mit der immunhistologischen Darstellung des Östrogenrezeptors  $\alpha$ . Die absolute Anzahl positiver Zellen in der *Tunica muscularis* fällt während des Frühpuerperiums ab. Diese Veränderungen sind jedoch nicht statistisch signifikant (Abbildung 40). In der *Lamina propria mucosae* lassen sich positive Zellen nur in geringer Anzahl detektieren. In diesem Kompartiment ist keine zeitliche Veränderung der Rezeptorexpression nachzuweisen. Zu einem anderen Ergebnis führt der Vergleich des IRS. Die Verminderung des IRS des Östrogenrezeptors  $\alpha$  vom intrapartalen Wert im Vergleich zum Puerperium ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 41).

In der Zervix lassen sich ebenfalls zu allen drei Untersuchungszeitpunkten Zellen mit Steroidhormonrezeptoren detektieren, wobei die Anzahl der Zellen, in denen Progesteronrezeptoren nachgewiesen werden können eine höhere Dichte zeigen, als die Zellen mit positivem Östrogenrezeptornachweis ( $p < 0,001$ ). Dies spiegelt sich auch in einem höheren IRS für den Progesteronrezeptor wieder ( $p < 0,001$ ).

Auch in der Zervix ist die Dichte positiver Zellen insgesamt im muskulären Kompartiment höher als in der *Tunica mucosa* ( $p < 0,001$ ).

Die absolute Zahl der Zellen mit nachweisbaren Progesteronrezeptoren steigt bis zum Ende der Untersuchungsperiode an (Abbildung 42). Diese Veränderungen sind nicht statistisch signifikant und finden keine Entsprechung in einer gleichartigen Steigerung des IRS (Abbildungen 43). Die Anzahl der Zellen, in welchen Östrogenrezeptoren darstellbar sind, fällt von der Geburt bis zum fünften Tag *post partum* ab, zeigt in der Folgezeit jedoch einen Anstieg über die intrapartalen Werte (Tabellen 25 - 30; Abbildungen 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51). Diese zeitlichen Veränderungen sind statistisch hoch signifikant und spiegeln sich auch in einer entsprechenden Zunahme des IRS wider ( $p < 0,001$ ).

A



B

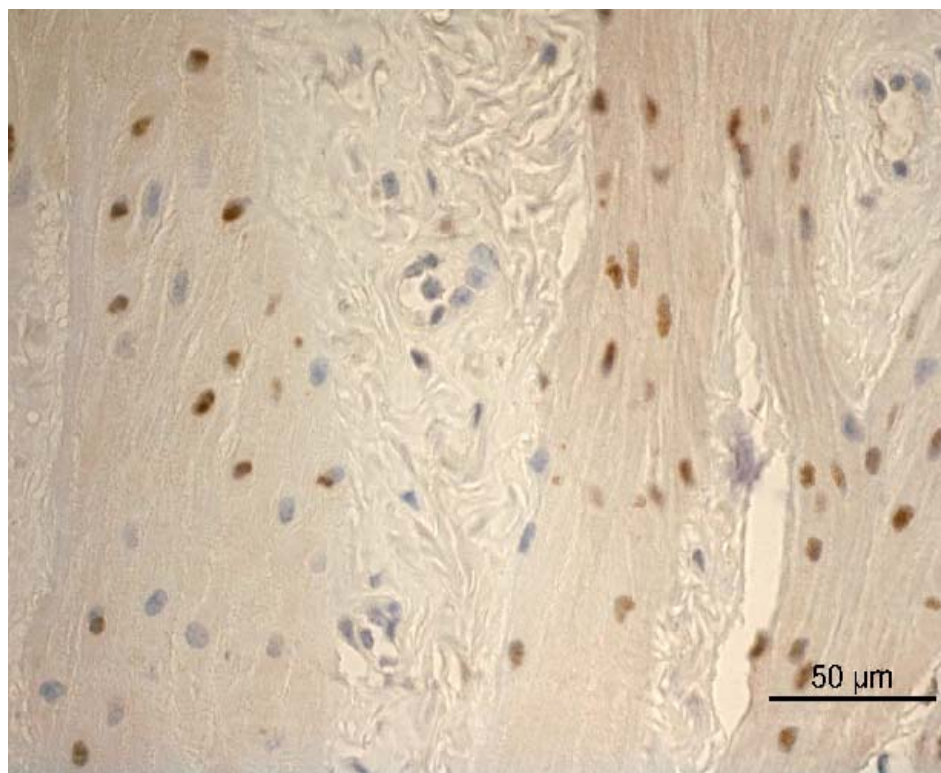


Abbildung 37: Immunhistologischer Nachweis des Progesteronrezeptors (A) und des Östrogenrezeptors  $\alpha$  (B) in der *Tunica muscularis* der bovinen Vagina *intra partum*. Beachte das ausgeprägte Ödem in den Bindegewebssepten zwischen den Muskelfasern.

Tabelle 25: Anzahl östrogen (ÖR)- und progesteronrezeptorexprimierender (PR) Zellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix *i. p.* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren und den Lokalisationen *L. propria mucosae* und *Tunica muscularis* ist in beiden Organen statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	Vagina PR / ÖR	Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	73,4 / 25,9	114,7 / 29,8
	<i>Tunica muscularis</i>	304,8 / 104,9	276,9 / 225,1
2	<i>L. propria mucosae</i>	96,8 / 9,9	106,5 / 22,8
	<i>Tunica muscularis</i>	285 / 185,1	318,5 / 198,7
3	<i>L. propria mucosae</i>	71,2 / 30,8	117,3 / 29,2
	<i>Tunica muscularis</i>	318,4 / 220,2	265,8 / 225,3
4	<i>L. propria mucosae</i>	79,3 / 15,1	109,5 / 19,3
	<i>Tunica muscularis</i>	303,1 / 299,5	320,9 / 190,1
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	79,4 $\pm$ 1,1 / 18,6 $\pm$ 1,7	109,6 $\pm$ 1,0 / 24,9 $\pm$ 5,1
SF	<i>Tunica muscularis</i>	251,2 $\pm$ 1,0 / 188,8 $\pm$ 1,5	288,4 $\pm$ 1,1 / 211,4 $\pm$ 1,1

Tabelle 26: Immunreaktiver Score (IRS) für die Östrogen(ÖR)- und Progesteron(PR)-Rezeptorexpression in der Vagina und Zervix *i. p.* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren und den Lokalisationen *L. propria mucosae* und *Tunica muscularis* ist in beiden Organen statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	IRS Vagina PR / ÖR	IRS Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	1,3 / 0,4	4,0 / 0,3
	<i>Tunica muscularis</i>	3,0 / 1,5	4,2 / 1,2
2	<i>L. propria mucosae</i>	1,5 / 0,3	1,5 / 0,1
	<i>Tunica muscularis</i>	2,3 / 1,2	5,2 / 1,4
3	<i>L. propria mucosae</i>	1,3 / 0,6	3,8 / 0,3
	<i>Tunica muscularis</i>	2,9 / 1,7	4,1 / 1,0
4	<i>L. propria mucosae</i>	1,4 / 0,6	1,9 / 0,1
	<i>Tunica muscularis</i>	2,0 / 0,9	4,7 / 1,3
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	1,4 $\pm$ 1,1 / 0,5 $\pm$ 1,4	2,6 $\pm$ 1,6 / 0,2 $\pm$ 1,9
SF	<i>Tunica muscularis</i>	2,5 $\pm$ 1,2 / 1,2 $\pm$ 1,3	4,5 $\pm$ 1,1 / 0,8 $\pm$ 1,2

Tabelle 27: Anzahl östrogen (ÖR)- und progesteronrezeptorexprimierender (PR) Zellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix am 5. Tag *p. p.* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren, den Lokalisationen *L. propria mucosae* und *Tunica muscularis* und den beiden Organen ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	Vagina PR / ÖR	Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	83,2 / 17,6	229,5 / 5,2
	<i>Tunica muscularis</i>	279,9 / 197,4	260,2 / 20,9
2	<i>L. propria mucosae</i>	91,9 / 15,2	153,8 / 13,4
	<i>Tunica muscularis</i>	322,9 / 210,8	226,9 / 34,9
3	<i>L. propria mucosae</i>	120,9 / 16,5	209,4 / 9,6
	<i>Tunica muscularis</i>	281,9 / 191,6	256,5 / 16,8
4	<i>L. propria mucosae</i>	102,8 / 14,9	154,8 / 8,1
	<i>Tunica muscularis</i>	285,7 / 137,9	222,6 / 38,2
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	97,7 $\pm$ 1,2 / 16,0 $\pm$ 1,0	181,9 $\pm$ 1,2 / 8,6 $\pm$ 1,5
SF	<i>Tunica muscularis</i>	288,4 $\pm$ 1,1 / 182,1 $\pm$ 1,2	239,9 $\pm$ 1,1 / 26,2 $\pm$ 1,5

Tabelle 28: Immunreaktiver Score (IRS) für die Östrogen(ÖR)- und Progesteron(PR)-Rezeptorexpression in der Vagina und Zervix am 5. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	IRS Vagina PR / ÖR	IRS Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	1,6 / 0,2	3,0 / 0,6
	<i>Tunica muscularis</i>	2,5 / 0,3	1,8 / 0,7
2	<i>L. propria mucosae</i>	1,7 / 0,1	1,6 / 0,2
	<i>Tunica muscularis</i>	2,5 / 0,3	1,4 / 0,5
3	<i>L. propria mucosae</i>	1,8 / 0,4	3,6 / 0,6
	<i>Tunica muscularis</i>	2,2 / 0,3	1,9 / 0,8
4	<i>L. propria mucosae</i>	1,3 / 0,3	1,9 / 0,4
	<i>Tunica muscularis</i>	1,9 / 0,4	1,5 / 0,8
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	1,6 $\pm$ 1,2 / 0,2 $\pm$ 1,8	2,4 $\pm$ 1,5 / 0,4 $\pm$ 1,4
SF	<i>Tunica muscularis</i>	2,3 $\pm$ 1,1 / 0,3 $\pm$ 1,8	1,6 $\pm$ 1,2 / 0,7 $\pm$ 1,6

Tabelle 29: Anzahl östrogen (ÖR)- und progesteronrezeptorexprimierender (PR) Zellen (pro 0,5 mm<sup>2</sup>) in der Vagina und Zervix am 10. Tag *post partum* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren, den Lokalisationen *L. propria mucosae* und *Tunica muscularis* und den beiden Organen ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	Vagina PR / ÖR	Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	116,9 / 22,9	258,2 / 98,7
	<i>Tunica muscularis</i>	279,9 / 109,2	392,9 / 387,1
2	<i>L. propria mucosae</i>	219,3 / 30,1	239,2 / 117,4
	<i>Tunica muscularis</i>	321,5 / 132,9	406,9 / 330,8
3	<i>L. propria mucosae</i>	110,2 / 29,8	299,1 / 102
	<i>Tunica muscularis</i>	249,2 / 119,4	409,1 / 358,4
4	<i>L. propria mucosae</i>	121,9 / 19,1	237,3 / 128,1
	<i>Tunica muscularis</i>	236,6 / 138,3	458,8 / 314,4
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	120,2 $\pm$ 1,1 / 25,0 $\pm$ 1,2	257,0 $\pm$ 1,1 / 110,9 $\pm$ 1,1
SF	<i>Tunica muscularis</i>	253,5 $\pm$ 1,0 / 124,6 $\pm$ 1,1	407,4 $\pm$ 1,1 / 346,6 $\pm$ 1,1

Tabelle 30: Immunreaktiver Score (IRS) für die Östrogen(ÖR)- und Progesteron(PR)-Rezeptorexpression in der Vagina und Zervix am 10. Tag *p. p.* bei vier Kühen und als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor (SF). Der Unterschied zwischen den beiden Steroidrezeptoren ist in der Vagina statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Kuh	Lokalisation	IRS Vagina PR / ÖR	IRS Zervix PR / ÖR
1	<i>L. propria mucosae</i>	1,4 / 0,4	2,3 / 0,7
	<i>Tunica muscularis</i>	1,9 / 0,3	2,6 / 2,4
2	<i>L. propria mucosae</i>	0,8 / 0,1	1,5 / 1,5
	<i>Tunica muscularis</i>	2,2 / 0,1	1,7 / 2,2
3	<i>L. propria mucosae</i>	1,2 / 0,5	2,5 / 0,9
	<i>Tunica muscularis</i>	1,8 / 0,3	2,5 / 2,7
4	<i>L. propria mucosae</i>	0,6 / 0,1	1,7 / 1,4
	<i>Tunica muscularis</i>	1,9 / 0,2	2,2 / 2,8
$\bar{x}_g \pm$	<i>L. propria mucosae</i>	0,9 $\pm$ 1,5 / 0,2 $\pm$ 2,3	1,9 $\pm$ 1,3 / 1,1 $\pm$ 2,4
SF	<i>Tunica muscularis</i>	1,9 $\pm$ 1,1 / 0,2 $\pm$ 1,6	2,2 $\pm$ 1,2 / 2,5 $\pm$ 1,1

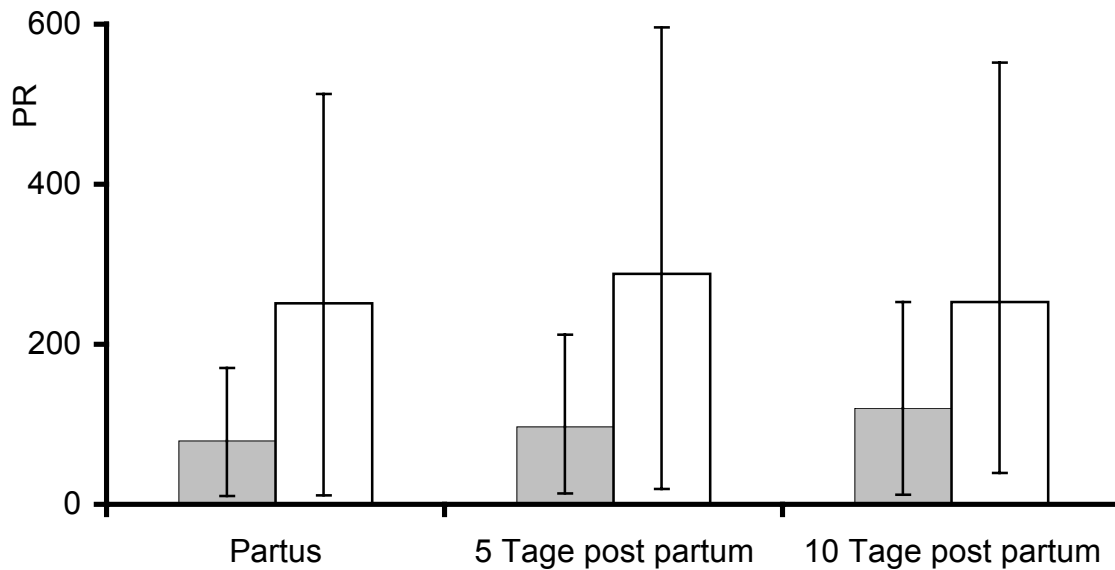


Abbildung 38: Anzahl der progesteronrezeptorexprimierenden Zellen (PR) pro 0,5 mm<sup>2</sup> in der Vagina, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ).

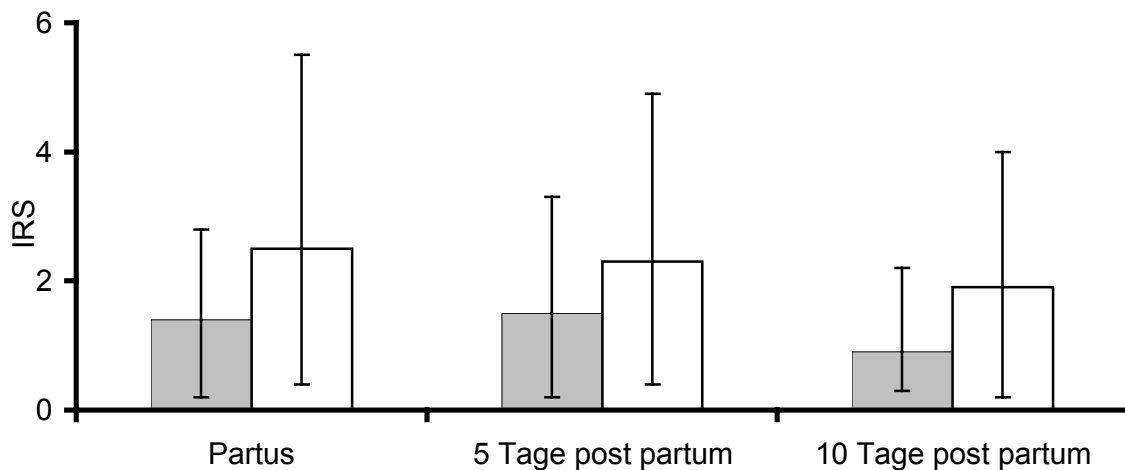


Abbildung 39: Immunreaktiver Score (IRS) der Expression des Progesteronrezeptors in der Vagina, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ).

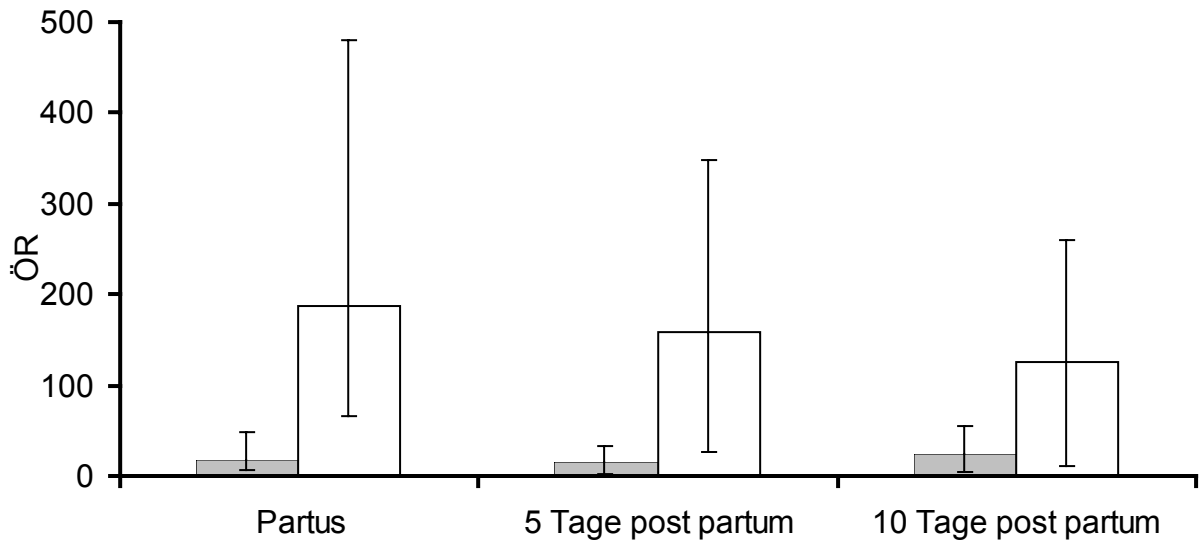


Abbildung 40: Anzahl der östrogenrezeptorexprimierenden Zellen (ÖR) pro 0,5 mm<sup>2</sup> in der Vagina, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ).

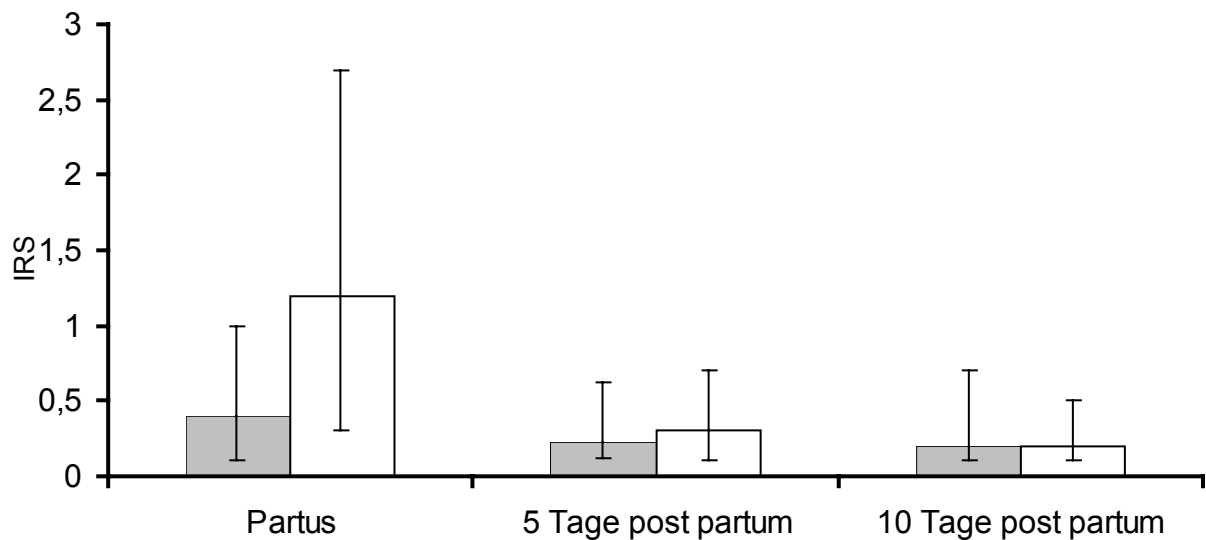


Abbildung 41: Immunreaktiver Score (IRS) der Expression des Östrogenrezeptors in der Vagina, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Die Situation *intra partum* unterscheidet sich statistisch hoch signifikant von der Expression im Puerperium ( $p < 0,001$ ).

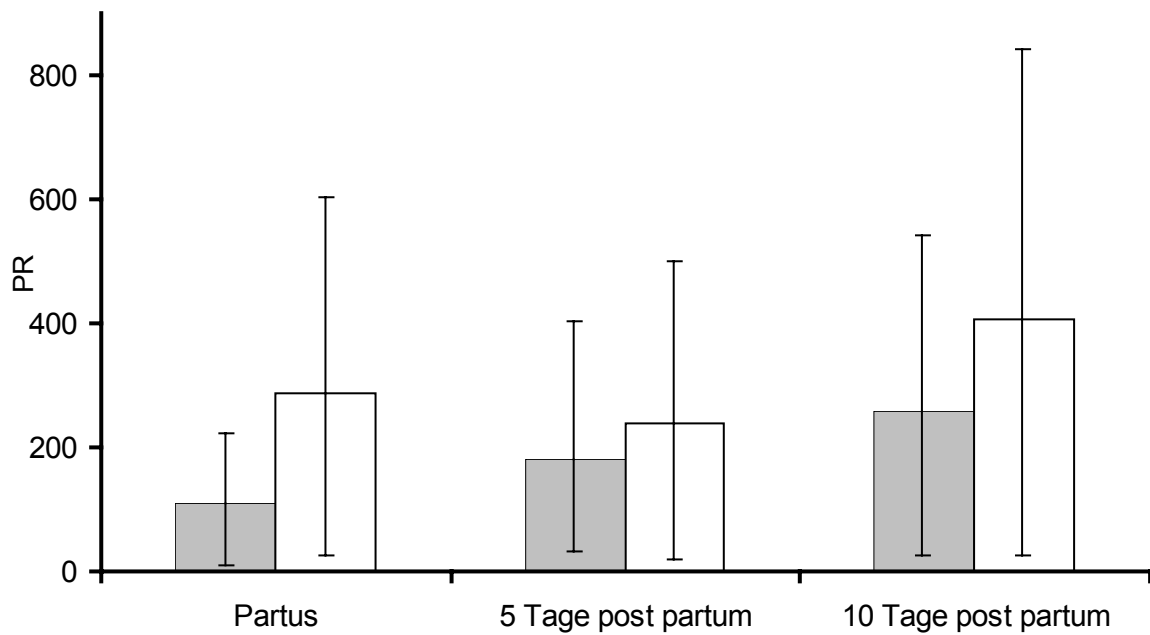


Abbildung 42: Anzahl der progesteronrezeptorexprimierender Zellen (PR) pro 0,5 mm<sup>2</sup> in der Zervix, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ).

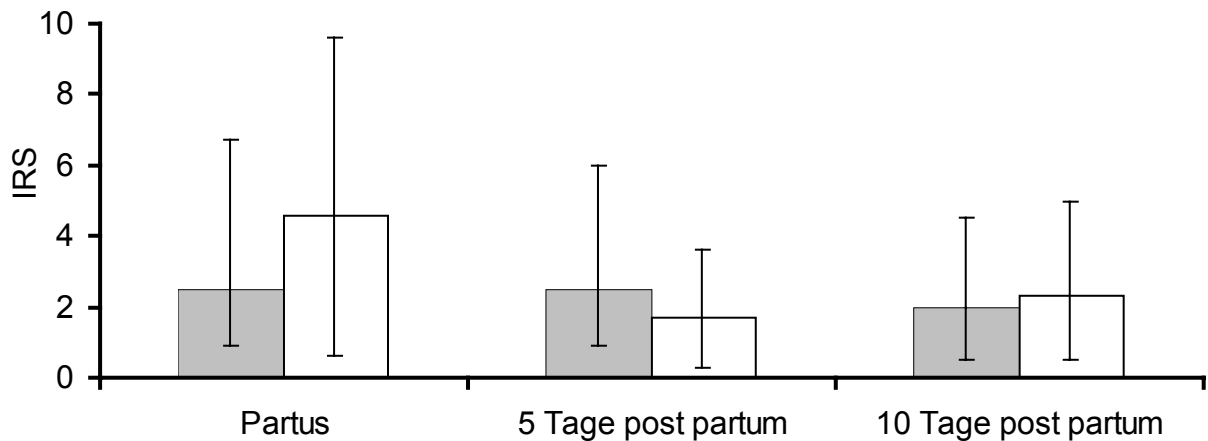


Abbildung 43: Immunreaktiver Score (IRS) der Expression des Progesteronrezeptors in der Zervix, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ).

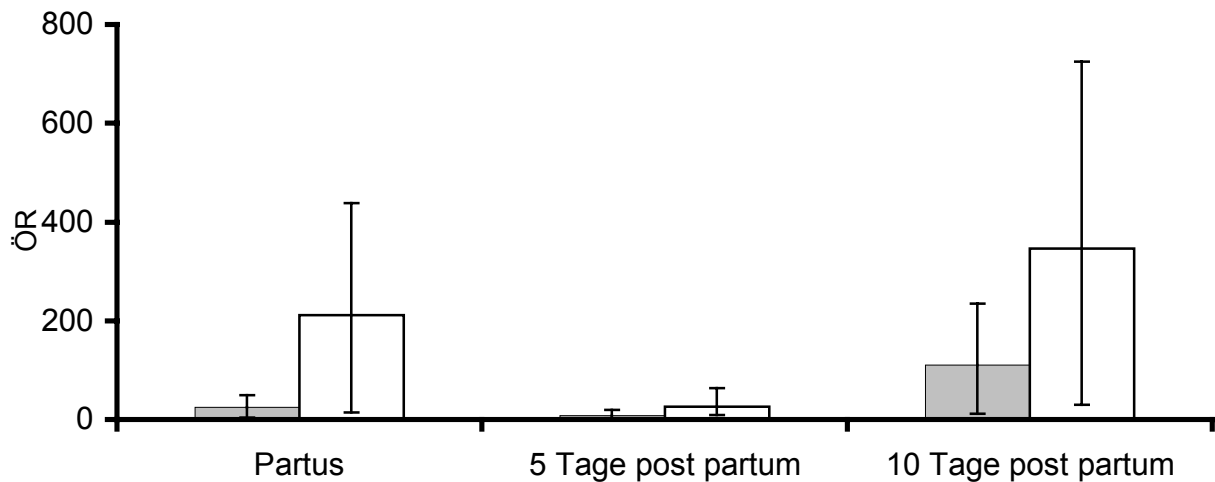


Abbildung 44: Anzahl der östrogenrezeptorexprimierenden Zellen (ÖR) pro 0,5 mm<sup>2</sup> in der Zervix, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Die zeitlichen Veränderungen sind insgesamt statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

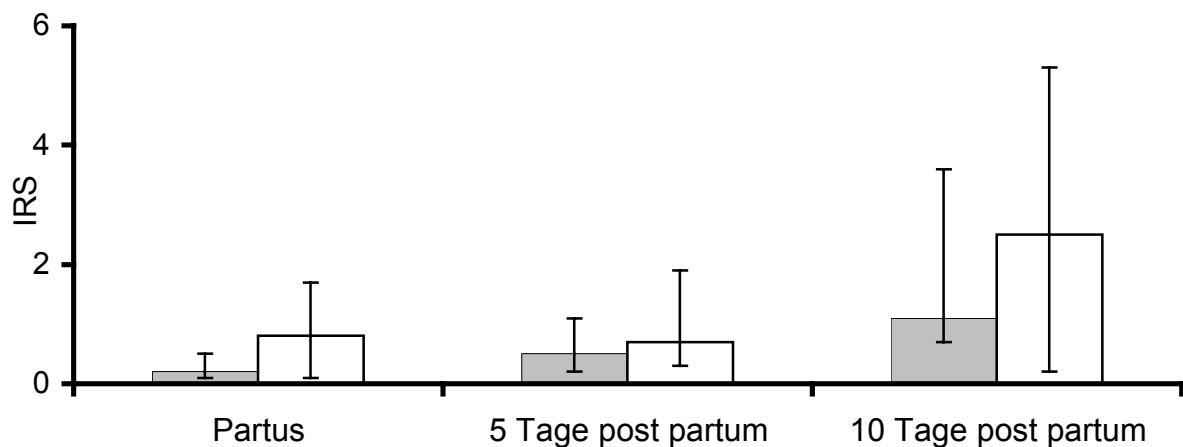


Abbildung 45: Immunreaktiver Score (IRS) für die Expression des Östrogenrezeptors in der Zervix, differenziert nach *Lamina propria mucosae* (■) und *Tunica muscularis* (□) unter der Geburt und im Frühpuerperium, dargestellt als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ) mit Streufaktor ( $SF^{\pm 1}$ ). Die zeitlichen Veränderungen sind insgesamt statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

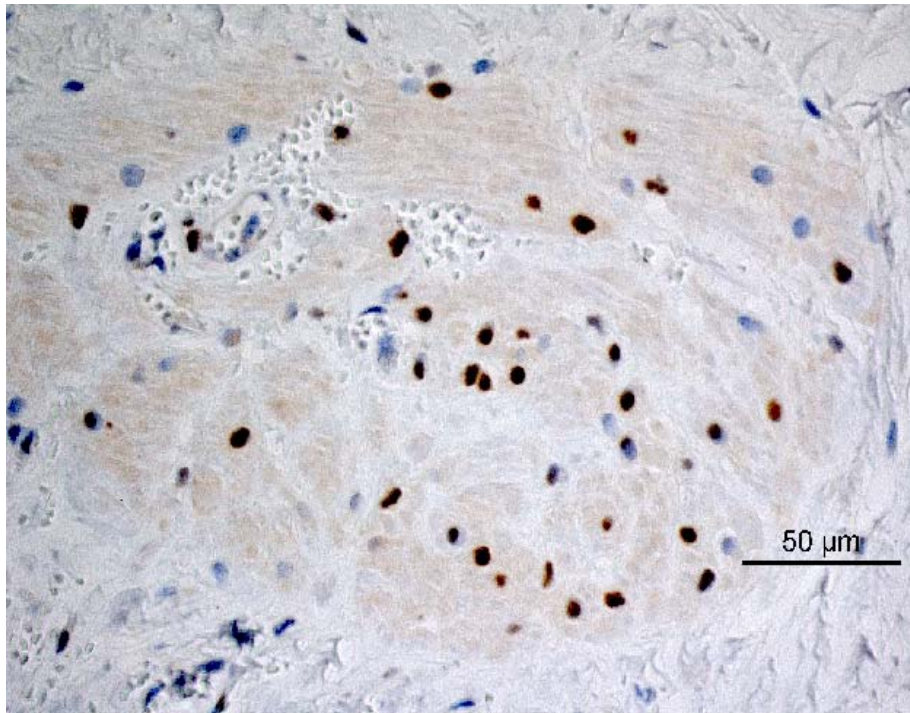


Abbildung 46: Immunhistologischer Nachweis des Östrogenrezeptors  $\alpha$  in der *Tunica muscularis* der bovinen Zervix *intra partum*.

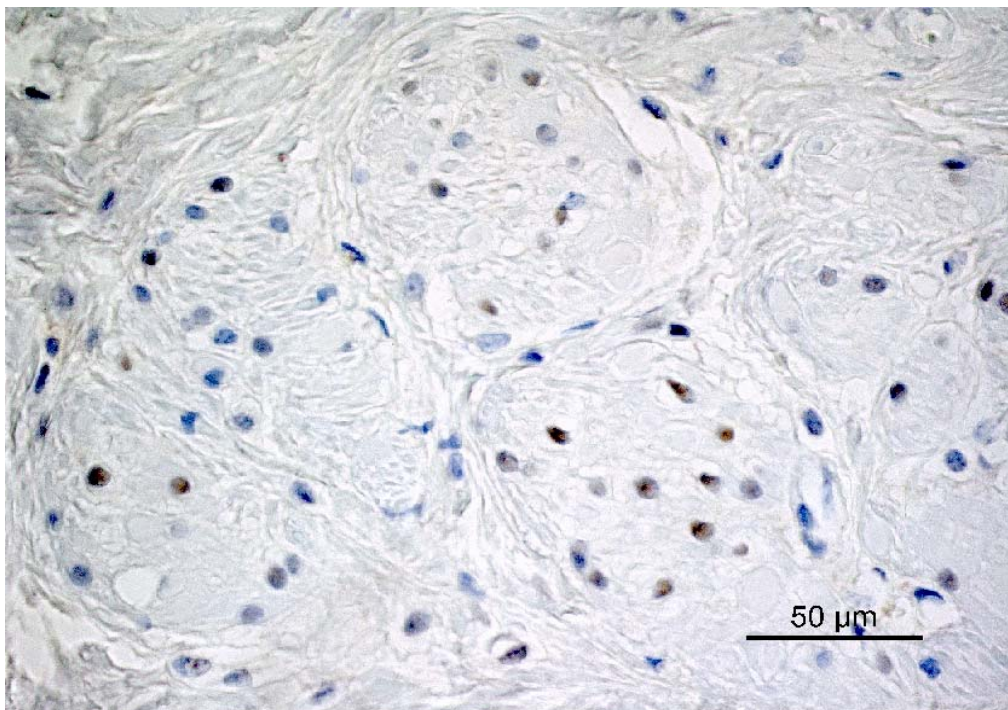


Abbildung 47: Immunhistologischer Nachweis des Östrogenrezeptors  $\alpha$  in der *Tunica muscularis* der bovinen Zervix am fünften Tag *post partum*.

### 3.2.5 Expression der mRNA des Östrogenrezeptor $\alpha$ im vaginalen Gewebe

Die Bestimmung der Expressionsrate erfolgte in drei Wiederholungen an drei unterschiedlichen Tagen. Dabei gelang der Nachweis einer Reduktion der Expression vom Geburtszeitpunkt bis zum zehnten Tag *post partum* (Tabelle 31; Abbildung 52). Die Unterschiede sind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ;  $r_s = -0,908$ ).

Tabelle 31: Normalisierte Mittelwerte der optischen Dichte der PCR-Produkte nach RT-PCR des Östrogenrezeptors  $\alpha$  im vaginalen Gewebe *intra partum*, fünf und zehn Tage *post partum*. Die Unterschiede sind statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

	<i>intra partum</i>	5 Tage <i>post partum</i>	10 Tage <i>post partum</i>
1. Wiederholung	150,0	33,5	0
2. Wiederholung	214,9	68,2	0
3. Wiederholung	211,5	0	0
Mittelwert	192,1	33,9	0

Zur Überprüfung, ob sich am zehnten Tag *post partum* überhaupt Transkripte nachweisen lassen, wurde in einem zweiten Versuch die PCR-Zyklenzahl auf 38 erhöht. Unter diesen Bedingungen liess sich auch zu diesem Zeitpunkt eine Expression dokumentieren (Abbildung 52).

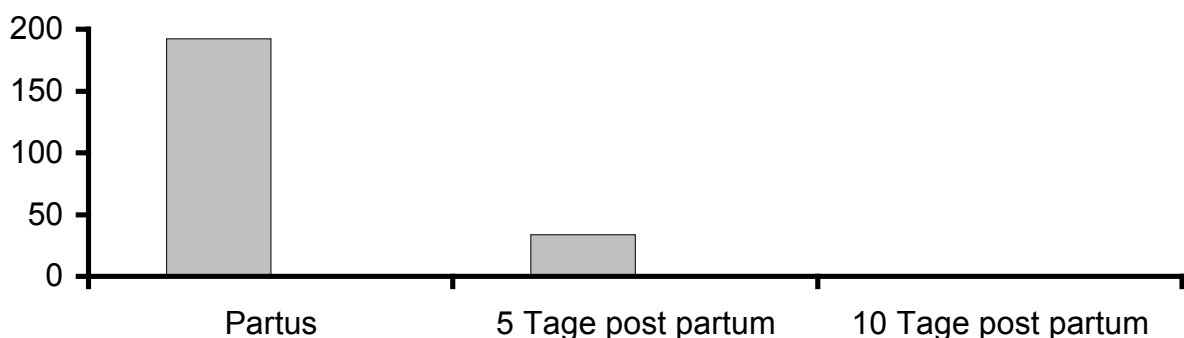


Abbildung 52: Vaginale Expression des Östrogenrezeptors  $\alpha$

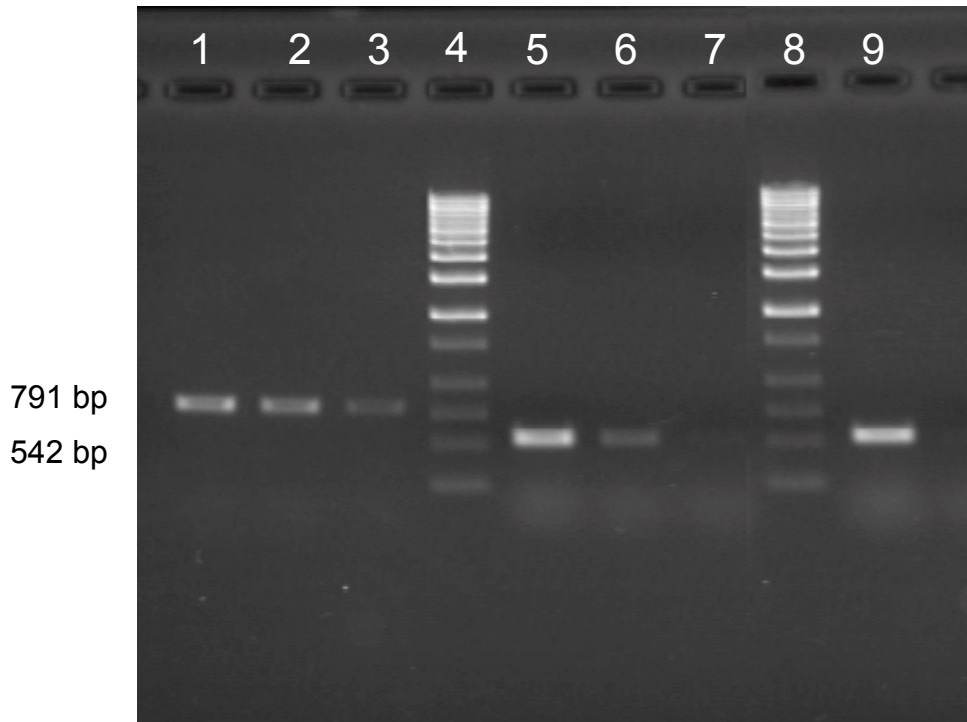


Abbildung 53: Vaginale Expression des Östrogenrezeptors  $\alpha$ ; 1%iges Agarosegel gefärbt mit Ethidiumbromid.

1. GAPDH *intra partum*
2. GAPDH fünf Tage *post partum*
3. GAPDH zehnter Tag *post partum*
4. Längenstandard Fermentas
5. Östrogenrezeptor  $\alpha$  *intra partum*
6. Östrogenrezeptor  $\alpha$  fünf Tage *post partum*
7. Östrogenrezeptor  $\alpha$  zehn Tage *post partum*
8. Längenstandard Fermentas
9. Östrogenrezeptor  $\alpha$  zehn Tage *post partum* nach Erhöhung der PCR-Zyklenzahl von 28 auf 35

### 3.2.6 Teilsequenz des bovinen Östrogenrezeptors $\alpha$

Zur Untersuchung der Expression des Östrogenrezeptor  $\alpha$  im vaginalen und zervikalen Gewebe kamen Primer, die sich von der Nukleotidsequenz des ovinen Östrogenrezeptors  $\alpha$  ableiten, zum Einsatz. Es gelang, ein Amplifikat einer Länge von 542 Basen zu detektieren (Abbildung 54).

```
GTCAGTGCAGAGAGAGATTGGCCAGTACCAGTGACAAGGGAAGCATGGCCATG
GAATCTGCCAAGGAGACTTGGTACTGTGCAGTGTGCAATGACTATGCCTCAGGC
TACCATTACGGAGTTTGGTCTTGCGAGGGCTGTAAGGCCTTCTTCAAGAGAAGT
ATTCAAGGACATAATGACTACATGTGTCCGGCCACCAACCAGTGCACGATTGAT
AAAAACAGGAGGAAGAGCTGTCAGGCCTGCCGGCTACGCAAGTGCTATGAAGT
GGGCATGATGAAAGGCGGAATACGGAAAGACCGAAGAGGAGGGAGAATGTTGA
AGCACAAGCGCCAGAGAGATGATGGGGAGGGCAGGAACGAAGCGGTGCCCTC
CGGAGACATGAGAGCTGCCAACCTTTGGCCAAGCCCCATCATGATTAACACAC
TAAGAAGAACAGCCCGGTGTTGTCCCTGACAGCTGACCAGATGATCAGTGCXTT
GCTGGAGGCTGAGCCCCC
```

Abbildung 54: Sequenz des amplifizierten Teilstückes des bovinen Östrogenrezeptors  $\alpha$  ohne die Sequenz der eingesetzten Primer (500 bp)

Das sequenzierte Amplifikat weist eine hohe Übereinstimmung mit den publizierten Teilsequenzen der mRNA des ovinen<sup>48</sup> (97 %), equinen<sup>49</sup> (91 %) und caninen<sup>50</sup> (90 %) Östrogenrezeptors  $\alpha$  und zum Östrogenrezeptor des Schweines<sup>51</sup> (95 %) auf.

<sup>48</sup> Accession number AY033393

<sup>49</sup> Accession number AF124093

<sup>50</sup> Accession number AJ3131195

<sup>51</sup> Accession number Z37167

### 3.2.7 Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis

Es wurden die Daten von 1777 Schweregeburten beim Hund, Schwein, Pferd, Rind und Schaf hinsichtlich der Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis ausgewertet (Tabelle 32).

Tabelle 32: Ausgewertete Dystokiefälle bei verschiedenen Haustierarten

Tierart	Anzahl der Dystokiefälle
Pferd	61
Schwein	72
Schaf	260
Hund	104
Rind	1280
<b>Gesamt</b>	<b>1777</b>

#### Situation beim Pferd

Die 61 Schweregeburten wurden achtmal durch eine *Sectio caesarea*, zweimal durch manuellen Auszug und 51 mal durch eine Fetotomie beendet. Insgesamt waren 93,4 % der Geburtsstockungen auf den Fetus (n = 57) und 6,6 % auf die Stute (n = 4) zurückzuführen. Die Ursachen der beiden Dystokiefälle, die sich durch manuellen Auszug beenden liessen, bezogen sich auf eine untere Stellung, einmal assoziiert mit einer beidseitigen Karpalgelenksbeugehaltung. Die Zervix war nicht vollständig geöffnet, konnte jedoch ohne Probleme manuell geweitet werden. Folglich ist nicht anzunehmen, dass primär eine zervikal bedingte Schweregeburt vorlag.

Die Indikationen für eine *Sectio caesarea* bestanden in drei Fällen in einer *Torsio uteri intra partum*, die aufgrund des Drehungsgrades keine Retorsion erlaubte, zweimal in einer absolut zu großen Frucht und in drei Fällen in einer nicht zu korrigierenden Querlage.

Die zu einer Fetotomie führenden Ursachen sind in Abbildung 55 aufgeführt.

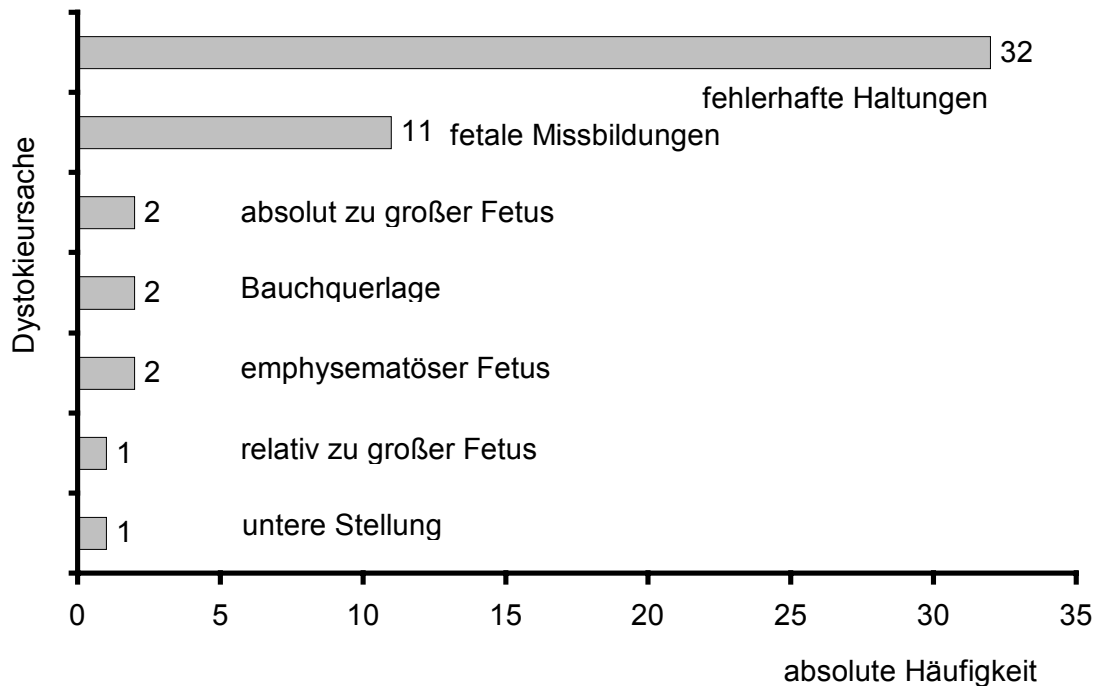


Abbildung 55: Dystokieursachen beim Pferd, die eine Fetotomie notwendig machten (n = 51).

Als Hauptursache einer Fetotomie ist eine pathologische Haltung des Fetus zu nennen. Dabei waren siebenmal die Vordergliedmassen, zweimal die Hintergliedmassen und zwölfmal der Kopf betroffen. In elf Fällen lag eine fehlerhafte Haltung des Kopfes und der Vordergliedmassen vor. Bei den missgebildeten Feten wurde viermal ein Hydrocephalus und siebenmal ankylosierte Gelenke diagnostiziert. Störungen der Zervixöffnung stellten in keinem Fall die Ursache für das veterinärmedizinische Eingreifen dar.

#### Situation beim Schwein

Insgesamt standen Protokolle von 72 Schweregeburten zur Verfügung. In 63 % (n = 45) lag die Dystokieursache auf maternaler Seite (Tabelle 33), in 37 % (n = 27) war die Ursache der Geburtsstockung durch den Fetus begründet (Tabelle 34).

Tabelle 33: Ursachen der maternal bedingten Geburtsstörungen beim Schwein

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die maternal bedingten Dystokien (n = 45)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 72)
Wehenschwäche	23	51,1	31,9
Ödeme im Vulva/Vaginalbereich	7	15,1	9,7
Vaginalprolaps	5	11,1	6,9
Verletzungen im Vaginalbereich	4	8,8	5,5
Zervixenge	3	6,6	4,1
Torsio uteri	2	4,4	2,7
Vesikalflexion	1	2,2	1,3

Tabelle 34: Ursachen der fetal bedingten Geburtsstörungen beim Schwein

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die fetal bedingten Dystokien (n = 27)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 72)
fetomaternales Mißverhältnis	19	70,3	26,3
Verkeilte Früchte	4	14,8	5,5
beidseitige Hüftbeugehaltung	4	14,8	5,5

Unter der Rubrik fetomaternales Missverhältnis wurden die Schweregeburten aufgeführt, bei denen trotz vollständiger Öffnung des weichen Geburtsweges kein Ferkel entwickelt werden konnte. Bezogen auf die Gesamtzahl der

Geburtskomplikationen war in 4 % die Dystokieursache zervikal bedingt. In diesen Fällen mußte eine *Sectio caesarea* zur Beendigung der Geburt erfolgen.

#### Situation beim Schaf

Von den 260 ausgewerteten Schweregeburten lag bei 52 % (n = 135) die Dystokieursache auf maternaler und bei 48 % (n = 125) auf fetaler Seite. Bei den Ursachen, die durch das Muttertier begründet waren, spielte die Zervixmanschette (35 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 67,4 % bezogen auf die maternal bedingten Schweregeburten) die dominierende Rolle. Es folgten der *Prolaps vaginae intra partum* (10 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 20 % bezogen auf die maternal bedingten Schweregeburten) und die Wehenschwäche (4,2 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 8 % bezogen auf die maternal bedingten Schweregeburten), vor der *Torsio uteri* (3 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 6 % bezogen auf die maternal bedingten Schweregeburten). In einem Fall lag eine Deformationen des knöchernen Beckens vor (Abbildung 56).

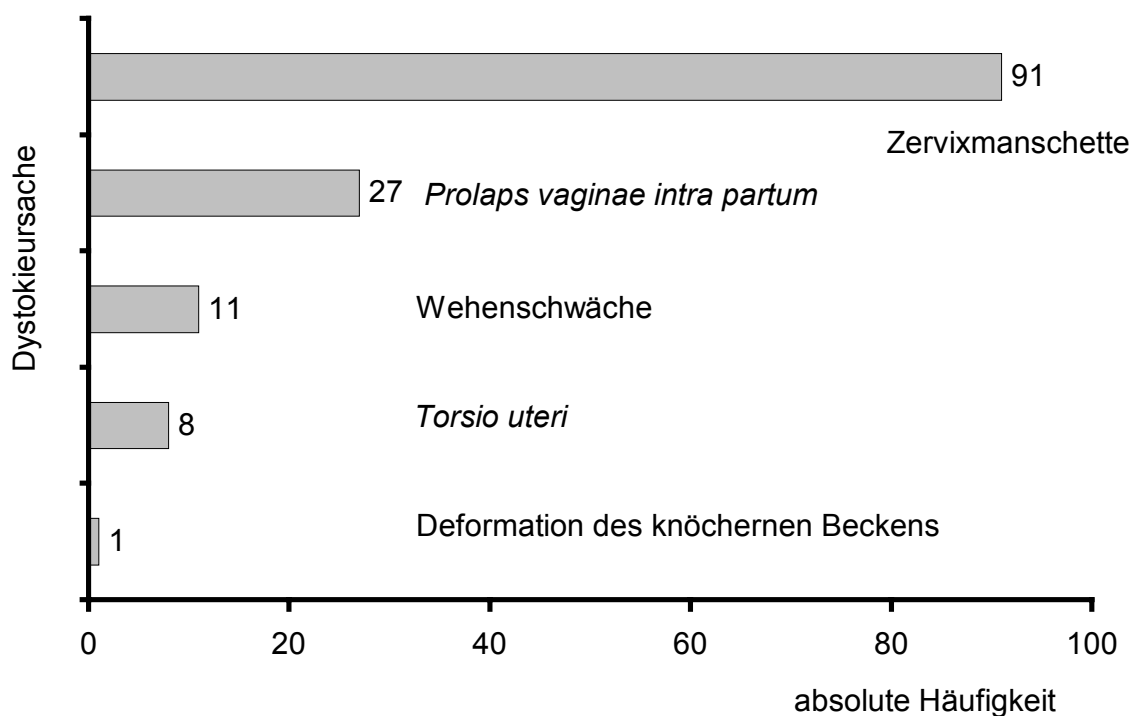


Abbildung 56: Maternal bedingte Schweregeburten beim Schaf (n = 135)

Die fetal bedingten Schweregeburten waren in 90 Fällen verursacht durch fehlerhafte Haltungen, Stellungen und Lagen (34,6 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 72 % bezogen auf die fetal bedingten Schweregeburten), 17 mal wurden verkeilte Früchte diagnostiziert (6,5 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 13 % bezogen auf die fetal bedingten Schweregeburten), in 15 Fällen lag ein fetomaternales Missverhältnis (4,6 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 12 % bezogen auf die fetal bedingten Schweregeburten) vor. Dreimal kam es aufgrund einer Missbildung zur Geburtsstockung (4,6 % bezogen auf die Geburten insgesamt; 2,4 % bezogen auf die fetal bedingten Schweregeburten). Insgesamt konnte in 91 Fällen eine zervikal verursachte Geburtskomplikation diagnostiziert werden. Dies entspricht einem Anteil von 67,4 % der maternal bedingten Dystokien.

#### Situation beim Rind

Bei dieser Tierart standen die meisten Unterlagen über Schweregeburten zur Verfügung (n = 1280). Dabei zeigte sich in 238 Fällen die Zervix als Geburtshindernis, was einem Anteil von 18,5 % in Bezug auf die ausgewerteten Dystokien entspricht. Werden nur die maternal bedingten Komplikationen berücksichtigt (n = 373; 29 % bezogen auf die Gesamtzahl) steigt die Bedeutung auf 63,8 %. In Tabelle 35 sind die maternalen Ursachen einer Geburtsstockung aufgeführt.

Tabelle 35: Ursachen der maternal bedingten Schweregeburten beim Rind

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die maternal bedingten Dystokien (n = 373)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 1280)
Zervixmanschette	238	63,8	18,5
<i>Torsio uteri</i>	85	22,7	6,6
Wehenschwäche	48	12,8	3,7
Enge im Vagino-Vestibularbereich	2	0,5	0,1

In 907 Fällen war die Schweregeburt fetal begründet (73 % bezogen auf die Gesamtzahl der Fälle). Es dominierten fetomaternale Missverhältnisse der Größe, gefolgt von fehlerhaften Haltungen, Stellungen und Lagen. Missbildungen und verkeilte Früchte im Rahmen einer Zwillingsgeburt wurden in 28 und 26 Fällen diagnostiziert (Tabelle 36).

Tabelle 36: Ursachen der fetal bedingten Schweregeburten beim Rind

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die fetal bedingten Dystokien (n = 907)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 1280)
fetomaternales Mißverhältnis	551	0,7	43,0
Fehlerhafte Haltungen, Lagen, Stellungen	302	33,2	23,5
Missbildungen	28	3,0	2,2
Verkeilte Feten	26	2,8	2,0

## Situation beim Hund

In 73 Fällen (70 %) war der Grund der Geburtsstockung auf maternaler Seite zu finden, in 31 Fällen (30 %) lag die Ursache bei den Feten (Tabellen 37, 38).

Tabelle 37: Ursachen der maternal bedingten Schweregeburten beim Hund

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die maternal bedingten Dystokien (n = 73)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 104)
Wehenschwäche	69	94,5	66,3
Enge im Vagino-Vestibularbereich	2	2,7	1,9
Deformation im knöchernen Becken	1	1,3	0,9
<i>Torsio uteri</i>	1	1,3	0,9

Tabelle 38: Ursachen der fetal bedingten Schweregeburten beim Hund

Ursache	Anzahl	Prozentualer Anteil bezogen auf die fetal bedingten Dystokien (n = 31)	Prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n = 104)
Stellungs- und Haltungsanomalien	17	54,8	16,3
Absolut zu große Frucht	11	35,4	10,5
Missbildungen	3	9,6	2,8

Bei der Hündin dominierte damit wie bei der Sau die Wehenschwäche als Grund einer Dystokie vor den mechanische Ursachen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich die Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis bei den untersuchten Haussäugetieren statistisch hoch signifikant unterscheidet ( $p < 0,001$ ). Dies ergibt sich sowohl aus der Betrachtung der Dystokien als Gesamtheit, als auch bei ausschliesslicher Berücksichtigung der maternal bedingten Schweregeburten (Abbildung 57, Tabellen 39, 40). Während bei der Stute und der Hündin in keinem Fall die Zervix ein Geburtshindernis darstellte, gehört dieser Abschnitt des weichen Geburtsweges beim Wiederkäuer zu den klinisch relevantesten Geburtshindernissen. Beim Rind steht die Zervixenge nach den fetomaternalen Missverhältnissen und den fehlerhaften Lagen, Stellungen und Haltungen an dritter Stelle. Bezogen auf die maternal bedingten Geburtsstörungen, stellt sich die Zervix als bedeutendste Ursache einer Geburtsstörung dar. In der ovinen Obstetrik spielt die zervikal bedingte Dystokie sogar vor pathologischen fetalen Positionen die quantitativ wichtigste Rolle ( $p < 0,001$ ).

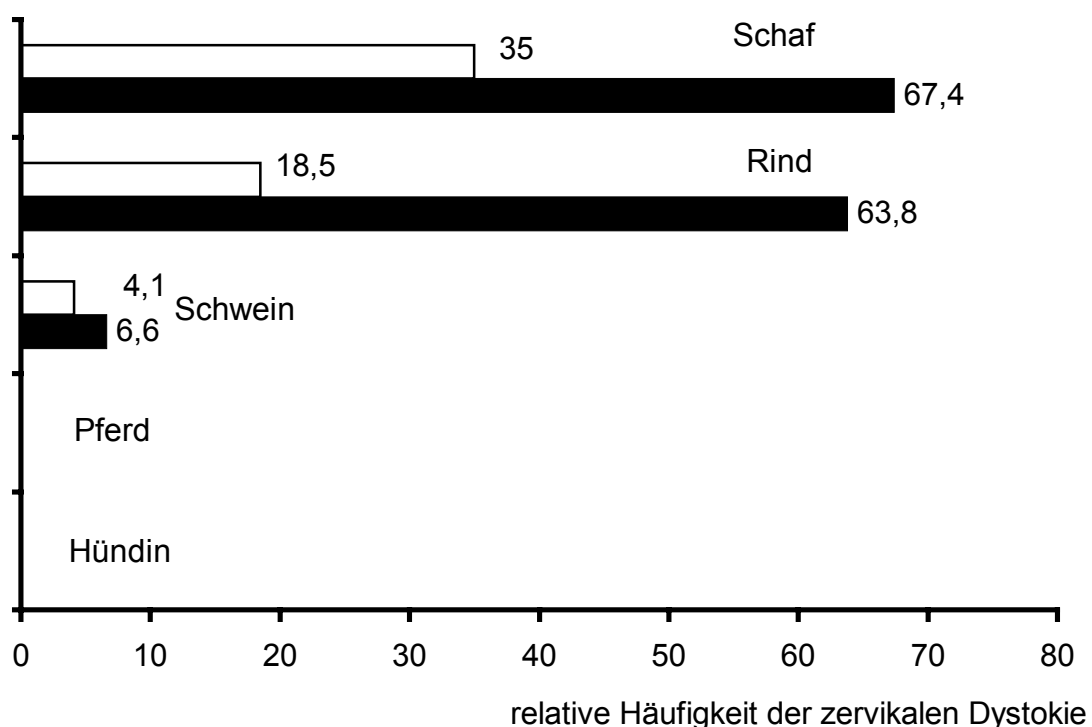


Abbildung 56: Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis beim Schaf, Rind, Schwein, Pferd und Hund bezogen auf die Dystokiefälle gesamt (□) und die maternal bedingten Schweregeburten (■).

Tabelle 39: Bedeutung der zervikal bedingten Dystokie bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten und die maternal begründeten Fälle.

Tierart	Dystokie gesamt (n)	Zervikale Dystokie bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten (n / %)	Maternal bedingte Schweregeburten (n)	Zervikale Dystokie bezogen auf die maternalen Ursachen (n / %)
Schaf	260	91 / 35	135	91 / 67,4
Rind	1280	238 / 18,5	373	238 / 63,8
Schwein	72	3 / 4,1	45	3 / 6,6
Hund	104	-	73	-
Pferd	61	-	4	-

Tabelle 40 : Bedeutung der zervikal bedingten Dystokie berechnet mit Hilfe des Chi<sup>2</sup>-Test und einer Konfigurationsfrequenzanalyse (+ bedeutet, dass die absolute Häufigkeit der zervikal bedingten Ursachen über der Erwartungshäufigkeit liegt; - bedeutet, dass die absolute Häufigkeit der zervikal bedingten Ursachen unterhalb der Erwartungshäufigkeit liegt).

Tierart	Zervikal bedingte Dystokie bezogen auf die Gesamtzahl der Schweregeburten	Zervikal bedingte Dystokie bezogen auf die maternalen Ursachen
Schaf	p < 0,001 +	p < 0,001 +
Rind	p < 0,001 +	p < 0,001 +
Schwein	p < 0,01 -	p < 0,001 -
Hund	p < 0,001 -	p < 0,001 -
Pferd	p = 0,001 -	zu geringe Anzahl, nicht berechnet

### 3.2.8 Häufigkeit zervikal bedingter Dystokien und zervikaler Involutionsstörungen

Es wurden Daten von 317 bovinen Schweregeburten und der anschließenden puerperalen Zervixinvolution erhoben. Diese teilten sich auf die obstetrischen Maßnahmen konservative Geburtshilfe (n = 123), *Sectio caesarea* (n = 112) und Fetotomie (n = 82) auf.

Insgesamt konnte 53 mal eine zervikal bedingte Dystokie diagnostiziert werden (16,7 % bezogen auf die Gesamtzahl der Geburten), wobei sich die quantitative Bedeutung auf die drei verschiedenen geburtshilflichen Maßnahmen unterschiedlich verteilte. In 35 Fällen (31,3 % bezogen auf die Gesamtzahl der Kaiserschnitte) wurde eine *Sectio caesarea* durchgeführt, achtmal erfolgte eine Fetotomie (9,7 % bezogen auf die Gesamtzahl der Fetotomien). In zehn Fällen gelang es, durch einen manuellen Auszug das Kalb zu entwickeln (8,1 % bezogen auf die Fälle, in denen das Kalb durch Auszug geboren wurde).

Die Daten zeigen, dass eine zervikal bedingte Geburtsstockung in der Regel eine Indikation für eine Schnittentbindung darstellt ( $p < 0,001$ ).

58 Kühe entwickelten eine gestörte Zervixinvolution (18,3 % bezogen auf die Gesamtzahl der Geburten) (Abbildung 58). Auch hier ist beim Vergleich der drei unterschiedlichen geburtshilflichen Verfahren ein differenziertes Bild gegeben. Während sich bei neun Kühen nach konservativer Geburtshilfe eine Involutionsstörung einstellte (7,3 % bezogen auf die Gesamtzahl der konservativen Geburtshilfen), konnte bei 21 Tieren nach *Sectio caesarea* (18,8 % bezogen auf die Gesamtzahl der Kaiserschnitte) und 28 Kühen nach Fetotomie (34,1 % bezogen auf die Gesamtzahl der Kaiserschnitte) eine derartige puerperale Störung diagnostiziert werden.

Als Folge einer Fetotomie stellen sich folglich vermehrt zervikale Involutionsstörungen ein ( $p < 0,001$ ).

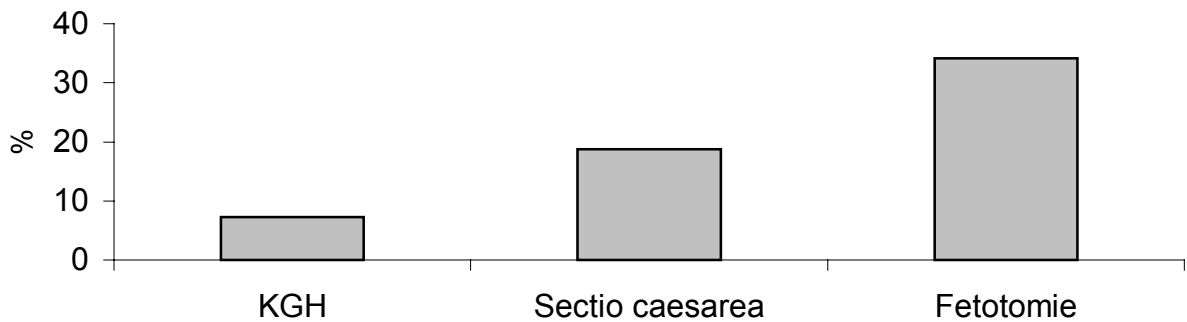


Abbildung 58: Prozentuales Auftreten von zervikalen Involutionsstörungen in Folge der obstetrischen Maßnahmen konservative Geburtshilfe (KGH), *Sectio caesarea* und Fetotomie. Die Häufigkeit nach Fetotomie unterscheidet sich hoch signifikant von der Situation nach KGH und *Sectio caesarea* ( $p < 0,001$ ).

Bei der Auswertung der Parameter Alter und Parität hinsichtlich eines Einflusses auf das Auftreten zervikaler Dystokien und zervikaler Involutionsstörungen ergab sich eine rechtsschiefe Verteilung. Aus diesem Grund wird der geometrische Mittelwert und der Streufaktor angegeben (Tabelle 41).

Kühe, die eine Enge in der Zervix aufwiesen, sind älter als die Tiere ohne zervikal begründete Schweregeburt ( $p < 0,05$ ) (Abbildung 59). Gleiche Zusammenhänge konnten für die Anzahl der Geburten nachgewiesen werden. So haben die Tiere, bei denen die Zervix das Geburtshindernis darstellte, bereits mehr Kälber geboren als nicht betroffene Kühe ( $p < 0,01$ ) (Abbildung 60).

Ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Involutionsstörungen der Zervix und dem Alter und der Parität der Tiere ließ sich nicht aufzeigen.

Tabelle 41: Alter und Parität der Kühe mit Dystokie, aufgegliedert nach Vorkommen zervikal bedingter Schweregeburten und zervikaler Involutionsstörungen, sowie Art der geburtshilflichen Maßnahme, als geometrischer Mittelwert ( $\bar{x}_g$ ), Streufaktor (SF), Minimal- (Min) und Maximalwert (Max); (KGH = konservative Geburtshilfe).

	KGH (n = 123)	<i>Sectio caesarea</i> (n = 112)	Fetotomie (n = 82)
<b>zervikale Dystokie</b> (n / %)	10 / 8,1	35 / 31,3	8 / 9,8
Alter (Jahre) $\bar{x}_g \pm SF$	3,9 $\pm$ 1,5	3,8 $\pm$ 1,5	4,5 $\pm$ 1,8
Min / Max	2 / 8	2 / 8	2 / 10
Parität $\bar{x}_g \pm SF$	2,2 $\pm$ 1,9	1,7 $\pm$ 1,7	2,4 $\pm$ 2,1
Min / Max	1 / 6	1 / 5	1 / 7
<b>keine zervikale Dystokie</b> (n / %)	115 / 91,9	77 / 68,7	74 / 90,2
Alter (Jahre) $\bar{x}_g \pm SF$	3,3 $\pm$ 1,5	3,2 $\pm$ 1,5	3,6 $\pm$ 1,6
Min / Max	2 / 11	2 / 13	2 / 10
Parität $\bar{x}_g \pm SF$	1,6 $\pm$ 1,8	1,2 $\pm$ 1,7	1,7 $\pm$ 1,8
Min / Max	1 / 7	1 / 9	1 / 7
<b>zervikale Involutionsstörung</b> (n / %)	9 / 7,3	21 / 18,8	28 / 34,1
Alter (Jahre) $\bar{x}_g \pm SF$	3,7 $\pm$ 1,4	4,0 $\pm$ 1,6	3,9 $\pm$ 1,5
Min / Max	2,5 / 6	2 / 8	2 / 7
Parität $\bar{x}_g \pm SF$	1,7 $\pm$ 1,6	2,2 $\pm$ 1,8	1,9 $\pm$ 1,7
Min / Max	1 / 4	1 / 6	1 / 4
<b>keine zervikale Involutionsstörung</b> (n / %)	114 / 92,7	93 / 83,1	54 / 65,9
Alter (Jahre) $\bar{x}_g \pm SF$	3,3 $\pm$ 1,5	3,2 $\pm$ 1,5	3,6 $\pm$ 1,7
Min / Max	2 / 11	2 / 13	2 / 10
Parität $\bar{x}_g \pm SF$	1,6 $\pm$ 1,9	1,6 $\pm$ 1,7	1,7 $\pm$ 1,9
Min / Max	1 / 7	1 / 9	1 / 7

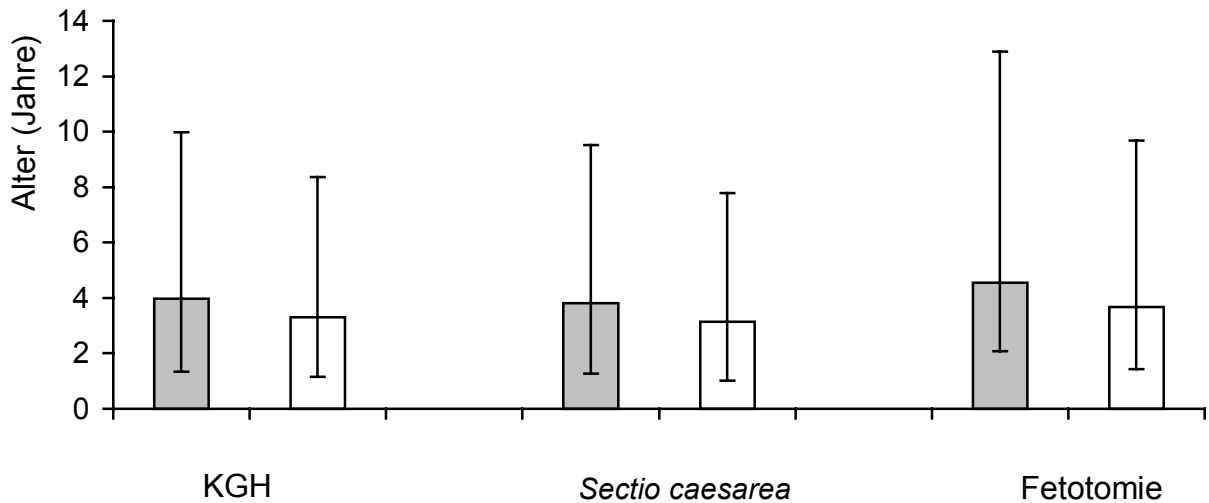


Abbildung 59: Graphische Darstellung des Alters der Kühe mit (■) und ohne zervikal verursachter Dystokie (□) als geometrischer Mittelwert und Streufaktor, aufgegliedert nach geburtshilflicher Maßnahme (KGH = konservative Geburtshilfe). Insgesamt ist der Altersunterschied zwischen den Tieren mit und ohne zervikal bedingter Dystokie statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ).

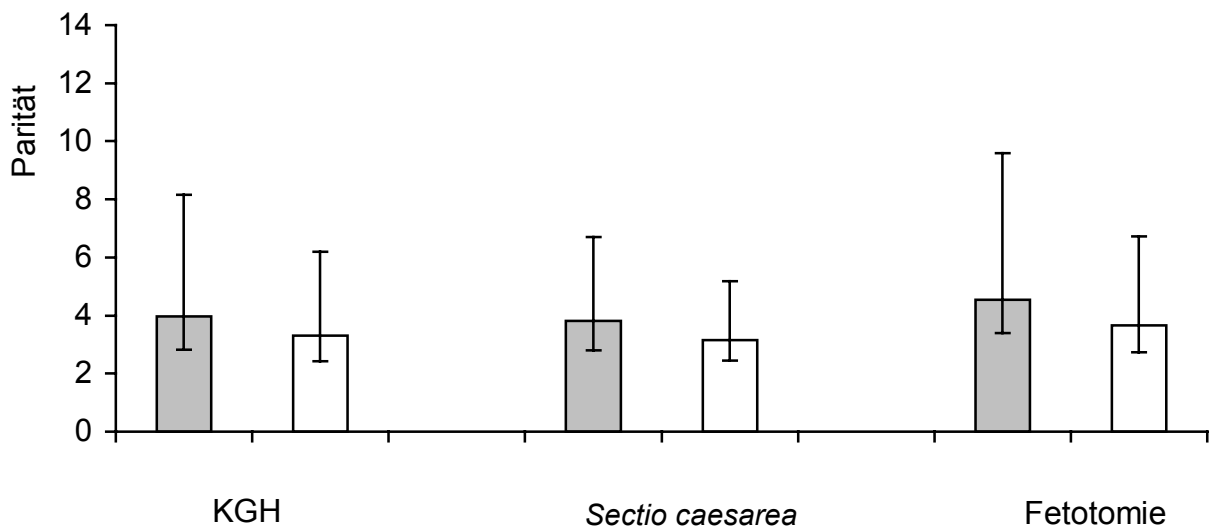


Abbildung 60: Graphische Darstellung der Parität der Kühe mit (■) und ohne zervikal begründeter Dystokie (□) als geometrischer Mittelwert und Streufaktor, aufgegliedert nach geburtshilflicher Maßnahme (KGH = konservative Geburtshilfe). Insgesamt ist der Paritätsunterschied zwischen den Tieren mit und ohne zervikal bedingter Dystokie statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ).

### 3.2.9 Zusammenhang zwischen Störungen der uterinen und zervikalen puerperalen Involution

Da ein Einfluss des geburtshilflichen Verfahrens auf die Zervixinvolution nachgewiesen werden konnte, erfolgte nur eine Auswertung der puerperalen Verläufe im Anschluss an einen Kaiserschnitt.

Von den 77 berücksichtigten Kühen zeigten 35 Tiere ein ungestörtes Puerperium (45,5 %). Sieben Kühe wiesen eine Involutionsstörung der Zervix und des Uterus auf (9 %); viermal wurde eine isolierte pathologische Rückbildung der Zervix (5,2 %) registriert. In 31 (40,3 %) Fällen war nur die Gebärmutter bei ungestörter Zervixinvolution betroffen (Abbildung 61). Statistisch ließ sich kein Zusammenhang zwischen Involutionsstörungen der Zervix und des Uterus nachweisen ( $p = 0,3$ ).

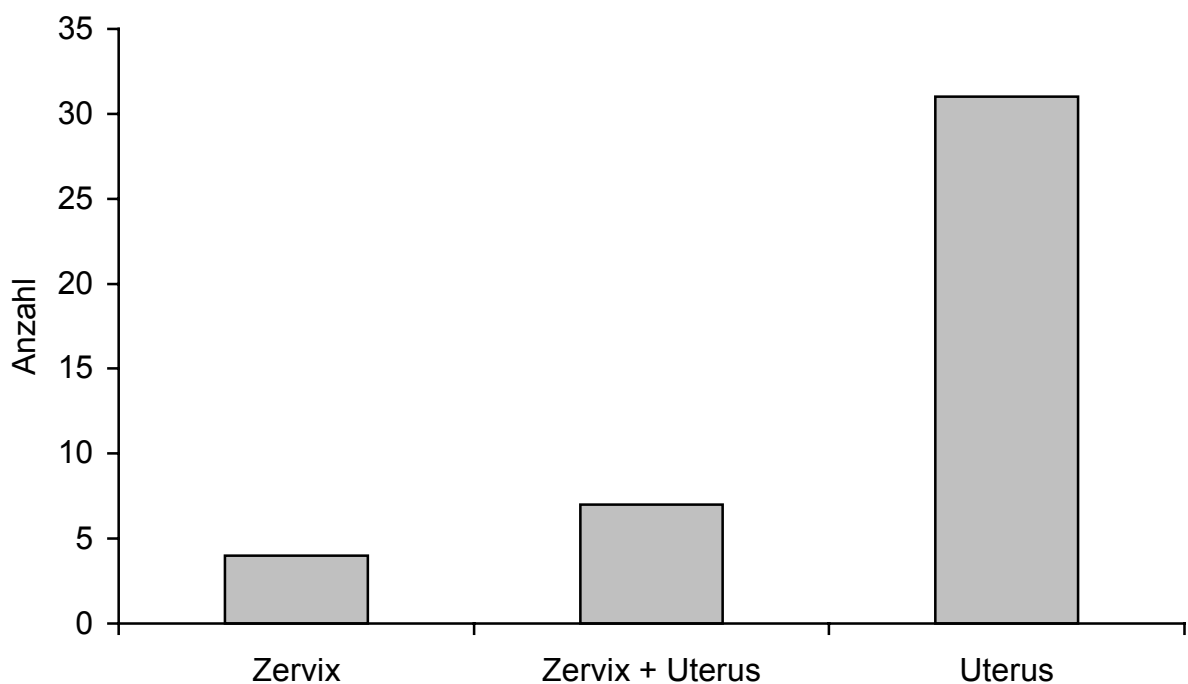


Abbildung 61: Auftreten von Zervix – und Uterusinvolutionsstörungen (isoliert oder in Kombination) bei Kühen in den ersten zehn Tage *post partum* (n = 42).

Im ersten Teil der vorgelegten Studie wurde mit unterschiedlichen Techniken die Involution der Vagina und Zervix beim Rind während der ersten zehn Tage *post partum* vor dem Hintergrund endokrinologischer Veränderungen näher charakterisiert. Hierzu erfolgte eine Erfassung der Reduktion des *Canalis cervicalis* mit Hilfe eines intrazervikal eingeführten Messgerätes und der sonographischen Darstellung der Reorganisation der Zervikalfalten. Weiterhin erfolgten histologische und molekularbiologische Untersuchungen von zervikalem und vaginalem Gewebe, welches direkt nach Expulsion des Kalbes, sowie am fünften und zehnten Tag *post partum* gewonnen wurde. Mit Hilfe von selektiven Färbetechniken fand die Darstellung der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen im Vergleich zur Situation im Interöstrus statt. Die immunhistologischen Anfärbungen des Progesteron- und Östrogenrezeptor  $\alpha$  wurden durch Untersuchungen zur mRNA-Expression des Östrogenrezeptor  $\alpha$  im vaginalen Gewebe während des Frühpuerperiums komplementiert. Eine Sequenzierung des PCR-Amplifikates diente zur Überprüfung der Ergebnisse der RT-PCR.

Im zweiten Teil der Arbeit erfolgte zunächst mittels einer retrospektiven Datenauswertung von Schweregeburten der Tierarten Pferd, Schwein, Schaf, Hund und Rind eine Bewertung der quantitativen Bedeutung der Zervix als Geburtsstörung im Interspeziesvergleich. Es schlossen sich klinische Verlaufsuntersuchungen zum Geburtsablauf und der anschließenden puerperalen Phase bis zum zehnten Tag *post partum* nach Dystokien beim Rind an, um die Einflussfaktoren auf das Auftreten von zervikal bedingten Schweregeburten und zervikalen Involutionstörungen zu analysieren. Abschließend erfolgte eine vergleichende Untersuchung der uterinen und zervikalen Involution bis zum Ende des Frühpuerperiums bei Kühen nach  *Sectio caesarea* zur Beantwortung der Frage, ob sich Störungen der Rückbildung dieser beiden Abschnitte des Genitaltraktes unabhängig voneinander einstellen können.

## 4.1 Physiologische Involution der Zervix und Vagina beim Rind

### 4.1.1 Methodische Anmerkungen

Da in der veterinärmedizinischen Literatur metrische Angaben der frühen puerperalen Zervixinvolution fehlen, war es notwendig, ein Verfahren zu entwickeln, mit dem möglichst genaue Messungen der Reduktion des *Canalis cervicalis* durchgeführt werden können, um die histologischen und molekularbiologischen Befunde der entsprechenden makroskopischen Situation zuordnen zu können. Die bisherigen Beschreibungen der puerperalen Zervixinvolution wurden anhand der Passierbarkeit von Fingern der menschlichen Hand gegeben (Benesch, 1952; Gloor, 1973; Baier und Berchtold, 1984a; Busch und Schulz, 1993; Grunert, 1993b; Jackson, 1995; Noakes, 2001b). Diese Technik liefert jedoch nur grobe Werte, da sie in hohem Masse von der Grösse der untersuchenden Hand abhängt.

Mit Hilfe einer intrazervikal eingeführten Zervixfaßzange nach Albrechtsen liessen sich in den eigenen Studien wesentlich exaktere Daten erheben. Dazu musste jedoch ein Messinstrument in die Zange integriert werden, um den Kraftaufwand zur Zangenöffnung genau festzulegen. Durch diese Modifikation konnte für die Wiederholbarkeit zweier Messungen eine Standardabweichung von 0,87 cm erreicht werden. Die eingesetzte Messtechnik kam in vorherigen Studien bereits erfolgreich bei der Aufzeichnung von Potentiogrammen zur Quantifizierung der Zugkräfte mechanischer Geburtshelfer bei Rindergeburten zum Einsatz (Padberg, 1993; Wehrend et al., 2002a).

Weiterhin war es notwendig, eine möglichst einheitliche Probandengruppe bereits vor dem Beobachtungszeitraum an den Untersucher und das Instrument zu gewöhnen. Auf diese Weise gelang es, Abwehrbewegungen der Kühe als Störgrößen für die Messung erheblich zu reduzieren. Trotzdem bestand noch ein potenzieller unerwünschter Einfluss durch eine unterschiedliche intrazervikalen Plazierung des Instrumentes von Untersuchungszeitpunkt zu Untersuchungszeitpunkt. Diese Gefahr bestand vor allem bis zur Reorganisation der *Plicae cervicales* am dritten Tag *post partum*, da exakte Leitstrukturen fehlten. Die eingesetzte Methodik ist jedoch gegenüber der herkömmlichen Deskription mittels Fingerpassage als überlegen zu bewerten. Da in der Literatur keine metrischen Messungen der puerperalen Zervixinvolution vorliegen, liefern die eigenen Daten die bisher genaueste

Beschreibung dieses Vorganges. Die methodischen Schwierigkeiten einer exakten Zervimetrie werden auch von den Arbeitsgruppen beschrieben, welche sich mit der antepartalen Öffnung dieses Organes beim Rindes befassen (Gregory, 1977; Breeveld-Dwarkasing et al. 2002) und scheinen daher typisch für diesen biologischen Vorgang zu sein.

Die für die vorgestellten Untersuchungen entwickelte Messtechnik liess sich jedoch nicht zur metrischen Erfassung der Involution des *Cavum vaginae* einsetzen. In diesem Bereich des Geburtsweges konnte aufgrund der Elastizität des Gewebes, starker regionaler Unterschiede und Abwehrbewegungen der Kühe keine Wiederholbarkeit zweier Messungen mit einer Standardabweichung unter 2,5 cm durchgeführt werden.

Da neben einer generellen Reduktion auch die Formierung der Zervikalfalten im Frühpuerperium für den Involutionsprozess charakteristisch ist, wurden die Studien durch sonographische Erhebungen ergänzt. Dieses Verfahren erlaubt es zudem, neben der Dehnungsfähigkeit des *Canalis cervicalis*, die Datenerhebung um die Darstellung eines eigenständigen Lumens zu erweitern.

Nach Charakterisierung der makroskopischen Involution wurden weitergehende Untersuchungen zur genaueren Beschreibung der Organveränderungen durchgeführt.

Zur histologischen und molekularbiologischen Untersuchung standen Gewebeproben von Tieren zur Verfügung, die wegen unterschiedlicher extragenitaler Erkrankungen geschlachtet oder getötet wurden. Aufgrund der klinischen Befunderhebung vor Probenentnahme und den hämatologischen und endokrinologischen Resultaten (siehe Abschnitt 3.2.3) wird ein physiologischer Zustand der Zervix und Vagina für den entsprechenden Zeitpunkt des Puerperiums angenommen. Zur Interpretation der von diesen Tieren stammenden Blutproben standen Referenzwerte zur Verfügung, die an den gleichen Rassen mit den gleichen Methoden in der Klinik erarbeitet worden waren.

Von den frisch toten Tieren wurden nur Biopate und keine grösseren Organproben entnommen, um anhand der histologischen Ergebnisse zu beurteilen, ob sich diese Entnahmetechnik für zukünftige Untersuchungen an lebenden Kühen eignet. Da in allen Präparaten die typische Gewebearchitektur erhalten war und keine Perforation

der Organwand festgestellt werden konnte, ist die Probengrösse als geeignet für derartige Studien zu beurteilen. Kritisch ist jedoch zu bemerken, dass der erfasste Anteil der *Tunica muscularis* in den Zervixproben im Verhältnis zum Bindegewebe von Tier zu Tier trotz Entnahme zum gleichen Untersuchungszeitpunkt stark variierte. Dies war in der Vagina nicht der Fall. Aus dieser Tatsache entwickelten sich methodische Schwierigkeiten bei der molekularbiologischen Untersuchung der zervikalen Proben, auf die in einem eigenen Abschnitt näher eingegangen wird.

Die Darstellung der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen erfolgte durch selektive Färbetechniken, die beim Rind für diese Zellpopulationen etabliert sind (Galeotti et al., 1997; Reibiger und Spanel-Borowski, 2000; Özen et al., 2002). Zur Kontrolle der Färbeprotokolle wurden Proben an das Institut für Anatomie der Universität Leipzig geschickt und angefärbt. Die eigenen Ergebnisse liessen sich ohne Probleme verifizieren.

Zur Auswertung der immunhistologischen Ergebnisse fanden zwei unterschiedliche Verfahren Anwendung. Nach Auszählung der Zellen mit positiver Färbereaktion folgte die Berechnung des immunreaktiven Scores (IRS). Dieser Parameter berücksichtigt nicht nur die absolute Anzahl der positiven Zellen, sondern auch die Färbeintensität und wird deshalb als aussagekräftiger als die Angabe der absoluten oder relativen rezeptorpositiven Zellzahl allein angesehen (Remmle und Stegner, 1987; Özgen et al., 1997; Aupperle et al., 2000). Am eigenen Probenmaterial erschien die Berechnung des IRS zur Absicherung der Ergebnisse nach Auszählung der rezeptorpositiven Zellen pro 0,5 mm<sup>2</sup> auch deshalb sinnvoll, weil durch das peripartale Ödem die Anzahl der Zellen pro Flächeneinheit starken Schwankungen unterliegt. Die Berechtigung dieses Vorgehens zeigt sich bei der Auswertung der Expression des Östrogenrezeptors  $\alpha$  im vaginalen Gewebe. Die absolute Anzahl der Zellen pro Flächeneinheit, die diesen Steroidhormonrezeptor exprimiert, nimmt vom Zeitpunkt der Geburt bis zum zehnten Tag *post partum* in der *Tunica muscularis* ab. Diese Veränderungen sind statistisch nicht signifikant. Die Auswertung der temporären Veränderungen des IRS für den Östrogenrezeptor im gleichen Gewebe zeigt dagegen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Situation direkt nach Expulsion des Kalbes und der immunhistologischen Reaktion im Puerperium. Das Ergebnis liess sich wiederum durch den signifikanten Abfall der

mRNA-Synthese für den Östrogenrezeptor durch RT-PCR bestätigen. Dieses Beispiel zeigt, in welchem hohem Ausmass das Ergebnis eines Experimentes durch die Methode der Auswertung beeinflusst wird, insbesondere, wenn im Bereich der Immunhistologie quantitative Unterschiede erfasst werden sollen. Da in der Zervix aufgrund methodischer Schwierigkeiten keine Ergebnisse zur Expression der mRNA des Östrogenrezeptors  $\alpha$  erhoben werden konnten, werden nur in dem Fall die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen als relevant eingestuft, in dem durch Anwendung beider immunhistologischen Auswertungsverfahren statistisch signifikante Veränderungen nachgewiesen werden können. Dies trifft für die temporären Veränderungen der Östrogenrezeptorexpression zu - sowohl in der Gesamtzahl der positiven Zellen, als auch im IRS konnten statistisch signifikante Veränderungen gefunden werden.

Die Verifizierung der immunhistologischen Resultate zum Nachweis des Östrogenrezeptors in der Vagina geschah durch RT-PCR zur Expression des Östrogenrezeptor  $\alpha$ . Dieser Rezeptortyp wurde ausgewählt, da auch die in der Immunhistologie verwendeten monoklonalen Antikörper gegen den Östrogenrezeptor  $\alpha$  gerichtet sind; desweiteren war dieser Steroidhormonrezeptor deshalb von besonderem Interesse, da eine Bedeutung der Östrogene für die peripartalen Veränderungen des Vaginozervikalkanals angenommen wird (Silva, 1979; Döcke, 1994). In diesem Zusammenhang wurde sich bei der experimentellen Konzeption der Arbeit auch für die Bestimmung des Östrogenderivates Östradiol-17 $\beta$  entschieden, da dieses Molekül nach den Angaben von Bamberg (1994) im Vergleich zu Estron, Östradiol-17 $\alpha$  und Estradiol die höchste biologische Wirksamkeit besitzt. Weiterhin deuten Untersuchungen von Moselmann und Mitarbeitern (1996) darauf hin, dass Östradiol-17 $\beta$  eine höhere biologische Wirkung am Östrogenrezeptor  $\alpha$  als am Östrogenrezeptor  $\beta$  verursacht. Die Kombination von Bestimmung der Östradiol-17 $\beta$ -Konzentration, der Verwendung eines monoklonalen Antikörpers gegen den Östrogenrezeptor  $\alpha$  und die Analyse der Transkription des gleichen Rezeptortypes erschien daher sinnvoll, um Hinweise über den potenziellen östrogenen Einfluss auf die Involution des Vaginozervikalkanals zu erhalten.

Bei der Interpretation der Ergebnisse muss jedoch bedacht werden, dass keine Aussagen zum Vorkommen anderer Östrogenrezeptortypen oder einer nicht genomischen Steroidhormonwirkung gemacht werden können (Muramatsu und

Inoue, 2000). Derartige zukünftige Untersuchungen müssen die in der eigenen Arbeit gewonnenen Ergebnisse ergänzen.

Weiterhin ergaben sich im Rahmen von Vorversuchen bei den molekularbiologischen Studien zur Expression des Östrogenrezeptor  $\alpha$  erhebliche Differenzen zwischen den Zervixproben zum gleichen Untersuchungszeitpunkt. Bei der Beurteilung der histologischen Präparate konnte festgestellt werden, dass der Anteil der *Tunica muscularis* in den Zervixproben von Tier zu Tier erheblich schwankt, was bei den vaginalen Präparationen nicht gegeben war. Die Ursache liegt vermutlich in der mehr disseminierten Verteilung der Muskelfasern und den starken regionalen Unterschieden der Ausprägung dieses Kompartimentes in der Zervix (Preuss, 1954; Breeveld-Dwarkasing et al., 2000). Während diese Variabilität bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen mit Hilfe des Bildverarbeitungsprogrammes ausgeglichen werden konnte, da bei der visuellen Auswertung eine direkte Zuordnung zur Gewebeart möglich war, liess sich dieser Fehler nicht für die molekularbiologischen Studien korrigieren. Da in der *Tunica muscularis* die meisten östrogenrezeptorexprimierenden Zellen vorliegen, wie sich aus den immunhistologischen Untersuchungen ergab, wirkt sich die Inhomogenität der Proben stark auf die Ergebnisse der RT-PCR aus und erklärt die mangelnde Reproduzierbarkeit der molekularbiologischen Ergebnisse. Die Frage ist, ob sich bei getrennter Aufarbeitung der Muskelschicht und der *Lamina propria mucosae* vor der RNA-Isolation, ein den immunhistologischen Resultaten entsprechendes Resultat erzielen lässt. Dieses Folgeexperiment konnte bisher aufgrund des Mangels an geeignetem Gewebe nicht durchgeführt werden.

Da zum Zeitpunkt der Versuche die Sequenz des bovinen Östrogenrezeptor  $\alpha$  nicht publiziert war, wurde zur Absicherung der Ergebnisse das Amplifikat sequenziert. Die hohe Übereinstimmung der Nucleotidabfolge mit den bekannten Teilsequenzen anderer Haussäugetieren wird als Absicherung der Ergebnisse der RT-PCR interpretiert.

#### 4.1.2 Puerperale Involution der Zervix und Vagina

Die maximale Öffnung der Zervix nach Expulsion des Kalbes ist mit den Daten, welche von Gregory (1977) und Breeveld-Dwarkasing et al. (2002) in der Geburt gemessen wurden, nur bedingt vergleichbar. Gregory (1977) brach die metrische Aufzeichnung bei sieben cm ab, da das intrazervikale Messinstrument aus technischen Gründen entfernt werden musste. Bis zur endgültigen Austreibung des Kalbes erfolgten nur manuelle Kontrollen mit einer anschließenden Schätzung des Öffnungsgrades. Auch die sonographische Zervimetrie von Breeveld-Dwarkasing et al. (2002) fand vor maximaler Öffnung einen Abbruch. Für die in der eigenen Studie registrierte durchschnittliche maximale Dilatation unmittelbar *post partum* von  $26,9 \pm 1,3$  cm lassen sich daher in der Literatur keine Vergleichswerte finden. Für die folgenden Tage lagen bislang ebenfalls keine metrischen Angaben vor. Selbst in den aktuellen, etablierten deutschsprachigen und amerikanischen veterinärmedizinischen Lehrbüchern der Geburtshilfe (Busch und Schulz, 1993; Grunert, 1993b; Jackson, 1995, Noakes, 2001b), finden sich nur punktuelle Angaben zur Passierbarkeit des *Canalis cervicales* im Puerperium mittels Fingern der menschlichen Hand. Einzig Gier und Marion (1968) beschreiben an Organpräparationen den Gesamtdurchmesser der Zervix mit 15 cm am zweiten und 9 – 11 cm am zehnten Tag *post partum*. Diese Befunde erlauben jedoch keine Aussage zum postpartalen Öffnungsgrad *in vivo*, dessen zeitliche Veränderungen in der eigenen Untersuchung erhoben wurde.

In der vorliegenden Studie lässt sich bis zum siebten Tag nach der Geburt ein fortschreitender Schluss der Zervix darstellen, wobei dieser bis zum dritten Tag ohne eine Reorganisation der *Plicae cervicales* abläuft. Die Formierung der zervikalen Ringfalten findet, wie von Benesch (1952) beschrieben, von kranial beginnend nach kaudal statt.

Der zervikale Involutionvorgang schreitet nicht gleichmäßig voran. Es lassen sich Abschnitte mit unterschiedlicher Reduktionsgeschwindigkeit differenzieren. In der ersten Phase der progressiven Involution kann eine durchschnittliche Halbwertszeit von  $2,0 \pm 1,6$  Stunden errechnet werden, in der Phase der langsamen Reduktion ergibt sich eine Halbwertszeit von durchschnittlich  $85,8 \pm 31,5$  Stunden. Dieser

Verlauf des makroskopischen Involutionvorganges scheint allgemein charakteristisch für den Genitaltrakt nach Expulsion der Früchte zu sein. Einer Phase der progressiven Verkleinerung folgt eine Reduktion der Involutionsgeschwindigkeit. So gelang es Hauser und Bostedt (2002) die ovine und Okano und Tomizuka (1987) die bovine uterine Regression mit Hilfe einer einfachen Exponentialfunktion zu beschreiben. Dieses biologische Phänomen garantiert eine weitgehende Entleerung des *Cavum uteri* im Anschluss an die Expulsion der Nachkommen. Aufgrund der starken temporären Veränderung der Reduktionsgeschwindigkeit im Bereich des *Canalis cervicalis* reicht dieses mathematische Modell für die eigenen Untersuchungen jedoch nicht aus und gibt die biologische Wirklichkeit nur unzureichend wieder. Eine Deskription des Involutionvorganges als Summe von zwei Exponentialfunktionen mit unterschiedlichen Steigungskoeffizienten ergibt dagegen ein Modell, welches die beobachtete Situation treffender beschreibt. Zervix und Uterus bilden zwar eine funktionelle Einheit, scheinen jedoch wie in der Phase der Geburt – der Muttermund relaxiert, während die Gebärmutter maximal kontrahiert - auch im frühen Puerperium unterschiedlichen Steuerungsmechanismen zu unterliegen. In diesem Zusammenhang wären zukünftige vergleichende Untersuchungen zur Morphologie und Rezeptorausstattung von Myometrium und der zervikalen *Tunica muscularis* beim Rind wünschenswert.

Der progressive Schluss des *Canalis cervicalis* im Anschluss an die Geburt ist außer für das Rind auch für die anderen Haustierarten beschrieben worden (Schaf: Bostedt, 1996b; Hauser, 2000; Hund: Wehrend et al., 1999; Schwein: Eike, 1984). Die rasche Reorganisation, verbunden mit einer schnellen Verminderung des Organdurchmessers, gilt als Schutz vor aufsteigenden Infektionen (Grunert, 1993a). Zur weiteren Elimination des uterinen Inhaltes muss jedoch in der Zeit der postpartalen Reorganisation und Involution der Gebärmutter ein geringer Öffnungsgrad erhalten bleiben. Hier liegt ein Unterschied in der Funktion von Muttermund und Uterus im Frühpuerperium. Die Zervix erfüllt im frühen Puerperium folglich die Doppelfunktion eines Schutzes des *Cavum uteri* und dessen Drainage. Dies erscheint insbesondere beim Rind wichtig, da bei dieser Tierart ein exsudatives Puerperium vorliegt, während beim Schaf, Schwein und beim Pferd zum größten Teil resorptive Vorgänge gegeben sind (Bostedt, 1987).

Der antepartalen Zervixöffnung liegen Ab- und Umbauvorgänge des Bindegewebes zugrunde, die eine aktive, endgültige Weitung des Organes durch das Vorschieben

des Kalbes in diesen Teil des Geburtsweges in der Austreibungsphase erlauben (Kaidi et al., 1995; Breeveld-Dwarkasing, 2002). Diese Veränderungen finden über einen längeren Zeitraum während der letzten Phase der Gravidität statt. Es ist daher nicht anzunehmen, dass eine Reorganisation der *Lamina propria mucosae* für den schnellen Schluss in den ersten Stunden verantwortlich ist.

Vielmehr kann davon ausgegangen werden, dass ein Teil der Lumenreduktion in den elastischen Eigenschaften der Zervix nach maximaler passiver Dehnung durch das Kalb in Verbindung mit dem Zug des kontrahierenden Uterus am *Orificium internum* bei gleichzeitiger Fixation durch die Vagina begründet ist. Die morphologische Grundlage dieser Eigenschaft wird in den elastischen Fasern der Zervix gesehen (Leppert et al., 1986; Priedkalns und Leiser, 1999).

Das elastische Fasernetzwerk besitzt im Gegensatz zu den kollagenen Strukturen die Fähigkeit einer 150 % Dehnung (Harkness, 1964; Liebich, 1990b). Bisher fehlen jedoch Untersuchungen zu diesem Aspekt der bovinen Zervix im peripartalen Zeitraum, so dass nur die am Primaten gewonnenen Erkenntnisse übertragen werden können (Leppert et al., 1982; Leppert et al., 1986; Leppert, 1995). Der unkritische Homologieschluss zwischen verschiedenen Spezies ist jedoch als kritisch zu bewerten. So konnte Schuh (1993) erhebliche Unterschiede in der zervikalen Gewebsarchitektur von Katze, Hund, Schaf, Pferd und Rind nachweisen. Einzig bei Röber (1910) finden sich Informationen zum elastischen Fasernetz in der bovinen Zervix, ohne jedoch den peripartalen Zeitraum zu berücksichtigen.

Rotten und Mitarbeiter (1988) untersuchten die Evolution der elastischen Fasern in der humanen Zervix während der Gravidität, der Geburt und im Puerperium. Dieser Teil der Interzellulärsubstanz erfährt wie die Kollagene einen antepartalen Abbau und zeigt erst einige Wochen nach dem Partus wieder seinen hohen Organisationsgrad. Eine wesentliche Beteiligung am Verschluss des Organes direkt nach der Geburt wird daher ausgeschlossen.

Die passive Rückstellung hat sicherlich einen Anteil an der initialen Reduktion; eine signifikante Beteiligung der glatten Muskulatur, die in der Zervix, im Gegensatz zur Vagina stärker ausgeprägt ist, erscheint wahrscheinlicher. Auf die Bedeutung der *Tunica muscularis* für die frühe Reduktion weist auch die Beobachtung von Grunert (1993a) hin, dass bereits nach vier Stunden eine Verengung des Zervikalkanals im kranialen Bereich besteht. In dieser Lokalisation zeigt die *Tunica muscularis* eine

deutlich stärkere Ausdehnung als in der Nähe der Vagina (Breeveld-Dwarkasing et al. 2000).

Diese These widerspricht der heutigen Auffassung, dass die Bindegewebskomponente für den Verschlussmechanismus verantwortlich ist und die Muskulatur nur unterstützende Funktion besitzt (Danforth, 1983; Bryman et al., 1985). Diese Meinung wird aus der geringeren aktiven Kontraktionskraft im Vergleich zur Rigidität der kollagenen Fasern abgeleitet (Peterson et al., 1991). Der Widerspruch besteht jedoch nur scheinbar. Die Vorstellung der hauptsächlichlichen Bedeutung des Bindegewebes für den zervikalen Schluss wäre aufgrund der vorliegenden Befunde allerdings dahingehend zu erweitern, dass in der Phase nach der Geburt, wenn die Struktur des Bindegewebes und damit dessen biomechanischen Eigenschaften noch durch die antepartalen Umbauvorgänge gekennzeichnet ist, diese Funktion von der Muskulatur übernommen wird. Später geht sie - mit zunehmender Reorganisation - wieder auf das kollagene System über. Es ist also wahrscheinlich, dass für die erste Phase der Involution die alte Vorstellung der sphinkterartigen Bedeutung der Muskelfasern zutrifft (Danforth, 1947; Grau und Walter, 1958). Einen indirekten Hinweis zur Funktion der glatten Muskulatur ergibt sich auch aus den Untersuchungen von Bostedt und Mitarbeitern (1979) an Kühen nach Eutokie und Dystokie. Sie vermuteten damals, dass Schädigungen der Myofibrillen zervikale Involutionsstörungen bedingen können. Diese Aussage deckt sich mit dem eigenen Ergebnissen insofern, dass vermehrt Rückbildungsstörungen der Zervix nach Fetotomien auftreten, einer Operationstechnik, die mit einer massiven mechanischen Belastung des zervikalen Gewebes verbunden ist.

Sollte sich diese These zur Funktion des muskulären Systems für den frühen Zervixschluß durch weitere Studien bestätigen, böte sich weitergedacht, die Chance, pharmakologisch diese Körperfunktion zu beeinflussen. Während erfolgreiche Untersuchungen zum Einsatz von Spasmolytika zur Behandlung mangelhafter Öffnungszustände im Vaginozervikalkanal in der Geburt vorliegen, fehlen bisher Berichte zur Verwendung dieser Substanzgruppen zur Weitung der Zervix im Frühpuerperium (Barth et al., 1982). Auf der Grundlage der ermittelten Daten und des mathematischen Modelles zur Zervixinvolution beim Rind ist eine objektive klinische Prüfung derartiger Pharmaka möglich. Eine schonende, temporäre Zervixöffnung würde die therapeutischen Möglichkeiten am puerperalen Rinderuterus

erheblich erweitern. Bisher bestehen auf diesem Gebiet aufgrund des schnellen Zervixschlusses Grenzen (Bostedt, 1993; Glock, 1996).

Ab dem siebten bis zum zehnten Tag öffnet sich der Zervikalkanal erneut von  $2,0 \pm 0,5$  cm auf  $5,6 \pm 0,6$  cm. Diese Veränderung ist statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Obwohl diese puerperale Öffnungsphase aus dem klinischen Alltag seit langem bekannt ist, finden sich bisher keine Untersuchungen über diesen Aspekt in der Literatur. Gloor (1973), der die Zervixinvolution von 36 Kühen nach Spontangeburt mit Hilfe der Passierbarkeit des *Canalis cervicales* für seine Finger untersuchte, beschreibt keine erneute puerperale Öffnung.

Da die signifikante Öffnung bei allen zehn Kühen nachzuweisen ist, kann davon ausgegangen werden, dass diese zum physiologischen Verlauf des Puerperiums gehört. Der Auffassung, dass die postpartale Zervixöffnung nur bei Kühen auftritt, die eine Nachgeburtshaltung zeigen, muss widersprochen werden.

Die erneute puerperale Öffnung der Zervix am Ende des Frühpuerperiums ist bisher bei keiner anderen Tierart beschrieben worden. Es scheint sich im Bereich der Haussäugetiere um eine speziesspezifische Besonderheit des Rindes zu handeln.

Auffällig ist die zeitliche Übereinstimmung der zervikalen Öffnung mit den intrauterinen, puerperalen Um- und Abbauvorgängen insbesondere im Bereich der Karunkeln (Schulz und Grunert, 1959; Gier und Marion, 1968). Während am fünften Tag *post partum* noch ein Zusammenhang zwischen nekrotischem Oberflächenbelag und maternalen Gewebe nachzuweisen ist, erfolgt in den nächsten Tagen eine massive Demarkation und Abstossung von Detritus in das *Cavum uteri*, was zytologisch mit einer starken Makrophagenaktivität assoziiert ist. Diese Vorgänge sind im Falle einer *Retentio secundinarum* meist verlangsamt, so dass es erst gegen Ende des Frühpuerperiums zu einer Lösung der fetalen Plazentomanteile kommt.

Hypothetisch kann vermutet werden, dass die erneute Öffnung der Zervikalkanales eine Anpassung an den exsudativen Charakter des Puerperiums beim Rind darstellt (Bostedt, 1987). Sie gewährleistet eine Abflussmöglichkeit über einen längeren Zeitraum des Puerperiums als bei den anderen Haussäugetieren.

Noch ist unklar, welche Steuerungsmechanismen der erneuten Zervixöffnung zugrunde liegen. Während die antepartale Reifung mit steigenden Östrogenkonzentrationen in Verbindung zubringen ist (Silva, 1979; Döcke, 1994; Breeveld-Dwarkasing, 2002), liess sich zwischen dem siebten und zehnten Tag *post*

*partum* kein peripherer Östradiol-17 $\beta$ -Anstieg nachweisen. Ab dem sechsten Tag kommt es nur noch zu geringgradigen Veränderungen der Hormonwerte zwischen 2,9 – 3,6 pg/ml, die innerhalb des methodisch bedingten Schwankungsbereiches liegen. Da sich die eigenen Untersuchungen auf Messungen aus dem peripheren venösen Blutplasma stützen, kann eine ovariell-endokrine Aktivität jedoch nicht endgültig ausgeschlossen werden, wie sie von verschiedenen Autoren durch Dokumentation steigender peripherer Progesteronplasmakonzentrationen bei einem Teil der Kühe bereits im klinischen Puerperium dargestellt ist (Bostedt et al. 1985; Schneebeli und Döbeli, 1987; Reist et al., 2000). Erste Ovulationen nach der Geburt werden von anderen Autoren ebenfalls vor dem zwanzigsten Tag *post partum* postuliert (Frederiksson et al., 1985; Kindahl et al., 1999). Eine lokale Erhöhung der Östrogenkonzentrationen, assoziiert mit dem beginnenden Follikelwachstum vor dem zehnten Tag *post partum*, erscheint trotz der unveränderten peripheren Messwerte wahrscheinlich.

Weiterhin muss bedacht werden, dass mit der Messung des Östradiol-17 $\beta$  nur ein Östrogen erfasst wurde. Andere Steroidmoleküle könnten ebenfalls direkt oder nach lokaler Metabolisierung an der puerperalen Öffnung der Zervix beteiligt sein. Für diese Hypothese einer Beteiligung von Östrogenen an der erneuten Öffnungsphase spricht der Anstieg östrogenrezeptor-exprimierender Zellen im zervikalen Gewebe vom fünften bis zum zehnten Tag *post partum* und die zunehmende Infiltration mit eosinophilen Granulozyten, die laut Angaben in der Literatur als Östrogenwirkung beschrieben ist (Ramos et al., 2000).

Die puerperalen Veränderungen der Steroidhormonkonzentrationen sind mit den Beschreibungen in der Literatur konkordant (Silva, 1979; Bekana et al., 1996; Birgel et al., 1996, Hoffmann et al., 1997). Dies kann als Beleg dafür gelten, dass der Verlauf des Puerperiums bei den Probanden unter hormonellen Aspekten als physiologisch zu bewerten ist. Nach einem steilen Abfall der Östrogenwerte während der ersten zwölf Stunden *post partum* folgt eine protrahierte Reduktion bis zum sechsten Tag. Danach verändern sich die Konzentrationen nicht mehr. Trotz des einheitlichen Verlaufsmusters der Hormonprofile bei den verschiedenen Tieren zeigt sich eine erhebliche individuelle Variabilität der Messwerte, wie sie auch von anderen Autoren bei endokrinologischen Untersuchungen erfasst wurden (Silva, 1979; Pinho, 1995). Dies drückt sich in den teilweise sehr großen Streufaktoren aus.

Der temporäre Abfall der Plasmakonzentrationen ist bei den Progesteronwerten nicht so deutlich ausgeprägt. Dies erklärt sich daraus, dass aufgrund der antepartalen Luteolyse bereits vor dem ersten Messzeitpunkt niedrige Werte erreicht sind. Die Östrogensynthesequelle fällt dagegen erst mit dem Abgang der Nachgeburt weg.

Bei der Interpretation der Progesteronkonzentrationen fällt auf, dass zum Zeitpunkt der Geburt noch ein geometrischer Mittelwert von 1,5 ng/ml Plasma nachzuweisen ist. Auch Klauke (1991) konnte beim Rind zu diesem Zeitpunkt einen geometrischen Mittelwert von 1,0 ng/ml Plasma errechnen. In der Literatur findet sich dagegen die Angabe, dass der periphere Progesteronwert unter 1 ng/ml Plasma abfällt (Hoffmann et al., 1973; Hoffmann et al., 1976). Bei einer genaueren Betrachtung der individuellen Progesteronwerte der zehn untersuchten Einzeltiere zeigt sich, dass bei keiner Kuh ein Wert unter 1 ng/ml Plasma nachzuweisen war. Die Konzentrationen bewegen sich zwischen 1 und 2,3 ng/ml Plasma. Diese Differenz zu den Angaben in der Literatur könnte methodisch bedingt sein. Trotzdem sollte zukünftig an einem grösseren Kollektiv überprüft werden, ob der intrapartale „Grenzwert“ von < 1 ng/ml Plasma Progesteronkonzentration bei der Kuh noch zutrifft.

Der Abfall der Hormonkonzentrationen zeigt eine hoch signifikante Koinzidenz zur Reduktion des Zervikalkanaldurchmessers, wobei sich ein höherer Kreuzkorrelationskoeffizient zwischen dem Abfall der Östrogenwerte zur Involution errechnen liess als zur Verminderung der Progesteronkonzentrationen. Dabei bleibt die Frage offen, ob diese Beobachtung kausal zu bewerten ist. Aus diesem Grund wurde die Expression des Östrogen- und Progesteronrezeptors in der Vagina und Zervix immunhistologisch untersucht. Es ist jedoch zu bedenken, dass nicht nur der Nachweis von Steroidhormonrezeptoren beweisend für eine Bedeutung der entsprechenden Hormone ist, da auch eine nicht genomische, vom klassischen Rezeptor unabhängige Wirkung von Östrogenen möglich ist (Jungblut et al., 1991; Wehling, 1997).

In der Literatur sind keine Informationen zur Steroidhormonrezeptorexpression in der bovinen Vagina und Zervix in den ersten zehn Tagen *post partum* zu finden. Einzig Vesanen und Mitarbeiter (1991) berichten von einer Östrogen- und Progesteronrezeptorexpression im bovinen zervikalen Gewebe, welches jedoch von zyklischen Kühen gewonnen wurde. Der puerperale Zeitraum wurde erstmals in der vorliegenden Arbeit behandelt.

Zum Zeitpunkt der Geburt ist nur eine geringe Expression des zervikalen Östrogenrezeptors nachweisbar, die bis zum fünften Tag *post partum* noch abnimmt. In den folgenden Tagen steigt die Anzahl der positiven Zellen wieder an. Diese Beobachtung kann durch eine erneute Rezeptorsynthese, nachdem es zu einer *Down-Regulation* aufgrund der hohen Östrogenwerte im peripartalen Zeitraum gekommen ist, erklärt werden. Ein derartiger Mechanismus ist bei Studien am bovinen Myometrium in der peripartalen Phase beschrieben worden (Klauke und Hoffmann, 1992). Die erneute Rezeptorsynthese überführt die Zervix wieder in einen Zustand der Sensibilität gegenüber Östrogenen. Dabei konnte eine signifikant erhöhte Expression in der *Tunica muscularis* im Vergleich zum Bindegewebe aufgezeigt werden. Die höhere Rezeptordichte in den Muskelfasern kann dahingehend interpretiert werden, dass dieses Organkompartiment das bevorzugte Zielgewebe für die Östrogene darstellt.

Die Expression des Progesteronrezeptors in der Zervix zeigt keine entsprechende Kinetik. Zwar konnte eine Zunahme der absoluten Anzahl positiver Zellen pro Flächeneinheit nachgewiesen werden, doch spiegelt sich diese Veränderung nicht im Verhalten des IRS wider. Generell wird davon ausgegangen, dass eine vorherige Östrogeneinwirkung die Gestagenrezeptorsynthese stimuliert (Aronica und Katzenellenbogen, 1991; Ing und Tornesi, 1997). Möglich erscheint, dass ausgehend von den dargestellten Basalwerten eine Zunahme der Progesteronrezeptorexpression erst zu einem späteren Zeitpunkt erfolgt, nachdem eine initiale Östrogeneinwirkung stattgefunden hat. Dies ist auch biologisch sinnvoll, da nach der Phase der postpartalen Azyklie die Östrogensynthese der Progesteronsynthese vorausgeht.

Es erscheint bemerkenswert, dass im vaginalen Gewebe eine differente Expression des Östrogenrezeptors im Vergleich zur zervikalen Situation im Verlauf des Frühpuerperiums nachzuweisen ist. Bislang sind in der Literatur keine diesbezüglichen vergleichenden Informationen über diese Abschnitte des Geburtsweges verfügbar. Es müssen daher Ergebnisse, die meist an anderen Tierarten während der Gravidität oder im Verlauf des nicht graviden Zyklus gewonnen wurden, im Rahmen der Diskussion herangezogen werden. Untersuchungen am graviden Känguruh zum Nachweis des Progesteron- und

Östrogenrezeptors konnten ein deutlich geringeres Vorkommen in der lateralen Vaginalwand im Vergleich zum Uterus aufzeigen (Renfree und Blanden, 2000). Studien zur Verteilung der Steroidrezeptoren im Genitaltrakt von Pferden zeigen ebenfalls eine unterschiedliche lokale Expression während des Zyklus (Re et al., 1995). Selbst der Übergang zwischen Vulva und Vagina ist beim *Homo sapiens sapiens* durch eine differente Rezeptorexpression gekennzeichnet (Hodgins et al., 1998). Anhand neuerer Untersuchungen am murinen Modell konnte zudem gezeigt werden, dass sich die Regulation der Rezeptorexpression für die Steroidhormone zwischen Vagina und Uterus signifikant unterscheidet (Kurita et al., 2000). Versanen und Mitarbeiter (1991) untersuchten die Konzentration von zytosolischen Östrogen- und Progesteronrezeptoren im Uterus, in der Zervix und in den Ovarien bei nicht graviden Schlachtkühen. Auch in dieser Studie konnte eine differente Rezeptordichte in den verschiedenen Geschlechtsorganen aufgezeigt werden.

Die in der eigenen Arbeit festgestellten Unterschiede zwischen Vagina und Zervix sind folglich vor dem Hintergrund einer bei verschiedenen Tierarten lokal differenten Steroidhormonrezeptorexpression im Genitaltrakt zu bewerten.

Auch in der Vagina zeigt sich eine höhere Dichte von Zellen mit immunhistologisch nachweisbaren Steroidrezeptoren in der Muskelschicht als in der *Lamina propria mucosae*. Das muskuläre Kompartiment scheint ebenso wie in der Zervix das bevorzugte Zielgewebe für die Steroidhormone Progesteron und Östrogen darzustellen.

Es stellt sich die Frage nach der biologischen Bedeutung der steigenden Östrogenrezeptorexpression in der Zervix, während in der Vagina zum gleichen Zeitpunkt weder immunhistologisch noch mittels RT-PCR eine Neusynthese des Östrogenrezeptors  $\alpha$  nachgewiesen werden kann.

Nach maximaler Dehnung unter der Geburt erfüllt die Vagina in kürzester Zeit wieder ihre Funktion als spaltförmige Verbindung zwischen Zervix und Vestibulum. Im Gegensatz zur Zervix ist der vaginale Verschlussmechanismus nur so stark ausgeprägt, dass jederzeit eine Passierbarkeit gegeben ist. Es besteht folglich nicht die Notwendigkeit einer erneuten Öffnung zur Drainage des Uterus, da der bestehende Zustand einen Abfluss der Lochien zulässt. Es erscheint daher möglich, dass die zervikale Östrogenrezeptorexpression in Verbindung mit der zeitgleich nachzuweisenden temporären puerperalen Öffnungsphase steht. Die Beteiligung von Östrogenen erscheint auch deshalb diskutabel, da parallel eine verstärkte Infiltration

des zervikalen Gewebes mit eosinophilen Granulozyten detektierbar ist. Derartige zytologische Veränderungen in den Geschlechtsorganen werden in der Literatur als östrogenabhängige Wirkung beschrieben (Lee et al., 1989; Ramos et al., 2000).

Die Aufweitung des kaudalen Geburtsweges wird durch massive Umbauprozesse des Bindegewebes im antepartalen Zeitraum vorbereitet (Leppert, 1995). Diese Umbauprozesse sind durch eine Infiltration des zervikalen Stromas mit polymorphkernigen Granulozyten gekennzeichnet, wobei sich die vorherrschende Zellpopulation tierartlich unterscheidet (Bassett, 1962; Junqueira et al., 1980; Luque und Montes, 1989; Duchesne et al., 1992; Luque et al., 1996; Knudsen et al., 1997; Luque et al., 1997; Winkler et al. 1999; Stygar et al. 2001). Beim Schaf und der Frau wird von einer Infiltration mit neutrophilen Granulozyten ausgegangen. Bei der Ratte konnten eosinophile Granulozyten als Hauptzellpopulation gefunden werden. Bisher gab es keine Angaben zur Situation in der bovinen Zervix und hinsichtlich des vaginalen Gewebes bei keiner Tierart. Die einzigen Informationen über die Gewebsarchitektur der intrapartalen Vagina liegen aus dem humanen Bereich vor (Manabe und Yoshida, 1986). Durch licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen liess sich jedoch keine Assoziation zwischen Kollagenolyse und Ödematisierung mit einer Infiltration von Granulozyten nachweisen.

In der vorliegenden Arbeit konnte beim Rind im zervikalen und vaginalen Bindegewebe eine massive Infiltration mit eosinophilen Granulozyten detektiert werden. Die Zelldichten liegen in der Geburt und im Frühpuerperium statistisch hoch signifikant über denen, die im Interöstrus nachweisbar sind ( $p < 0,001$ ). Eine Assoziation des Gewebseosinophilie mit der peripartalen Öffnung dieser beiden Organe erscheint wahrscheinlich, wie sie bei der Ratte diskutiert wird (Luque et al., 1996; Ramos et al., 2000).

Im Rahmen von Kontrolluntersuchungen an ovinen Proben liessen sich im Gegensatz zum Rind weder in der Zervix noch in der Vagina eine signifikante Ansammlung von eosinophilen Granulozyten *intra partum* nachweisen. Damit sind die Befunde von Luque et al. (1997) bestätigt, die ebenfalls keine Erhöhung der Zelldichte mit dieser Granulozytenpopulation in der Schafzervix *intra partum* aufzeigen konnten. Die aus der Literatur bekannte intrapartale ovine zervikale Gewebsarchitektur wird anhand der eigenen Daten um die Beschreibung der

vaginalen Situation erweitert. Folglich liegt im Bereich der intrapartalen Gewebsinfiltration ein deutlicher Speziesunterschied vor, obwohl es sich bei Rind und Schaf um Wiederkäuer handelt und die Zervix einen ähnlich hohen Bindegewebsanteil besitzt. Warum sich die in der bovinen Vagina und Zervix zu beobachtende Infiltration mit eosinophilen Granulozyten nicht beim Schaf finden läßt, kann zum jetzigen Zeitpunkt nicht erklärt werden.

Die intrapartale Gewebs eosinophilie geht mit einer peripheren Bluteosinopenie einher, was durch umfangreiche Untersuchungen zum peripartalen Blutbild des Rindes gezeigt werden konnte (Bostedt und Berchtold, 1968; Bleul und Sobiraj, 2001). Diese Veränderungen sind nicht in der Population der Blutmonozyten und basophilen Granulozyten nachweisbar. Auch die Tiere in der eigenen Studie, von denen Gewebe *intra partum* gewonnen wurde, zeigen diese typische Bluteosinopenie. Die Ursache wird in den peripartal hohen Glukokortikoidkonzentrationen gesehen. Dabei bleibt offen, wo die zirkulierenden eosinophilen Granulozyten bleiben. Aufgrund der vorgestellten Befunde erscheint eine Verminderung der Blutkonzentration dadurch möglich, dass es zu einer massiven Gewebsinfiltration kommt.

Knudsen und Mitarbeiter (1997) verbinden den Eosinophileneinstrom mit einer gesteigerter Kollagenolyse im peripartalen Zeitraum. So enthalten humane eosinophile Granulozyten eine Metalloproteinase, die selektiv Kollagenfasern der Typen I und III, den Hauptkollagenen der Zervix, abbauen, jedoch keine Aktivität gegenüber Fasern des Types IV und V aufweisen (Hibbs et al., 1982). Diese These kann anhand der eigenen Untersuchungen bestätigt werden, da sich diese Zellen vor allem im Bindegewebe nachweisen lassen. Eine Beteiligung am Ab- und Umbau des Stromas erscheint aufgrund dieser Lokalisation wahrscheinlich.

Neben einer proinflammatorischen Aktivität, die in chemotaktischen, kollagenolytischen und zytotoxischen Wirkungen der Inhaltsstoffe der Granula begründet ist, zeichnen sich die eosinophilen Granulozyten im Gegensatz zu den neutrophilen Granulozyten auch durch antiinflammatorische Eigenschaften aus (Übersicht bei Jain, 1992a und Venge et al., 1993; Weller, 1992). So besitzen diese Zellen die Fähigkeit, Immunkomplexe und Mastzellgranula zu phagozytieren, freies Histamin zu antagonisieren und die ödematisierende Wirkung von Serotonin und

Bradykinin aufzuheben. In dieser Potenz, Entzündungsreaktionen abzuschwächen, könnte die Erklärung für die Bedeutung der eosinophilen Granulozyten im puerperalen Geburtskanal liegen. Durch die Verletzungen unter der Geburt und die mikrobielle Besiedelung, insbesondere in Verbindung mit Puerperalstörungen, besteht die Gefahr einer überschüssigen Inflammation. Im Frühpuerperium ist es daher notwendig, neben einer effektiven Abwehrleistung negative Auswirkungen von Entzündungsmediatoren zu verhindern.

Vor allem zu den Mastzellen wird ein gewisser Antagonismus angenommen (Jain, 1993b). Auf der anderen Seite besteht ein Synergismus zwischen diesen beiden Zellarten. Der *eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis* aus Mastzellen besitzt eine chemotaktische Anziehung auf eosinophile Granulozyten. He und Mitarbeiter (1997) konnten eine gleiche Wirkung von Mastzell-Tryptase aufdecken. Trotz dieser Wechselwirkung unterscheidet sich die Verteilung beider Zellarten in den bisher studierten Geschlechtsorganen. Reibiger und Spanel-Borowski (2000) untersuchten das lokale Auftreten von Mastzellen und eosinophilen Granulozyten im bovinen Ovar während des Zyklus. Die Mastzellen konnten vor allem im Stroma nachgewiesen werden, eosinophile Granulozyten liessen sich verstärkt in der periovulatorischen Phase in der Granulosazellschicht und der *Theca interna* detektieren. Dieses Muster der Infiltration unterschiedlicher Bereiche eines Organes mit diesen beiden Zellpopulationen findet sich auch im humanen Endometrium während des Zyklus (Jeziorka et al., 1995) und in den eigenen Untersuchungen wieder. Die Mastzellen sind hauptsächlich in der *Tunica muscularis* und der tiefen Bindegewebsschicht, die eosinophilen Granulozyten in der lumennahen *Tunica mucosa* lokalisiert.

Keine entsprechenden Daten in der Literatur konnten für die Beobachtung gefunden werden, dass sich die Anzahl der Mastzellen im vaginalen und zervikalen Gewebe im Puerperium signifikant von deren Dichte im Interöstrus unterscheidet. Auch fällt die deutlich höhere Anzahl in dieser Zyklusphase in der Vagina im Vergleich zur Zervix auf. Die interöstrische Mastzellendichte in der Zervix entspricht den Ergebnissen von Galeotti und Mitarbeitern (1997), die mit der gleichen Färbemethode Referenzwerte für diese Zellpopulation im bovinen Uterus zur Bewertung von Biopaten aufstellten. Die signifikant erhöhte Zellzahl in der Vagina ist dadurch erklärbar, dass sich in diesem Abschnitt des Genitaltraktes im Interöstrus deutlich mehr Bakterien befinden als in der Zervix. So beschrieben Wehrend et al. (2002c) während der Gelbkörperphase in der Vagina durchschnittlich 5,9 aerob wachsende Keimarten,

aus Zervixtupfern wurden dagegen nur durchschnittlich 2,2 Spezies kultiviert. Außerdem konnten erhebliche lokale Differenzen in der Keimquantität nachgewiesen werden. Diese physiologische, in der anatomischen Lage begründete verstärkte Exposition gegenüber Mikroorganismen, erfordert eine erhöhte Abwehrleistung des vaginalen Gewebes. Derartige Stimulationen können zu einer erhöhten Mastzellichte führen (Averikhin und Vyatkin, 1976; Gonzales et al., 1985; Enerback und Norrby, 1989).

Insgesamt scheint die Infiltration der Geschlechtsorgane beim Rind mit Mastzellen einem hormonabhängigen Mechanismus zu unterliegen. So wurde durch eine neuere Studien nachgewiesen, dass die Dichte dieser Zellpopulation im bovinen Oviduct in der lutealen Phase des Zyklus höher ist als im Östrus (Özen et al., 2002). Die Bedeutung dieser Beobachtung ist nicht geklärt. Die Vielzahl von biologisch aktiven Inhaltsstoffen der Granula lassen jedoch eine Beteiligung an zyklusassoziierten Umbauprozessen des Gewebes vermuten.

Im zervikalen Gewebe kommt es bis zum zehnten Tag *post partum* zu einer signifikanten Zunahme der eosinophilen Granulozyten, während deren Anzahl in der Vagina im Vergleich zur intrapartalen Situation abfällt. Diese Veränderung zeigt damit eine zeitliche Parallelität zur puerperalen Zervixöffnung. Die Funktion dieser Zellpopulation in diesem Zusammenhang ist unklar. Vermutet werden kann ein erneuter Abbau von Bindegewebe, der mit der Öffnung einhergeht. Dies würde jedoch voraussetzen, dass es bis zu diesem Zeitpunkt bereits zu einer weitgehenden Reorganisation des kollagenen Systems gekommen ist. Während über den antepartalen Bindegewebsstoffwechsel der Zervix Informationen vorliegen, ist über die postpartale Regenerationsgeschwindigkeit nichts bekannt, so dass diese Hypothese durch zukünftige entsprechende Untersuchungen gestützt werden muß.

Der Gewebsinfiltration mit eosinophilen Granulozyten liegt allgemein ein östrogenabhängiger Mechanismus zugrunde. Ein verstärkter Eosinophilenstrom in Bereiche der weiblichen Genitalorgane lässt sich immer dann nachweisen, wenn erhöhte Östrogenwerte messbar sind (Bassett, 1963; Matsuda et al., 1983; Ramos et al., 2000; Reibiger und Spänel-Borowski, 2000). Diese hormonabhängige Infiltration wird durch ein chemotaktisch wirkendes, bisher nicht näher charakterisiertes Protein vermittelt und lässt sich durch Inhibitoren der Transkription unterbinden (Lee et al.,

1989; Ramos et al., 2000). Außerdem konnte eine Expression des Östrogenrezeptors in eosinophilen Granulozyten nachgewiesen werden (Katayama et al., 1998). Progesteron unterdrückt die Eosinophileninfiltration (Tchernitchin, 1983; Luque et al., 1996; Luque et al., 1998). Das Besondere an den eigenen Daten ist, daß sich in der Vagina parallel zum Abfall der Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen eine Verminderung der Eosinophilenanzahl nachweisen läßt, während im zervikalen Gewebe ein signifikanter Anstieg registriert werden kann. Diese regionalen Unterschiede finden vor dem gleichen hormonellen Hintergrund statt. Die lokale Infiltration mit eosinophilen Granulozyten deutet auf Besonderheiten des Östrogenstoffwechsels in der Zervix während der puerperalen Öffnungsphase hin. Diese These ist in weitergehenden Untersuchungen nachzugehen.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die Anwendung unterschiedlicher sich ergänzender Verfahren die puerperale Involution der Zervix im Vergleich zur Vagina während der ersten zehn Tage *post partum* näher charakterisiert werden konnte. Dabei gelang es, eine erneute puerperale Öffnung der Zervix zu beschreiben, die bisher bei keiner anderen Tierart nachzuweisen war. Für den Involutionsprozess ergibt sich folgendes Modell:

- Progressive Reduktion bis zur sechzehnten Stunde *post partum*
- Protrahierte Reduktion bis zum zweiten Tag *post partum* ohne nachweisbare Ringfaltenbildung
- Protrahierte Reduktion bis zum siebten Tag *post partum* mit zunehmender Ringfaltenbildung
- Erneute, diskrete Öffnung bis zum zehnten Tag *post partum* unter Erhaltung der Faltenstruktur

Die Involution der Zervix stellt folglich einen über mehrere Stufen gehenden Prozess dar. Auf diese Weise kommt es einerseits zu einem schnellen Schutz des *Cavum uteri* vor einer Keimaszention aus dem *Canalis vaginalis*, andererseits wird ein vermehrter Abfluss von uterinem Inhalt zu einem Zeitpunkt gewährleistet, zu dem nekrotisches Material im Uterus demarkiert ist.

Die intrapartale vaginale und zervikale Öffnung ist beim Rind mit einer massiven Infiltration von eosinophilen Granulozyten assoziiert. Diese zytologischen Veränderungen lassen sich nicht beim Schaf nachweisen.

Auffällig ist weiterhin eine gegenüber der Situation im Interöstrus verminderte Dichte von Mastzellen in der Vagina und Zervix während des Frühpuerperiums. Diese Zellpopulation befindet sich in beiden Organen an anderer Lokalisation als die eosinophilen Granulozyten.

In der Phase des progressiven zervikalen Schlusses scheint die Kontraktur der *Tunica muscularis* eine entscheidende Rolle zu spielen. Parallel zur erneuten Öffnung des Muttermundes ab dem siebten Tag kommt es zu einer Zunahme der Infiltration des Stromas mit eosinophilen Granulozyten. Diese zytologische Veränderung ist mit einem verstärkten immunhistologischen Nachweis von Östrogenrezeptoren assoziiert.

Vagina und Zervix zeigen folglich eine unterschiedliche puerperale Involution auf lichtmikroskopischer und immunhistologischer Ebene.

#### 4.2 Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis und Einflussfaktoren auf die Entwicklung von zervikalen Involutionstörungen

Im zweiten Teil dieser Arbeit stand die tierartlich vergleichende Analyse der Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis im Mittelpunkt des Interesses. Weiterhin wurde die Häufigkeit von zervikalen Involutionstörungen und mögliche Einflussfaktoren auf diese Puerperalstörung anhand eines Patientenkollektives nach Dystokie untersucht.

Aus der vergleichenden geburtsphysiologischen Betrachtung ergeben sich erhebliche Speziesunterschiede in der Häufigkeit zervikal bedingter Dystokien. Durch die retrospektive Auswertung der Daten von 1777 Schweregeburten bei der Hündin, der Sau, der Stute, des Schafes und des Rindes konnte gezeigt werden, dass zervikal bedingte Dystokien beim Wiederkäuer eine dominierende Rolle besitzen, während diesen bei den anderen Tierarten nur eine untergeordnete Wertigkeit zukommt. Vorherige Studien haben sich mit diesem Aspekt der Obstetrik nur selektiv bei einzelnen Tierarten beschäftigt, so dass ein Interspeziesvergleich nur bedingt möglich war. Durch Erhebungen an einem Patientenkollektiv in einer geburtshilflichen Klinik anhand eines standardisierten, einheitlichen Untersuchungsprotokolles wurde das Ziel verfolgt, die Ergebnisse bei den unterschiedlichen Haustierarten besser miteinander vergleichen zu können. Die Resultate der retrospektiven Auswertung werden im Folgenden den Angaben in der Literatur gegenübergestellt, um die Aussagekraft der eigenen Daten über das untersuchte Patientenkollektiv hinaus beurteilen zu können, um abschließend in Ihrer Bedeutung interpretiert zu werden.

Bei den analysierten Pferdegeburten war die Ursache der Dystokie in über 90 % der Fälle in einer fehlerhaften Lage, Haltung oder Stellung des Fetus begründet. Die Zervix konnte in keinem Fall als primäres Geburtshindernis diagnostiziert werden. Auch andere Autoren ordnen der Zervix im Rahmen der equinen Obstetrik keine hohe quantitative Bedeutung als Geburtshindernis zu (Leidl et al., 1993; Frazer et al., 1997). Zwei Stuten im eigenen Klientel zeigten zwar eine mangelhafte Zervixöffnung, in beiden Fällen war diese Situation jedoch mit einer unteren Stellung assoziiert. Bei einem Fetus wurde zusätzlich eine beidseitige Karpalgelenksbeugehaltung

diagnostiziert. Da sich die Zervix bei beiden Stuten ohne Probleme manuell öffnen liess, wird angenommen, dass primär keine zervikal bedingte Schweregeburt vorlag. Diese Beobachtung unterstützt die These, dass für eine ausreichende Öffnung der Zervix beim Großtier eine obere Stellung des Fetus *intra partum* notwendig ist (Stoss, 1944).

Beim Rind präsentiert sich die Zervix im Gegensatz zur Stute als bedeutendes Geburtshindernis. Die Ursache der Schweregeburt war in 18,5 % der Fälle in einem mangelhaften Öffnungsgrad dieses Organes zu finden. Dies entspricht den Angaben in der Literatur (Baier et al., 1973; Jackson, 1995; Noakes, 2001a).

Die mangelhafte Zervixöffnung stellt beim Schaf die häufigste Ursache einer Dystokie da. Dies ergibt sich auch aus den Resultaten anderer Autoren zur obstetrischen Situation beim Schaf (Bostedt, 1988; Sobiraj, 1994; Kloß et al., 2002). Interessant sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von Kloß und Mitarbeitern (2002), die keinen signifikanten Zusammenhang zwischen einem *Prolaps vaginae ante partum* und dem Auftreten einer mangelhaften Zervixöffnung nachweisen konnten, was von Wollrab et al. (1989) und Thomas (1990) postuliert wird.

Eike (1984) wertete die Ursachen von Geburtstörungen bei Sauen, bei denen eine *Sectio caesarea* durchgeführt werden musste, aus. In 27,5 % der Fälle (11 von 40 Tieren) lag die Ursache der Dystokie in einer Enge des weichen Geburtsweges. Da keine weitere Aufgliederung des Begriffes „Enge im weichen Geburtsweg“ erfolgte, sind die eigenen Daten mit dieser Untersuchung nur bedingt vergleichbar. Auch Runnels und Clark (1992) geben in ihrer Übersicht zu den Ursachen von Schweregeburten beim Schwein keine quantitativen Angaben zum Auftreten dieser Geburtsstörung. Einzig die Häufigkeit von Wehenschwächen wird mit 37 % beschrieben. Dies deckt sich mit dem eigenen Ergebnis, dass bei 31,9 % der Sauen eine Wehenschwäche diagnostiziert werden konnte. Im eigenen Klientel wurde bei drei Schweinen eine mangelhafte Öffnung der Zervix nachgewiesen. Dies entspricht 4,1 % der Fälle, bezogen auf die Gesamtzahl der ausgewerteten Geburten. Schulz und Bostedt (1995) konnten bei der Auswertung von 523 Schweregeburten beim Schwein viermal eine Zervixmanschette diagnostizieren. Damit tritt diese Form der Geburtsstörung bei dieser Tierart zwar häufiger als beim Pferd und bei der Hündin auf, spielt jedoch prozentual keine grosse Rolle.

Informationen zur Problematik der caninen Dystokie liegen von Stolla und Mitarbeitern (1999) basierend auf der Auswertung von 648 Geburten vor. In 86,0 % der Fälle lag die Ursache der Geburtsstockung auf der maternalen Seite begründet; in 0,4 % der Schwergeburten konnte eine Enge im weichen Geburtsweg diagnostiziert werden. Insgesamt dominierte die Wehenschwäche als Dystokieursache. Die Daten entsprechen den Ergebnissen der eigenen Untersuchung hinsichtlich der quantitativen Einschätzung der einzelnen Dystokiegründe. Im eigenen Klientel lag in 70 % der Fälle die Ursache der Geburtsstockung beim Muttertier. Auch andere Autoren geben die Bedeutung der maternal bedingten Störungen zwischen 60 und 75 % an (Gaudet, 1985; Darvelid und Linde-Forsberg, 1994).

Bei zwei Hündinnen wurde eine Enge im Vestibulovaginalbereich diagnostiziert. Im Rahmen der anschließenden *Sectio caesarea* konnte festgestellt werden, dass die Zervix vollständig geöffnet war und die Ursache der Geburtstockung kaudal des Muttermundes lag.

Die speziesspezifische Wertung der quantitativen Bedeutung der Zervix als Geburtshindernis steht mit der tierartlich unterschiedlichen Gewebearchitektur des Organes in Einklang. Schuh (1993) konnte beim Rind und Schaf einen Bindegewebsanteil von 80 – 82 % nachweisen, beim Pferd um 69 % und beim Fleischfresser zwischen 61 – 63 %. Es ist denkbar, dass Störungen im antepartalen Bindegewebsstoffwechsel daher beim Schaf und Rind zu einer zervikalen Dystokie führen, die bei den anderen Tierarten durch Dehnung der „muskulöseren“ Zervix behoben werden kann. Auch bei der Ziege wurde ein überdurchschnittlich hoher Anteil von zervikal bedingten Geburtsstockungen in 37,8 % der Fälle bei 156 ausgewerteten Geburten aufgezeigt (Eitel, 1990). Es ist daher anzunehmen, dass die mangelhafte Zervixöffnung ein wiederkäuerspezifisches Problem darstellt. Der Hypothese, dass die unterschiedliche obstetrische Bedeutung in einer tierartlich differenten Länge des Zervikalkanales begründet ist, muss widersprochen werden. Dieser Abschnitt des Geburtsweges spielt bei der Sau, die eine relativ lange Zervix aufweist, eine untergeordnete Rolle. Leider liegen bisher keine Daten zum Mechanismus der intrapartalen Öffnung bei den Haussäugetieren, mit „muskulöserer“ Zervix vor. Im Vergleich zur Situation bei Rind und Schaf wäre es

interessant zu erfahren, welche Zellpopulation bei diesen Tieren an der intrapartalen Zervixöffnung beteiligt ist.

Der Aussage von Götze (1950) - „Die Enge des weichen Geburtsweges, mit der wir beim Rinde viel mehr als bei anderen Tierarten zu tun haben, ..liegt vorwiegend im Zervikalkanal“ - kann anhand der eigenen Ergebnisse zugestimmt werden. Götzes Meinung muss nur dahingehend erweitert werden, dass auch beim kleinen Wiederkäuer die Zervix als Geburtshindernis eine herausragende Rolle spielt.

Die speziesspezifischen Unterschiede im Aufbau der Zervix spiegeln sich nicht nur in ihrer Bedeutung als Dystokieursache wider, sondern auch in der Möglichkeit der Manipulation der Weite des *Canalis cervicalis* in anderen Phasen des Zyklus. Während beim Pferd die Zervix zu jeder Zeit gedehnt werden kann und die Passageschwierigkeit bei der Hündin in der anatomischen Lage des Muttermundes begründet ist, stellt die Rigidität der Zervix beim Wiederkäuer den beschränkenden Faktor für den Zugang zum Uterus da (Bracher und Allen, 1992; Lübke et al., 1997; Göbel, 1998).

Die ökonomische Bedeutung der zervikal bedingten Enge des Geburtsweges beim Rind zeigt sich darin, dass dieser Zustand in der Regel eine *Sectio caesarea* nach sich zieht. Der Zusammenhang zwischen mangelnder Passierbarkeit des *Canalis cervicalis* und der Notwendigkeit einer *Sectio caesarea* ist in dem untersuchten Kollektiv statistisch hoch signifikant. Diese Tatsache verwundert nicht, spiegelt sie doch das Indikationsgebiet dieses chirurgischen Verfahrens wieder. Sie verdeutlicht jedoch, dass bei potenziellen Möglichkeiten einer effektiven Zervixöffnung, eine Vielzahl dieser Operationen nicht notwendig wären. Die Entwicklung derartiger Verfahren erfordert jedoch, eine weitere wissenschaftlich fundierte Forschung auf dem Gebiet der physiologischen zervikalen Öffnungs- und Involutionsmechanismen. Eine Reduktion der laparotomischen Eingriffe im Rahmen der Rindergeburtshilfe ist vor allem in Situationen anzustreben, in welchen die Enge des Zervikalkanals in Kombination mit einer toten Frucht auftritt. In diesen Fällen ist ein Kaiserschnitt mit erheblichen post operativen Komplikationen verbunden, die bei Durchführung einer Fetotomie zu mindern wären (Baier et al., 1968; Seger et al., 1994; Wehrend et al., 2002b). Dieses operative Verfahren erfordert jedoch eine ausreichende Weite im Bereich des weichen Geburtsweges. Auch in diesem Zusammenhang ergibt sich die Forderung, Verfahren zu entwickeln, die eine Weitung des Vaginozervikalkanals

gestatten, um eine Fetotomie durchführen zu können, wenn sich die Zervix bereits in der Involutionsphase befindet.

Bei Analyse der Faktoren, die einen Einfluss auf das Auftreten von zervikal bedingten Geburtsstörungen ausüben, zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zum Alter und der Parität. Das heißt, dass ältere Kühe und Tiere, die bereits mehrere Kälber geboren haben, häufiger an dieser Form von Geburtstockungen leiden. Auch Baier und Mitarbeiter (1973) diagnostizierten nur bei 2,4 % der von ihnen untersuchten Primipara eine mangelhafte Zervixöffnung, während dieser pathologische Zustand bei 17,6 % der pluriparen Kühe vorlag. Die Ursache für diese Beobachtung könnte darin liegen, dass es infolge vorausgehender Trächtigkeiten zu einer Sklerosierung des Organes kommt (Abusineina, 1969). In diesem Zusammenhang muss auch an Verletzungen durch vorausgehende Schweregeburten gedacht werden, die zu einer bindegewebigen Defektheilung führen können. Es ist denkbar, dass die Fibrosierung zu Störungen des antepartalen Bindegewebsstoffwechsels führt, die eine mangelhafte Öffnung bedingen.

Weitergehende Untersuchungen zur exakten Zusammensetzung des zervikalen Bindegewebes bei der Kuh unter Berücksichtigung des Alters und der Parität erscheinen notwendig. Bisher liegen nur Erkenntnisse über die Verteilung kollagener Fasern im bovinen Uterus in unterschiedlichen Phasen des Zyklus vor, ohne Berücksichtigung des Alters (Boos, 2000). Hinsichtlich eines Alterseinflusses auf die Organstruktur sind momentan nur Informationen aus dem humanen Bereich verfügbar. Bei der Frau beschreibt Strauss (1969) mit fortgeschrittenem Alter eine Vermehrung des zervikalen Bindegewebes.

Im Gegensatz zu Störungen der zervikalen Öffnung konnte kein Alters- und Paritätseinfluß auf die Entwicklung zervikaler Involutionsstörungen nachgewiesen werden. Eine mangelhafte Öffnung des Organes wirkt sich ebenfalls nicht negativ auf die puerperalen Involution aus. Das bedeutet, dass intrapartale pathologische Öffnungszustände keine Anzeichen einer generellen Zervixinsuffizienz sind.

Die eigenen Daten zeigen jedoch, dass sich Involutionstörungen in Abhängigkeit zur durchgeführten obstetrischen Maßnahme entwickeln. Nach einer Fetotomie stellen sich signifikant häufiger Involutionsstörungen der Zervix als nach anderen geburtshilflichen Verfahren ein. Dies kann mit den mechanischen Schädigungen des Gewebes durch das Fetotom in Verbindung gebracht werden.

Bostedt und Mitarbeiter (1979) vermuten, dass Schädigungen der Myofibrillen zervikale Involutionsstörungen bedingen können. Überraschenderweise ist dieser Aspekt des Puerperiums in den Arbeiten zur Fetotomie beim Rind bisher nicht berücksichtigt worden und sollte in Zukunft eine stärkere Beachtung finden (Rüsch und Berchtold, 1978; Wehrend et al., 2000b). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie in Verbindung mit den Erkenntnissen von Bostedt et al. (1979) bekräftigen die Forderung nach einer zügigen und schonenden Operationsweise.

Basierend auf den histologischen Daten zur physiologischen puerperalen Zervixinvolution, die in dieser Studie gewonnen werden konnten, sind Untersuchungen zur mikroskopischen Gewebearchitektur von Organproben, die von Tieren mit Involutionsstörungen stammen, eingeleitet. Da diese Proben jedoch nur von Kühen entnommen werden können, die aus medizinischen oder ökonomischen Gründen euthanasiert werden, gestaltet sich die Materialsammlung äußerst schwierig und langwierig, so dass die Ergebnisse dieser laufenden Untersuchungen noch längere Zeit ausstehen werden.

Im letzten Abschnitt des klinischen Teiles der Arbeit wurde der potenzielle Zusammenhang zwischen Involutionsstörungen des Uterus und der Zervix untersucht. Dieser Aspekt hat in der bisherigen Fachliteratur keine Beachtung gefunden. Dazu erfolgte die klinische und sonographische Dokumentation des Puerperiums von 77 Kühen nach *Sectio caesarea*. Tiere, bei denen bereits massive Auszugversuche durchgeführt worden waren, fanden keine Berücksichtigung, um mechanische Ursachen einer pathologischen Zervixinvolution auszuschalten. 14,3 % der untersuchten Kühe wiesen eine Zervixinvolutionstörung auf. Es konnte kein Zusammenhang zum Auftreten von Uteropathien nachgewiesen werden. Das bedeutet für den klinischen Alltag, dass anhand einer vaginalen Untersuchung mit Beurteilung der Zervix nicht auf die uterine Situation rückgeschlossen werden darf. Die vollständige Kontrolle einer Kuh im Frühpuerperium sollte immer die vaginale und rektale Untersuchung umfassen. Es kann vermutet werden, dass Uterus und Zervix unterschiedlichen Involutionsmechanismen unterliegen. Diese Behauptung bedarf zwar noch weitergehender Untersuchungen, doch erscheint sie als vorläufige Arbeitshypothese begründet. Bereits in der Gravidität erfüllen beide Organe eine unterschiedliche Funktion. Während sich der Uterus in einem erschlafften Zustand befindet, besitzt die Zervix eine Sphinkterfunktion. In der Geburt ändert sich diese Aufgabenverteilung. Die Zervix erschlafft, das Myometrium kontrahiert. Diese

Beobachtung lässt sich experimentell dadurch belegen, dass die Applikation von PGE<sub>2</sub> auf das Myometrium kontrahierend wirkt, während die Zervikalmuskulatur relaxiert bleibt (Egarter und Husslein, 1998).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Zervix eine der wichtigsten Dystokieursachen beim Rind darstellt. Aufgrund der Ergebnisse eines Interspeziesvergleich scheint dies in der Gewebearchitektur der Wiederkäuerzervix begründet zu sein. Steigendes Alter und Parität erhöhen die Wahrscheinlichkeit zervikal bedingter Dystokien bei der Kuh.

Geburtshilfliche Maßnahmen sollten in Zukunft zusätzlich in Hinblick auf Ihre Auswirkungen auf das zervikale Gewebe beurteilt werden. Das unabhängige Auftreten von uterinen und zervikalen Involutionstörungen unterstreicht die Forderung, im Rahmen der Kontrolle von Tiere im Frühpuerium beide Abschnitte des Geschlechtstraktes zu untersuchen und deren Zustand getrennt zu bewerten.

#### 4.3 Schlussbemerkungen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der physiologische Involutionvorgang der Zervix im Vergleich zur Vagina im Frühpuerperium beim Rind charakterisiert sowie Einflussfaktoren auf das Auftreten von zervikalen Dytokien und Involutionstörungen bei dieser Tierart analysiert.

Neben der Darstellung neuer Erkenntnisse wurde deutlich, dass die Zervix weder ein kranialer Anteil der Vagina noch der kaudale Abschnitt der Gebärmutter ist. Sie stellt ein eigenständiges Organ im Reproduktionstrakt da, das spezifische Aufgaben erfüllt und spezifischen Steuerungsmechanismen unterliegt. Viele der vorgestellten Ergebnisse lassen sich zum jetzigen Zeitpunkt nur hypothetisch deuten, da in der Vergangenheit weder Vagina noch Zervix eine intensive wissenschaftliche Bearbeitung beim Rind erfahren haben. Weitere Forschungen werden helfen, diese Wissenslücken aufzufüllen. Dies ist nicht nur vom reproduktionsbiologischen Standpunkt wünschenswert, sondern auch aus Sicht des Klinikers. Die Entwicklung medikamenteller Verfahren zur Beeinflussung der Passierbarkeit des *Canalis cervicales* könnte der buiatrischen Geburtshilfe neue Impulse geben, wie es seinerzeit die Etablierung der *Sectio caesarea* als kliniksungebundenes Verfahren und die Einführung der Tokolytika bewirkt hat.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit unterschiedlichen, sich komplementär ergänzenden Techniken die physiologische Involution der Zervix im Vergleich zur Vagina beim Rind während der ersten zehn Tage *post partum* vor dem Hintergrund endokrinologischer Veränderungen zu charakterisieren und erste Informationen über die dafür zugrunde liegenden Mechanismen zu erlangen. In der Literatur sind kaum über diese Abschnitte des Reproduktionstraktes bei der Tierart Rind Informationen zu finden. Die Phase der Geburt und des Puerperiums im Speziellen hat dabei bisher keine der Bedeutung nach ausreichende Beachtung gefunden.

Weiterhin sollte durch klinische Untersuchungen an Kühen nach Dystokie und einer retrospektiven Datenauswertung von Schweregeburten unterschiedlicher Tierarten der Anteil zervikal bedingter Geburtsstockungen im Interspeziesvergleich analysiert und Einflussfaktoren auf das Auftreten dieser Dystokieform sowie Störungen in der puerperalen Zervixinvolution beim Rind charakterisiert werden.

Die Motivation zu dieser Arbeit ergab sich dabei nicht nur aus geburtsphysiologischem Interesse, sondern auch aufgrund der klinischen Problematik, dass bisher keine effektiven Methoden zur Verfügung stehen, die puerperale Involution der Zervix zu beeinflussen. Dieser Umstand bedingt, dass ein grosser Teil der uterinen Involutionsstörungen beim Rind bislang nicht zufriedenstellend therapiert werden können.

Im ersten Teil der Untersuchungen wurde die zervikale Involution von insgesamt 20 pluriparen Kühen nach Eutokie mit Hilfe eines intrazervikal eingeführten Messinstrumentes und sonographischer Darstellung der *Plicae cervicales* erfasst. Zur weiteren histologischen Charakterisierung der postpartalen Vorgänge erfolgte die Aufarbeitung von zervikalen und vaginalen Gewebe, das von insgesamt zwölf Kühen direkt nach Geburt des Kalbes, am fünften und zehnten Tag *post partum* stammten. Zum Vergleich wurde ovines Gewebe untersucht, das *intra partum* gewonnen werden konnte. Neben selektiven Nachweisverfahren von eosinophilen Granulozyten und Mastzellen durch die Sirius-Red- und Toluidinblaufärbung kam eine immunhistologische Darstellung des Progesteron- und Östrogenrezeptors  $\alpha$  zum Einsatz. Die immunhistologischen Ergebnisse zum Auftreten des Östrogenrezeptors

$\alpha$ , welche am vaginalen Gewebe gewonnen werden konnten, liessen sich durch reverse Transkription und nachgeschalteter Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) verifizieren. Die Absicherung der Ergebnisse der RT-PCR erfolgte durch Sequenzierung des Amplifikates und Vergleich der Basensequenz mit publizierten Sequenzen des Östrogenrezeptors  $\alpha$ , da die bovine Sequenz zum Zeitpunkt der Versuche nicht bekannt war.

Im zweiten Teil der Arbeit erfolgte durch klinische Untersuchungen an insgesamt 317 Kühen und der retrospektiven Datenauswertung von 1777 Schweregeburten von Stuten, Schweinen, Hündinnen, Schafen und Rindern, die Analyse der quantitativen Bedeutung zervikal bedingter Dystokien im Interspeziesvergleich. Weiterhin konnten Einflussfaktoren auf das Auftreten von derartigen Geburtsstörungen und zervikalen Involutionstörungen beim Rind näher charakterisiert werden.

Die makroskopische Zervixinvolution lässt sich mit Hilfe von zervimetrischen und sonographischen Methoden in vier Phasen einteilen:

- Progressive Reduktion bis zur sechzehnten Stunde *post partum*
- Protrahierte Reduktion bis zum zweiten Tag *post partum* ohne nachweisbare Ringfaltenbildung
- Protrahierte Reduktion bis zum siebten Tag *post partum* mit zunehmender Ringfaltenbildung
- Erneute, diskrete Öffnung bis zum zehnten Tag *post partum* unter Erhaltung der Faltenstruktur

Der Reduktionsvorgang bis zum siebten Tag *post partum* kann als Summe von zwei Exponentialfunktionen mit unterschiedlichem Steigungskoeffizienten dargestellt werden ( $y = \text{Reduktion 1} \times e^{-b_1 \times t} + \text{Reduktion 2} \times e^{-b_2 \times t}$ ). Ein in vorausgehenden Arbeiten entwickeltes mathematisches Modell zur Deskription der uterinen Regression liess sich nicht auf die Zervix übertragen.

Die erneute Öffnungsphase der Zervix beim Rind gegen Ende des Frühpuerperiums scheint eine tierartspezifische Besonderheit darzustellen. Sie erfolgt zeitlich parallel zu Demarkierungsvorgängen im Uterus und erlaubt so eine effektive Drainage der Lochien.

Lichtmikroskopisch konnte erstmals eine Assoziation der intrapartalen vaginalen und zervikalen Öffnung mit einer massiven Infiltration eosinophiler Granulozyten in die *Tunica mucosa* beim Rind aufgezeigt werden. Diese ließ sich beim Schaf zum gleichen Zeitpunkt nicht detektieren. Die Durchsetzung des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten zeigt im Verlauf des Frühpuerperiums eine organspezifische Dynamik. Die Zellzahl in der Vagina fällt ab, während diese in der Zervix am zehnten Tag *post partum* ihr vorläufiges Maximum erreicht. Die zeitlichen Veränderungen und der Unterschied der Infiltration in beiden Organen ist dabei statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

Mastzellen lassen sich in deutlich geringerer Konzentration und in anderer Lokalisation vorfinden. Diese Zellart befindet sich vor allem in den tieferen Schichten der *Lamina propria mucosae* und in der *Tunica muscularis*. In der Vagina bleibt die Mastzellzahl auf gleichem niedrigen Niveau, während in der Zervix ein Abfall bis zum zehnten Tag *post partum* zu beobachten ist. Auffällig ist weiterhin, die im Vergleich zum Interöstrus niedrigere Zelldichte. Dieser Unterschied stellt sich statistisch hoch signifikant dar ( $p < 0,001$ ).

Immunhistologisch zeigt sich eine zeitliche Veränderung der Progesteron- und Östrogenrezeptorexpression während der ersten zehn Tage *post partum*. In der *Tunica muscularis* findet sich dabei zu jedem Untersuchungszeitpunkt ein stärkeres Vorkommen rezeptorexprimierender Zellen als im Bindegewebe. Diese Differenz ist statistisch hoch signifikant ( $p < 0,001$ ).

In beiden Abschnitte des Reproduktionstraktes ist eine unterschiedliche Kinetik der Rezeptorexpression gegeben. Während in der Vagina kaum Unterschiede in der Menge der progesteronrezeptorpositiven Zellen zu detektieren sind, reduziert sich die Expression des Östrogenrezeptors. Dagegen steigt im zervikalen Gewebe die Nachweishäufigkeit für beide Steroidhormonrezeptoren bis zum zehnten Tag *post partum* an, wobei am fünften Tag eine temporäre Reduktion der Anzahl östrogenrezeptorexprimierender Zellen zu beobachten ist. Die zeitliche Differenz des Östrogenrezeptornachweises liess sich statistisch absichern ( $p < 0,001$ ).

Die verstärkte Expression des Östrogenrezeptors im zervikalen Gewebe gegen Ende des Frühpuerperium lässt eine Beteiligung von Östrogenen an der puerperalen Zervixöffnung vermuten. Auch die Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten, die in der Literatur als östrogenabhängig beschrieben wird, weist in diese Richtung.

Die immunhistologischen Ergebnisse zur Expression des Östrogenrezeptor im vaginalen Gewebe konnte durch RT-PCR betätigt werden ( $p < 0,001$ ). Zur Überprüfung wurde das Amplifikat sequenziert und mit bekannten Teilsequenzen des Östrogenrezeptors  $\alpha$  anderer Haussäugetiere verglichen. Dabei liessen sich Homologien zwischen 90 (Hund) und 97 % (Schaf) nachweisen.

Durch den Interspeziesvergleich anhand des Patientengutes der Klinik konnte gezeigt werden, dass die Zervix beim Wiederkäuer eine dominierende Bedeutung als Dystokieursache besitzt ( $p < 0,001$ ). Diese Tatsache lässt sich aus dem relativ hohen Bindegewebsanteil in diesem Organ bei Schaf und Kuh ableiten. Steigendes Alter und Parität erhöhen die Gefahr, dass sich beim Rind eine mangelhafte Zervixöffnung entwickelt ( $p < 0,05$ ).

Es konnte kein Zusammenhang zwischen einer mangelhaften Öffnung und puerperalen Involutionstörungen der Zervix in der frühpuerperalen Periode gefunden werden. Es zeigte sich jedoch, dass nach Fetotomien, unabhängig vom Patientenalter und der Parität, der Anteil der Tiere mit zervikalen Involutionstörungen ansteigt ( $p < 0,001$ ). Störungen in der Reduktion des Durchmessers des *Canalis cervicalis* treten unabhängig von uterinen Puerperalstörungen auf.

Anhand der Ergebnisse dieser Arbeit konnten erste Befunde zur physiologischen Involution der Zervix im Vergleich zur Vagina des Rindes während der ersten zehn Tage *post partum* dargestellt werden.

Die spezifischen Aufgaben dieses Abschnitte des weichen Geburtsweges unterliegen innerhalb und unmittelbar nach dem Partus spezifischen Steuerungsmechanismen. Erkenntnisse, die am Uterus gewonnen wurden, lassen sich nicht oder nur bedingt auf die Zervix und Vagina übertragen. Weitere Forschungen auf diesem Gebiet werden helfen, das noch lückenhafte Wissen zu füllen und die gewonnen Ergebnisse sowohl zu verifizieren als auch weitergehend zu interpretieren. Dies erscheint nicht nur vom Standpunkt der Grundlagenforschung wünschenswert, sondern auch aus klinischer und tierschützerischer Sicht, um zukünftig Verfahren zur Beeinflussung der Passierbarkeit des *Canalis cervicales* zu entwickeln.

The aim of the present work was to characterise with different, complimentary techniques the physiological involution of the cervix of the cow in comparison to the vagina during the first ten days *post partum*, against the background of changes relating to endocrinology, and to gain primary information regarding the underlying mechanisms. In respective literature, little information about these parts of the reproduction tract of the cow can be found. The phases of delivery and puerperium, in particular, have not yet found the attention relative to its importance.

Moreover, the amount of cervically caused birth hold-ups in an interspecies comparison was to be analysed by clinical examinations of cows after dystocia and a retrospective data evaluation of difficult deliveries in various animal species; then the influencing factors involved in the appearance of this form of dystocia and disorders in the puerperal cervix involution in beef cow were to be characterised.

The motivation to perform this study was not only an interest in birth physiology, but also the clinical problematic that, as yet, no effective methods exist that influence the puerperal involution of the cervix. Therefore a large part of the uterine involution disorders in cow can not yet be sufficiently treated.

In the first part of the examination, the cervical involution in a total of 20 pluripara cows after eutocia was recorded using an intra-cervically introduced gauge and a sonographic presentation of the *plicae cervicales*. For the further histological characterisation of postpartal events, cervical and vaginal material of a total of twelve cows was examined, directly after the birth of the calf, and on the fifth and tenth day *post partum*. For comparison, ovine material gained *intra partum* was examined. Next to selective proofing methods of eosinophilic granulocytes and mast cells by the sirius red and toluidin blue staining, an immune histological presentation of the progesterone and oestrogen receptors  $\alpha$  was used. The immune histological results regarding the appearance of the oestrogen receptor  $\alpha$ , gained from vaginal material, could be verified by a reverse transcription and a posterior polymerase-chain reaction (RT-PCR). The assurance of the RT-PCR results was produced by sequencing the amplificate and comparing the base sequence with published sequences of the

oestrogen receptor  $\alpha$ , since the bovine sequence was not known at the time of the tests.

In the second part of the work followed the analysis of the quantitative significance of cervically caused dystocias in an interspecies comparison. This was achieved through clinical examinations of a total of 317 cows and a retrospective data evaluation of 1777 difficult deliveries of mares, pigs, dogs, sheep and cows. Moreover, influencing factors for the appearance of such dystocias and cervical involution disorders in cow could be proven.

With the help of cervimetric and sonographic methods, the macroscopic cervix involution can be separated into four phases:

- Progressive reduction up to the sixteenth hour *post partum*
- Protracted reduction up to the second day *post partum* without proven build up of ring folds
- Protracted reduction up to the seventh day *post partum* with increasing build up of ring folds
- Discrete re-opening up to the tenth day *post partum*, maintaining the folding structure

The reduction process up to the seventh day *post partum* can be shown as the sum of two exponential functions with different gradient coefficients ( $y = \text{reduction 1} \times e^{-b_1 \times t} + \text{reduction 2} \times e^{-b_2 \times t}$ ). A mathematical model for the description of the uterine regression, developed during former works, could not be applied to the cervix.

The re-opening phase of the cervix of the cow towards the end of the early puerperium seems to present a species specific particularity. Chronologically, it occurs parallel to the demarcation processes in the uterus, in this way allowing for an efficient drainage of the lochia.

For the first time, using a light microscope technique, it was possible to show an association of the intrapartal vaginal and cervical opening with a massive infiltration of eosinophilic granulocytes in the bovine *tunica mucosa*. This phenomenon could not be detected in sheep in the same phase. The infiltration of the tissue with eosinophilic granulocytes showed an organ specific dynamic during the process of the early puerperium. The number of cells in the vagina decreases while in the cervix

the number of cells reaches its preliminary maximum on the tenth day *post partum*. The chronological changes and the difference in the infiltration in both organs is thereby of statistically high significance ( $p < 0.001$ ).

Mast cells can be found in a significantly lower concentration and in other localisations. This kind of cell exists mainly in the deeper layers of the *lamina propria mucosae* and in the *tunica muscularis*. In the vagina the number of mast cells stays at the same low level, while a decline can be seen in the cervix up to the tenth day *post partum*. Also striking is the lower cell density in comparison to the interoestrus. This difference is of statistically high significance ( $p < 0.001$ ).

Regarding immune histology, there is a chronological change in progesterone and oestrogen receptor expression during the first ten days *post partum*. Thereby, a higher incidence of receptor expressing cells can be found in the *tunica muscularis* than in the connective tissue at any time an examination takes place. This difference is of high statistical significance ( $p < 0.001$ ).

In the two parts of the reproduction tract a different kinetic of the receptor expression is given. While differences in the amount of progesterone receptor positive cells in the vagina can hardly be detected, the expression of the oestrogen receptor diminishes. In opposition, the frequency of proving both steroid hormone receptors in the cervical tissue increases up to the tenth day *post partum*, whereby a temporary decrease in the number of the oestrogen receptor expressing cells can be observed. The chronological difference in the proving of oestrogen receptor could be statistically confirmed ( $p < 0.001$ ).

The increased expression of the oestrogen receptor in the cervical tissue by the end of the early puerperium allows for the supposition of the involvement of oestrogens in the puerperal opening of the cervix. Also the infiltration of the tissue with eosinophilic granulocytes, described as being oestrogen dependent in the literature, hints towards the same direction.

The immune histological results regarding the expression of the oestrogen receptor in the vaginal tissue could be proven RT-PCR ( $p < 0.001$ ). For cross-checking the amplicate was sequenced and compared with other known partial sequences of the oestrogen receptor  $\alpha$  in other domestic mammals. Thereby homologies between 90% (dog) and 97 % (sheep) could be proven.

By means of the interspecies comparison among a clinic's patient stock, it could be shown that the cervix of the ruminants has a dominant meaning as a cause of dystocia ( $p < 0.001$ ). This fact can be deduced from the relatively high percentage of connecting tissue in this organ in sheep and cow. Increases in age and parity increase the danger that an insufficient opening of the cervix develops in cow ( $p < 0.05$ ).

A correlation between insufficient opening and puerperal involution disorders of the cervix in the early puerperal period could not be found. It showed, however, that the percentage of animals with cervical involution disorders increases after fetotomies, independent of age and parity of the patients ( $p < 0.001$ ). Disorders in the reduction of the diameter of the *canalis cervicalis* occur independently of uterine puerperal disorders.

On the basis of the results of this work first findings regarding the physiological involution of the cervix in comparison to the vagina during the first ten days *post partum* could be shown.

The specific tasks of these parts of the soft birth path underlie specific steering mechanisms during and directly after the partus. Insights that have been achieved regarding the uterus cannot, or only partly, be transcribed to the cervix and the vagina. Further research on this sector will help to contribute to the still incomplete knowledge, to verify and further interpret the achieved results. This appears desirable, not only from the point of view of basic research, but also from the clinical and animal protection points of view in order to develop future methods that influence the navigability of the *canalis cervicales*.

Abusineina, M.E. (1969): Effect of parity and pregnancy on the dimensions and weight of the cervix uteri of cattle.

Br. Vet. J. 125, 12

Ackermann, H. (1998):

BIAS für Windows Version 7.0. Epsilon-Verlag, Hochheim, Darmstadt

Adams, W.M., Wagner, W.C. (1970): The role of corticoids in parturition.

Biol. Reprod. 3, 223-231

Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A. (1997): Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs.

Nucleic Acids Res. 25, 3389-3402

Aronica, S.M., Katzenellenbogen, B.S. (1991): Progesterone receptor regulation in uterine cells: stimulation by estrogen, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, and insulin-like growth factor I and suppression by antiestrogens and protein kinase inhibitors.

Endocrinology 128,2045-2052

Aslan, S., Handler, J., Wesenauer, G., Arbeiter, K. (2002): Eignung der sonographischen Beurteilung von Ovardynamik und Uterusinvolution zur Fertilitätsprognose im Puerperium des Rindes.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 109, 52-55

Asselin, E., Drolet, P., Fortier, M.A. (1997): Cellular mechanisms involved during oxytocin-induced prostaglandin F<sub>2</sub> α production in endometrial epithelial cells in vitro: role of cyclooxygenase-2.

Endocrinology 138, 4798-4805

Aughey, E., Calder, A.A., Coutts, J.R., Fleming, R., McManus, T.J., Munro, C.D. (1983): Pregnancy-associated changes in the physical and microscopic characteristics of the ovine cervix.

J. Anat. 136, 389-99

Aupperle, H., Ozgen, S., Schoon, H.A., Schoon, D., Hoppen, H.O., Sieme, H., Tannapfel, A. (2000): Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare.

Equine Vet. J. 32, 228-232

Averikhin, A.I., Vyatkin, A.N. (1976): Mast cells in diseases of the genital organs of cows (endometritis).

Veterinariya 10, 58-61

Baier, W., Berchtold, M., Bostedt, H., Brummer, H. (1968): Erfahrungen über den Kaiserschnitt beim Rind in der linken Flanke unter Berücksichtigung des postoperativen Verlaufes.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 18, 362-365

Baier, W., Bostedt, H., Schmid, G. (1973): Über die Fruchtbarkeitslage nach Schweregeburten beim Rind.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 86, 3-7

Baier, W., Berchtold, M. (1984a): Physiologie des Puerperiums.

In: Baier, W., Schaetz, F. (1984): Tierärztliche Geburtskunde, 5. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 215-216

Baier, W., Berchtold, M. (1984b): Verletzungen des Geburtsweges.

In: Baier, W., Schaetz, F. (1984): Tierärztliche Geburtskunde, 5. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 218-228

Bamberg, E. (1994): Chemie, Biochemie und Nachweis der Steroidhormone.

In: Döcke, F. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie, 3. Auflage, Gustav Fischer Verlag Jena, 31-40

Barth, T., Wollrab, J., Kießling, J. (1982): Untersuchungen zum Einsatz von Spasmitrat VEB Berlin-Chemie zur Geburtserleichterung beim Rind.

Mh. Vet. Med. 37, 384-389

Bassett, E.G. (1962): Infiltration of eosinophils into modified connective tissue of oestrus and pregnant animals.

Nature 194, 1259-1261

Bastidas, P., Troconiz, J., Verde, O; Silva, O. (1984): Effects of restricted suckling on ovarian activity and uterine involution in Braham cows.

Theriog. 21, 525-532

Beiling, K. (1906): Beiträge zur makroskopischen und mikroskopischen Anatomie der Vagina und des Uterus der Säugetiere. Arch. Mikroskop.

Anat. Entwicklungsgesch. 67, 573-637; zitiert nach Schuh (1993)

Bekana, M., Jonsson, P., Kindahl, H. (1996): Intrauterine bacterial findings and hormonal profiles in post-partum cows with normal puerperium.

Acta. Vet. Scand., 37, 251-263

Belayet, H. M., Kanayama, N., Khatun, S., Sumimoto, K., Kobayashi, T., Terao, T. (1999): Binding of interleukin-8 to heparan sulphate enhances cervical maturation in rabbits. Mol. Hum. Reprod. 5, 261-269.

Benesch, F. (1952): Das Muttertier unmittelbar nach der Geburt.

In: Benesch, F. (1952): Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe und Gynäkologie. Urban & Schwarzenberg, Wien, Berlin, 209-211

Berchtold, M., Rüscher, P. (1993a): Torsio uteri beim Rind.

In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 232-239

Berchtold, M., Rüscher, P. (1993b): Enge der Scheide.

In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 227-228

Birgel, E.H., Zerbe, H., Grunert, E. (1996): Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Anzeichen der nahenden Abkalbung und Steroidhormonprofilen.

Prakt. Tierarzt 77, 627-630

Blazquez, N.B., Batten, E.H., Long, S.E., Perry, G.C. (1987): Histology and histochemistry of the bovine reproductive tract caudal to the cervix Part II: The vagina and associated structures.

Br. Vet. J. 143, 337-343

Bleul, U., Sobiraj, A. (2001): Hämatologische Verlaufsuntersuchungen beim Rind intra und post partum. Teil 1: Einfluss des Schweregrades der Geburt.

Tierärztl. Praxis 29, 276-283

Bleul, U., Sobiraj, A., Bostedt, H. (2002): Evaluation of the cell-Dyn 3500 haematology analyser for bovine blood.

Comp. Clin. Patho. 4, 201-210

Bokström, H., Brannström, M., Alexandersson, M., Norstrom, A (1997): Leukocyte subpopulations in the human uterine cervical stroma at early and term pregnancy.

Hum. Reprod. 12, 586–590

Boos, A. (2000): Immunohistochemical assessment of collagen types I, III, IV and VI in biopsy samples of the bovine uterine wall collected during the oestrous cycle.

Cell. Tiss. Org. 167, 225-238

Bostedt, H., Berchtold, M. (1968): Veränderungen der Glukose-Konzentration und der Zahl der eosinophilen Leukozyten im Blut von Rindern intra und post partum.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81, 243-245

Bostedt, H., Günzler, D., Schels, H. (1979): Klinische und bakteriologische Befunde am Genitaltrakt von Rindern nach gestörten Geburten in den ersten drei Wochen des Puerperiums.

Zbl. Vet. Med. B. 26, 397-412

Bostedt, H., Kozicki, L.E., Finger, K.H., Karg, H. (1985): Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Haltungsbedingungen auf die post partalen Reparationsvorgänge am Genitaltrakt von Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung der Progesteronprofile.

Zuchthygiene 20, 17-33

Bostedt, H. (1987): Vergleichende Darstellung der postpartalen Periode von Schaf, Schwein und Pferd.

Fortschritte der Fertilitätsforschung 16, 126-136

Bostedt, H. (1988): Zu Problemen in der Peripartalperiode des Schafes: Ergebnisse einiger Untersuchungen.

Prakt. Tierarzt 69, 24-29

Bostedt, H., Maurer, G. (1990): Beziehungen zwischen gynäkologischer Überwachungsintensität in der Post-partum-Periode und Fertilitätsresultat in Milchkuhbeständen.

Tierärztl. Praxis 18, 449-457

Bostedt, H. (1993): Bakterielle Erkrankungen im Puerperium.

In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 406-411

Bostedt, H. (1996a): Normale Geburt.

In: Bostedt, H., Dedie, K. (1996): Schaf- und Ziegenkrankheiten, 2. Auflage, Verlag Ulmer, 509-522

Bostedt, H. (1996b): Normales Puerperium.

In: Bostedt, H., Dedie, K. (1996): Schaf- und Ziegenkrankheiten, 2. Auflage, Verlag Ulmer, 549-551

Bostedt, H. (2002): Persönliche Mitteilung

Bracher, V., Allen, W.R. (1992): Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: I. Findings in normal fertile mares.

Equine Vet. J. 24, 274-288.

Bracken, K.E., Elger, W., Jantke, I., Nanninga, A., Gellersen, B. (1997): Cloning of guinea pig cyclooxygenase-2 and 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase complementary deoxyribonucleic acids: steroid-modulated gene expression correlates to prostaglandin  $F_2 \alpha$  secretion in cultured endometrial cells.

Endocrinology 138, 237-247

Branscheid, W., Springmann, B., Springmann K., Hahn, W., Holtz, W. (1988): Die Wirkung der intravaginalen PRID-Spirale auf das Scheidenmilieu des Rindes.

Zuchthygiene 23, 160-169

Breeveld-Dwarkasing, V.N.A., Van der Weijden, G.C., Taverne, M.A.M., Van Dissel-Emiliani, F.M.F. (2000): The bovine cervix during the oestrus cycle: Regional differences in morphology and density of steroid hormone receptors.

Reprod. Dom. Ani. 35, 120-124

Breeveld-Dwarkasing, V.N.A. (2002): The bovine cervix explored: The cow as a model for studies on functional changes in the uterine cervix.

Proefschrift, Universiteit Utrecht, Faculteit der Diergeneeskunde

Breeveld-Dwarkasing, V.N.A., Struijk, P.C., Eijskoot, F, Lotgering, F.K, Van Dissel-Emiliani, F.M.F., Van der Weijden, G.C., Taverne, M.A.M., (2002): Ultrasonic cervimetry to study the dilatation of the caudal cervix of the cow at parturition.

Theriog. 57, 1989-2002

Bryman, I., Norström, A., Lindblom, B. (1985): Has cervical smooth muscle any physiological role in the human ?

Acta Physiol. Hung. 65, 327-330

Buch, N.C., Tyler, W.J., Casida, L.E. (1955): Postpartum estrus and involution of the uterus in an experimental herd of Holstein-Frisian cows.

J. Dairy Sc. 38, 73-79

Busch, W., Schulz, J. (1993): Geburtshilfe bei Haustieren, Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 272-286

Cabrol, D., Carbonne, B., Bienkiewicz, A., Dallot, E., Alj, A.E., Cedard, L. (1991): Induction of labor and cervical maturation using mifepristone (RU 486) in the late pregnant rat. Influence of a cyclooxygenase inhibitor (Diclofenac).

Prostaglandins 42, 71-79

Chwalisz, K., Benson, M., Scholz, P., Daum, J., Beier, H.M., Hegele-Hartung, C. (1994): Cervical ripening with the cytokines interleukin 8, interleukin 1  $\beta$  and tumour necrosis factor  $\alpha$  in guinea-pigs.

Hum. Reprod. 9, 2173–2181

Chwalisz, K., Beier, H.M., Garfield, R.E. (1998): Zellbiologische und funktionelle Aspekte der Dynamik des Bindegewebes der Cervix uteri.

Reproduktionsmedizin 14, 205-214

Currie, W.B., Gorewit, R.C., Michel, F.J. (1988): Endocrine changes, with special emphasis on oestradiol-17 $\beta$ , prolactin and oxytocin, before and during labour and delivery in goats. J. Reprod. Fert. 82, 299-308

Critchley, H.O., Kelly, R.W., Lea, R.G., Drudy, T.A., Jones, R.L., Baird, D.T. (1996): Sex steroid regulation of leukocyte traffic in human decidua. Hum. Reprod. 11, 2257–2262

Danforth, D.N. (1947): The fibrous nature of the human cervix and its relation to the isthmic segment in gravid and nongravid uteri. Am. J. Obst. Gynecol. 80, 939-945

Danforth, D.N. (1983): The morphology of the human cervix. Clin. Obstet. Gynecol. 26, 1

Darvelid, A. W., Linde-Forsberg, C. (1994): Dystocia in the bitch: a retrospective study of 182 cases. J. Small Anim. Pract. 35, 402-407

De Kruif, A. (1995): Komplikationen des normalen Partus beim Rind. Prakt. Tierarzt 76, 850-852

Dixon, W.J. (1993): BMDP Statistical Software Manual. Berkeley, University of California Press

Döcke, F. (1994): Wirkung der Keimdrüsenhormone. In: Döcke, F. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie, Gustav Fischer Verlag Jena, 418-444

Dong, Y.L., Gangula, P.R., Fang, L., Yallampalli, C. (1996): Differential expression of cyclooxygenase-1 and -2 proteins in rat uterus and cervix during the estrous cycle, pregnancy, labor and in myometrial cells. Prostaglandins 52, 13-34

Downing, S.J., Sherwood, O.D. (1986): The physiological role of relaxin in the pregnant rat. IV. The influence of relaxin on cervical collagen and glycosaminoglycans. Endocrinology 118, 471-479

Duchesne, M.J., Badia, E. (1992): Immunohistochemical localization of the eosinophil major basic protein in the uterus horn and cervix of the rat at term and after parturition.  
Cell Tissue Res. 270, 79-86

Duchnes, M., Fredriksson, G., Kindahl, H., Aiumlamai, S. (1993): Effect of intracervical administration of a prostaglandin E<sub>2</sub> gel in pregnant and non-pregnant heifers.  
Vet. Rec. 133, 546-549

Duncanson, G. (1985): Uterine torsion in cattle – a review of 18 severe cases.  
Br. Cattle Vet. Ass. Proc. 1984-1985, 133-135

Edqvist, L.E., Ekman, L., Gustafsson, B., Johansson, D.D.B. (1973): Peripheral plasma levels of oestrogens and progesterone during late bovine pregnancy.  
Acta Endocrinologia 72, 81-88

Egarter, C., Husslein, P. (1998): Zervix.  
In: Egarter, C., Husslein, P. (1998): Geburtsregulation und Wehenbildung. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 49-55

Eike, B. (1984): Klinische Untersuchungen an schnittentbundenen Sauen im frühen Puerperium unter besonderer Berücksichtigung der gynäkologischen und wirtschaftlichen Aspekte.  
Diss. Med. Vet., Hannover

Eissa, H.M., El-Beley, M.S. (1990): Sequential changes in plasma progesterone, total oestrogens and corticosteroids in cow throughout pregnancy and around parturition. Arch. Exp. Veterinärmed 44, 639-644

Eitel, J. (1990): Geburtsstörungen bei der Ziege.  
Diss. Med. Vet. Zürich

Enerbäck, L. (1966): Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. 1. Effects of fixation.  
Acta. Path. Microbiol. Scandinav. 66, 303 - 312

Enerbäck, L., Norrby, K. (1989): The mast cell.  
Current Topics in Pathology, 169-204

Fateh El-Bab, M.R., El-Naggar, M.A. (1975): A histological and histochemical study of the cervix uteri of the buffalo cow during the estrus cycle.

Zbl. Vet. Med. A 22, 164-175

Fitzpatrick, R.J., Liggins, G.C. (1980): Effects of prostaglandins on the cervix of pregnant women and sheep.

In: Naftolin, F.; Stubblefield, P.G. (1980): Dilatation of the cervix. Verlag Raven Press, New York, 287-300

Frazer, G.S., Perkins, N.R., Blanchard, T.L., Orsini, J., Threlfall, W. R. (1997): Prevalence of fetal maldispositions in equine referral hospital dystocias.

Equine Vet. J. 29,111-116.

Fredriksson, G., Kindahl, H., Sandstedt, K., Edqvist, L. E. (1985): Intrauterine bacterial findings and release of PGF<sub>2α</sub> in the postpartum dairy cow.

Zentralbl. Vet. Med. A 32, 368-380

Fosang, A.J., Handley, C.J., Santer, V., Lowther, D.A., Thorburn, G.D. (1984): Pregnancy related changes in the connective tissue of the ovine cervix.

Biol. Reprod. 30, 1223-1235

Fosang, A.J., Handley, C.J. (1988): Connective tissue remodelling in the ovine cervix during pregnancy and at term.

Connect. Tissue Res. 17, 277-85

Fuchs, A.R., Fields, M.J., Freidman, S., Shemesh, M., Ivell, R. (1995): Oxytocin and the timing of parturition. Influence of oxytocin receptor gene expression, oxytocin secretion, and oxytocin-induced prostaglandin F<sub>2α</sub> and E<sub>2</sub> release.

Adv. Exp. Med. Biol. 395, 405-420

Galeotti, M., Belluzzi, S., Volpatti, D., Bergonzoni, M.L., Agaro E.D., Volpelli, L.A. (1997): Evaluation of mast cells in calf and heifers uteri.

Theriog. 48, 1301-1311

Gaudet, D. A. (1985): Retrospective study of 128 cases of canine dystocia.

J. Am. Ani. Hosp. Asso. 21, 813-818

Gier, H.T., Marion, G.B. (1968): Uterus of the cow after parturition: Involutional changes. Am. J. Vet. Res. 29, 83-96

Glock, H. (1996): Die Karunkelextirpation beim Rind – Nachbehandlung und Anwendung eines neuen Zervixdilators. Tierärztl. Praxis 24, 103-107

Gloor, H.F. (1973): Untersuchungen zur Physiologie und Pathologie der Cervix uteri des Rindes. Experientia Supplementum 19, Birkhäuser Verlag, Basel/Stuttgart

Göbel, W. (1990): Ultrasonographisch kontrollierte transzervikale Embryonengewinnung bei kleinen Wiederkäuern sowie makroskopische und histologische Untersuchungen zur Überprüfung von deren Auswirkung auf die Cervix uteri. Diss. Med. Vet. Hannover

Gonzales, H.E., Crowell, W.A., Caudle, A.B., Thompson, F.N. (1985): Morphometric studies of the bovine uterus: microscopic lesions and retrospective history. Am. J. Vet. Res. 46, 2588-2594

Götze, R. (1950): Neuzeitliche Embryotomie bei Pferd und Rind. 4. Auflage, Verlag M. u. H. Schaper, Hannover

Grau, H., Walter, P. (1958): Zum Feinbau und Schleimhautsekretion der Cervix uteri der Wiederkäuer. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 71, 423-426

Gregory, R.M. (1977): Untersuchungen über die Dauer der Öffnungsphase beim Rind sowie ihre Beeinflussung mit einem  $\beta$ -Rezeptoren-stimulierenden Präparat. Diss. Med. Vet. Hannover

Grunert, E. (1993a): Das normale Puerperium. In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 105

Grunert, E. (1993b): Geburtsverletzungen und Geburtsschäden des Muttertieres.  
In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 352-379

Grunert, E. (1993c): Die normale Geburt.  
In: Richter, J., Götze R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 83-104

Grunert, E. (1999): Befunderhebung an der Zervix.  
In: Grunert, E., Berchtold, M. (1999): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind, Parey-Verlag, Berlin, 37

Hafez, B., Hafez, E.S.E. (2000): Anatomy of female Reproduction.  
In: Hafez, B., Hafez, E.S.E. (2000): Reproduction in farm animals. Lippincott Williams & Wilkins, 13-29

Hardingham, T.E., Fosang, A.J. (1992): Proteoglycans: many forms and many functions.  
FASEB J. 6, 861-870

Harkness, R.D. (1964): The physiology of the connective tissue of the reproductive tract.  
In: International review of connective tissue research, Vol. 2, 155-205

Hauser, B. (2000): Ultrasonographische Untersuchungen der postpartalen Uterusinvolution beim Schaf unter besonderer Berücksichtigung des Geburtsverlaufes.  
Diss. Med. Vet. Gießen

Hauser, B., Bostedt H. (2002): Ultrasonographic observation of the uterine regression in the ewe under different obstetrical conditions.  
J. Vet. Med. A., 49, 511-516

He, S., Peng, Q., Walls, A.F. (1997): Potent induction of a neutrophil and eosinophil-rich infiltrate in vivo by human mast cell tryptase: selective enhancement of eosinophil recruitment by histamine.  
J. Immun. 159, 6216-6225

Heuwieser, W., Hartig, U., Offeney, F., Grunert, E. (1987): Zur Bedeutung von Glukokortikoiden als Steßparameter beim Rind im peripartalem Zeitraum.  
J. Vet. Med. A. 33, 178-187

Heydorn, R.A., Adams, N.R. (1979): Comparative morphology and mucus histochemistry of the ruminant cervix: Differences between crypt and surface epithelium.  
Biol. Reprod. 21, 557-562

Hibbs, M.S., Mainardi, C.L., Kang, A.H. (1982): Type-specific collagen degradation by eosinophils.  
Biochem. J. 207, 621-624

Hodgins, M.B, Spike, R.C, Mackie, R.M, MacLean, A.B. (1998): An immunohistochemical study of androgen, oestrogen and progesterone receptors in the vulva and vagina.  
Br. J. Obstet. Gynaecol. 105, 216-222.

Hoffmann, B., Schams, D., Gimenez, T., Ender, M.L., Hermann, C., Karg, H. (1973): Changes of progesterone, total oestrogens, corticosteroids, prolactin and LH in bovine peripheral plasma around parturition with special reference to the effect of exogenous corticoids and a prolactin inhibitor respectively.  
Acta. Endocrinol. 73, 385-395

Hoffmann, B. (1976): Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind. Entwicklung von Messverfahren und physiologischen Daten.  
Beihefte zum Zentralblatt für Veterinärmedizin, 26, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg

Hoffmann, B., Wagner, W.C., Gimenez, T. (1976): Free and conjugated steroids in maternal and fetal plasma in the cow near term.  
Biol. Reprod. 15, 126-133

Hoffmann, B., Wagner, W.C., Hixon, J.E., Bahr, J. (1979): Observations concerning the functional status of the corpus luteum and the placenta around parturition in the cow.  
Anim. Reprod. Sci., 2, 253-266

Hoffmann, B., Höveler, R., Hasan, S.H., Failing, K. (1992): Ovarian and pituitary function in dogs after hysterectomy.  
J. Reprod. Fert. 96, 837-845

Hoffmann, B., Gentz, F., Failing, K. (1996): Investigations into the course of progesterone-, oestrogen- and eCG-concentrations during normal and impaired pregnancy in the mare. *Reprod. Dom. Anim.* 31, 717-723

Hoffmann, B., Goes de Pinho, T., Schuler, G. (1997): Determination of free and conjugated oestrogens in peripheral blood plasma, feces and urine of cattle throughout pregnancy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 105, 296-303

Holligsworth, M., Gallimore, S. (1981): Evidence that cervical softening is independent of increasing uterine contractility. *J. Reprod. Fert.* 58, 95-99

Huszar, G., Naftolin F. (1984): The myometrium and uterine cervix in normal and preterm labor. *N. Engl. J. Med.* 30, 571-81

Ing, N.H., Tornesi, M.B. (1997): Estradiol up-regulates estrogen receptor and progesterone receptor gene expression in specific ovine uterine cells. *Biol. Reprod.* 56, 1205-1215

Jackson, P.G.G. (1995): Causes of Dystocia.  
In: Jackson, P. G. G. (1995): *Handbook of veterinary obstetrics*. W. B. Sanders, 31

Jain, N.C. (1993a): The Eosinophils.  
In: Jain, N.C. (1993): *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea Fiebiger Philadelphia, 247-257

Jain, N.C. (1993b): The Basophils and Mast Cells.  
In: Jain, N.C. (1993): *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea Febiger Philadelphia, 258-265

Jeziorka, M., Salamonsen, L.A., Wodley, D.E. (1995): Mast cell and eosinophil distribution and activation in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Biol. Reprod.* 53, 312-320

Jolly, S., Coignoul, F., Gabriel, A., Desmecht, D. (1999): Detection of tryptase in bovine mast cells: comparison of enzyme- and immunohistochemistry.

J. Comp. Path. 120, 269-279

Jungblut, P.W., Adamski, J., Engel, P., Henning, M., Hohls, E., Jakob, F., Kallweit, E., Szendro, P., Thole, H., Sierralta, W.D. (1991): Differentiation between receptor-mediated actions of estradiol and effects of estradiol metabolism.

In: Proc. Acad. Sinica Symposion 1990; Advances in Reprod. Biol., 106-118

Junqueira, L.C., Zugaib, M., Montes, G.S., Toledo, O.M., Krisztan, R.M., Shigihara, K.M. (1980): Morphologic and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilatation.

Am. J. Obstet. Gynecol. 138, 273-281

Kaidi, R., Brown, P.J., David, J.S., Etherington, D.J., Robins, S.P. (1991): Uterine collagen during involution in cattle.

Matrix 11, 101-107

Kaidi, R., Brown, P.J., David, J.S., Etherington, D.J., Robins, S.P. (1995): Uterine collagen during pregnancy in cattle.

Vet. Res. 26, 87-91

Kamimura, S., Oghi, T., Taka-Hashi, M., Tsukamoto, T. (1993): Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows.

J. Vet. Med. Sci. 55, 643-647

Katayama, M.L., Federico, M.H., Brentani, R.R., Brentani, M.M. (1998): Eosinophil accumulation in rat uterus following estradiol administration is modulated by laminin and its integrin receptors.

Cell. Adhes. Commun., 5409-5424

Kieschke, S. (1919): Anatomische und histologische Untersuchungen über die Cervix uteri von Bos taurus.

Diss. Med. Vet., Leipzig, zitiert nach Schuh (1993)

Kindahl, H., Bekana, M., Kask, K., Königson, K., Gustafsson, H., Odensvik, K. (1999):  
Endocrine aspects of uterine involution in the cow.  
Reprod. Dom. Anim. 34, 261-268

Kjellen, L., Lindahl, U. (1991): Proteoglycans: structures and interactions.  
Annu. Rev. Biochem. 60, 443-475

Klauke, M (1991): Untersuchungen zum Verlauf der Östrogen- und  
Gestagenrezeptorkonzentrationen im Myometrium während des Zyklus und Gravidität beim  
Rind sowie unter der Geburt beim Schaf.  
Diss. Med. Vet. Gießen

Klauke, M., Hoffmann, B. (1992): Progesterone and oestrogene receptors in the myometrium  
of the cow during the estrous cycle and pregnancy and of the sheep at the time of parturition.  
Anim. Reprod. Sci. 29, 195-203

Kloß, S., Wehrend, A., Failing, K., Bostedt, H. (2002): Erhebungen zur Art und Häufigkeit  
mechanischer Geburtsstörungen beim Schaf unter besonderer Berücksichtigung des Prolaps  
vaginae ante partum.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 115, 247-251

Knudsen, U.B., Uldbjerg, N., Rechberger, T., Fredens, K. (1997): Eosinophils in human  
cervical ripening.  
Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 72, 165-168

Köhler, W., Schachtel, G., Voleske, P. (2001):  
Biostatistik. 3. Auflage. Springer-Verlag

Koob, T.J., Ryan, K.J. (1980): Collagen dynamics and extensibility in the female reproductive  
tract.  
In: Naftolin, F., Stubblefield, P.G. (Hrsg.): Dilatation of the cervix, Verlag Raven Press, New  
York, 45-58

Koolman, J., Röhm, K.H. (1994): Bestandteile der extrazellulären Matrix.  
In Koolman, J., Röhm, K.H.: Taschenatlas der Biochemie. Thieme-Verlag, 308-309

Kündig, H., Thun, R., Zerobin, K., Bachmann, B. (1990): Die Uterusmotorik des Rindes während Spätgravidität, Geburt und Puerperium. I. Die Spontanmotorik. Schweiz. Arch. Tierheilk. 132, 77-84

Kurita, T., Lee, K.J., Cooke, P.S., Taylor, J.A., Lubahn, D.B., Cunha, G. R. (2000): Paracrine regulation of epithelial progesterone receptor by estradiol in the mouse female reproductive tract. Biol. Reprod. 62, 821-830.

Lagerlöf, L., Rosenberger, G. (1960): Krankhafte Zustände im weichen Geburtsweg. In: Richter, J., Götze, R. (1960): Tiergeburtshilfe. 2. Auflage, herausgegeben von G. Rosenberger und H. Tillmann, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 496-500

Laube, D.W., Zlatnik, F.J., Pitkin, R.M. (1986): Preinduction cervical ripening with prostaglandin E2 intracervical gel. Obstet. Gynecol. 68, 54-57

Lee, Y.H., Howe, R.S., Sha, S.J., Teuscher, C., Sheehan, D.M., Lyttle, C.R. (1989): Estrogen regulation of an eosinophil chemotactic factor in the immature rat uterus. Endocrinology 125, 3022-3028.

Legder, W.L., Webster, M., Harrison, L.P., Anderson, A.B.M., Turnbull, A.C. (1985): Increase in cervical extensibility during labour induced after isolation of the cervix from the uterus in the pregnant sheep. Am. J. Obstet. Gynecol. 151, 397-402

Lehmacher, W. (1981): Simultaneous test procedure in configural frequency analysis. Biom. J. 5, 429-436

Leidl, W., Stolla, R., Schmid, G. (1993): Zur Schweregeburt bei der Stute. Tierärztl. Umschau 48, 408-412

Leiser, R. (1999): Weibliche Geschlechtsorgane. In: Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band II: Eingeweide, Parey, Berlin, 393-467

Leppert, P.C., Keller, S., Cerreta, J., Mandl, I. (1982): Conclusive evidence for the presence of elastin in human and monkey cervix.

Am. J. Obstet. Gynecol. 142, 179-182

Leppert, P.C., Cerreta, J., Mandl, I. (1986): Orientation of elastic fibers in the human cervix.

Am. J. Obstet. Gynecol. 155, 219-224

Leppert, P.C. (1995): Anatomy and physiology of cervical ripening.

Clin. Obstet. Gynecol. 38, 267-279

Leppi, T.J., Repesh, L.A., Furcht, L.T., Bartzan, P.J., Holt, G.E. (1982):

Immunohistochemical localization of fibronectin in human and rat uterine cervixes.

J. Histochem. Cytochem. 30, 413-417

Liebich, H.G. (1990a): Weibliche Geschlechtsorgane.

In: Liebich, H.G. (1990): Funktionelle Histologie, Schattauer Verlag, 255-273

Liebich, H.G. (1990b): Interzellulärsubstanz.

In: Liebich, H.G. (1990): Funktionelle Histologie, Schattauer Verlag, 48-53

Liggins, G.C. (1978): Ripening of the cervix.

Semin. Perinatol. 2, 261-271

Lillie, R.D. (1951): Histopathologic technic and practical histochemistry. The Blakiston Company, New York

Lübke, A., Günzel-Apel, A.R., Waberski, D. (1997): Vaginal endoscopy in the bitch: morphological features of the cervix throughout the oestrus cycle and pregnancy.

Reprod. Dom. Ani. 32, 117

Luque, E.H., Montes, G.S. (1989): Progesterone promotes a massive infiltration of the rat uterine cervix by the eosinophilic polymorphonuclear leukocytes.

Anat. Rec. 223, 257-265

Luque, E.H., Ramos, J.G., Rodriguez, H.A., Munoz de Toro, M. (1996): Dissociation in the control of cervical eosinophilic infiltration and collagenolysis at the end of pregnancy or after pseudopregnancy in ovariectomized steroid-treated rats.

Biol. Reprod. 55, 1206-1212

Luque, E.H., Bassani, M.M., Ramos, J.G., Maffini, M., Canal, A., Kass, L., Caldini, E.G., Ferreira J.M.C., Munoz de Toro, M., Montes, G.S. (1997): Leukocyte infiltration and collagenolysis in cervical tissue from intrapartum sheep.

J. Vet. Med. A 44, 501-510

Luque, E.H., Munoz de Toro, M., Ramos, J.G., Rodriguez, H.A., Sherwood, O.D. (1998): Role of relaxin and estrogen in the control of eosinophilic invasion and collagen remodeling in rat cervical tissue at term.

Biol. Reprod. 59, 795-800

Manabe, Y., Yoshida, Y. (1986): Collagenolysis in human vaginal tissue during pregnancy and delivery: A light and electron microscopic study.

Am. J. Obstet. Gynecol. 155: 1060-1066

Marinov, U., Lovell, J.E. (1967): Secretory and ciliated cells of the bovine cervix.

Am. J. Vet. Res. 28, 1763-1772

Marion, G.B., Norwood, J.S., Gier, H.T. (1968): Uterus of the cow after parturition: Factors affecting regression.

Am. J. Vet. Res. 29, 71-75

Marone, M., Mozzetti, S., Ritis, D.D., Pierelli, L., Scambia, G. (2001): Semiquantitative RT-PCR analysis to assess the expression levels of multiple transcripts from the same samples.

Biol. Proced. Online 3, 19-25

Matsuda, H., Okuda K., Imori, T. (1983): Tissue concentrations of eosinophils in the bovine oviduct and uterus at different stages of the oestrus cycle.

Res. Vet. Sci. 34, 369-370

Maurer, G. (1983): Ergebnisse regelmäßiger Fertilitätskontrolle in Milchkuhbeständen – gleichzeitig ein Beitrag über die Bedeutung der hormonellen Induktion der Ovarfunktion am Ende der zweiten Woche post partum.

Diss. Vet. Med. Giessen

Minamoto, T., Arai, K., Hirakawa, S., Nagai, Y. (1987): Immunohistochemical studies on collagen types in the uterine cervix in pregnant and nonpregnant states.  
Am. J. Obstet. Gynecol. 156, 138-44

Mosselman, S., Polman, J., Dijkema, R. (1996): ER $\beta$ : Identification and characterisation of a novel human estrogen receptor.  
FEBS letters 392, 49-53

Möstl, E., Möstl, K., Choi, H.S., Dreier, H.K., Stockl, W., Bamberg, E. (1985): Plasma levels of androstendione, epitestosterone, testosterone and oestrogens in cows at parturition.  
J. Endo. 89, 251-255

Muramatsu, M., Inoue, S. (2000): Estrogen Receptors: How do they control reproductive and nonreproductive functions?  
Biochem. Biophysic. Research. Comm. 270, 1-10

Nakaya, T. (1973): Studies on acid mucopolysaccharides in the human cervix uteri.  
Nagoya Med. J. 18, 295-319

Nash, M. A., Lenzi, R., Platsoucas, C.D., Freedman, R.S. (1998): RT-PCR quantitation of cytokine response in vivo from specimens containing small numbers of cells during bioimmunotherapy.  
J. Immunol. Meth. 219, 169-179

Noakes, D. (2001a): Maternal dystocia: causes and treatment.  
In: Noakes, D.E., Parkinson T.J., England, G.C.W. (2001): Arthur`s Veterinary Reproduction and Obstetrics, 8. Auflage, W.B. Saunders, 229-244

Noakes, D. (2001b): The puerperium and the care of the newborn.  
In: Noakes, D.E., Parkinson T.J., England, G.C.W. (2001): Arthur`s Veterinary Reproduction and Obstetrics, 8. Auflage, W.B. Saunders, 189-202

Nohr, B., Hoffmann, B., Steinetz, E (1993): Investigations of the endocrine control of parturation in the dog by application of an antigestagen.  
J. Reprod. Fert. 47, 542-543

Okano, A., Fukuhara, R. (1980): Histological studies on postpartal involution in Japanese Black cows.

Jap. J. Zootech. Sc. 51, 284-292

Okano, A., Tomizuka, T. (1987): Ultrasonic observation of postpartum uterine involution in the cow.

Theriog. 27, 369-376

Olds, D., Coopers, C. (1970): Effects of postpartum period in dairy cattle on the occurrence of breeding abnormalities and on calving intervals.

J. Am. Vet. Med. Ass. 157, 92-97

Osmers, R., Rath, W., Adelmann-Grill, B.C., Fittkow, C., Kuloczik, M., Szeverenyi, M., Tschesche, H., Kuhn, W. (1992): Origin of cervical collagenase during parturition.

Am. J. Obstet. Gynecol. 166, 1455-1460

Otto, A. (1939): Beiträge zur Anatomie der Cervix des trächtigen Rindes.

Diss. Med. Vet. Hannover

Owiny, J.R., Fitzpatrick, R.J., Spiller, D.G. (1987): Scanning electron microscopy of the wall of the ovine cervix uteri in relation to tensile strength at parturition.

Res. Vet. Sc., 43, 36-43

Owiny, J.R., Fitzpatrick, R.J. (1990): Effect of intravaginal application of prostaglandin E<sub>2</sub> gel on the mechanical properties of the ovine cervix uteri at term.

Am. J. Obstet. Gynecol. 163, 657-660

Owiny, J.R., Fitzpatrick, R.J. (1992): The effect of administration of Clenbuterol, a  $\beta_2$ -mimetic, and sodium meclofenamate, a prostaglandin synthetase inhibitor, on cervical ripening in periparturient sheep.

Ani. Reprod. Sc. 27, 41-48

Owiny, J.R., Gilbert, R.O., Wahl, C.H., Nathanielsz, P.W. (1995): Leukocytic invasion of the ovine cervix at parturition.

J. Soc. Gynecol. Investig. 2, 593-596

Özen, A., Asti, R.N., Kurtdede, N. (2002): Light and electron microscopic studies on mast cells of the bovine oviduct.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 109, 412-415

Özgen, S., Rasch, K., Kropp, G., Schoon, H.A., Aupperle, H., Sieme, H., Klug, E. (1997): Aetiopathogenesis and therapy of equine hydromucometra: preliminary data.

Pferdeheilkunde 13, 533-534

Padberg, K.B. (1993): Zur Quantifizierung der Zugkräfte mechanischer Geburtshelfer bei Rindergeburten unter Praxisbedingungen.

Diss. Med. Vet., Gießen

Papa, P. (2001): Darstellung von Estradiol-17 $\beta$  und Progesteronrezeptoren im Corpus luteum der Hündin zu definierten Zeitpunkten im Östrus und Diöstrus.

Diss. Vet. Med. Gießen

Pearson, H. (1971): Uterine torsion in cattle: A review of 168 cases.

Vet. Rec. 89, 597-603

Peche, E. (1979): Untersuchungen über den Puerperalverlauf bei Rindern nach Retentio secundinarum unter Berücksichtigung hormonaler Induktion der Ovarfunktion mittels Gonadotropin Releasing-Hormon sowie Pregnant Mare Serum Gonadotropin zwischen den 10. und 12. Tag post partum.

Vet. Med. Diss. München

Perkins, J.I., Kidder, H.E. (1963): Relationship of uterine involution and postpartum interval to reproductive efficiency in beef cattle.

J. Ani. Sc. 22, 313-315

Peterson, L. K., Oxlund, H., Ulbjerg, N., Forman, A. (1991): In vitro analysis of muscular contractile ability and passive biochemical properties of uterine cervical samples from nonpregnant women.

Obstet. Gynecol. 77, 772-776

Pinho, T.G. (1995): Untersuchungen zum Verlauf freier und konjugierter Östrogene in Blutplasma, Kot und Urin während der Trächtigkeit des Rindes.

Diss. Med. Vet. Gießen

Pope, G.S., Gupta, S.K., Murro, J.B. (1969): Progesterone levels in the systemic plasma of pregnant, cycling and ovariectomized cows.

J. Reprod. Fert. 20, 369-381

Preuss, F. (1954): Untersuchungen zu einer funktionellen Betrachtung des Myometriums vom Rind.

Gegenbauers Morphologisches Jahrbuch 93, 193, zitiert nach Schuh (1993)

Priedkalns, J., Leiser, R. (1999): Female Reproductive System.

In: Dellmann, H.D., Eurell, J. (Hrsg.): Textbook of Veterinary Histology, 4. Auflage, Williams-Wilkins, 247-269

Radestad, A., Bygdeman, M. (1992): Cervical softening with mifepristone (RU 486) after pretreatment with naproxen. A double-blind randomized study.

Contraception 45, 221-227

Ramos, J.G., Varayoud, J., Kass, L., Rodriguez, H., Munoz de Toro, M., Montes, G.S., Luque, E.H. (2000): Estrogen and progesterone modulation of eosinophilic infiltration of the rat uterine cervix.

Steroids 65, 409-414.

Rath, W., Osmers, R., Stuhlsatz, H.W., Adelman-Grill, B.C. (1994): Biochemische Grundlagen der Zervixreifung und Muttermundöffnung.

Z. Geburtshilfe Perinatol. 198, 186-95

Re, G., Badino, P., Novelli, A., Di Renzo, G.F., Severino, L., De Liguoro, M., Ferone, M. R. (1995): Distribution of cytosolic oestrogen and progesterone receptors in the genital tract of the mare.

Res. Vet. Sci. 59, 214-218

Regassa, F., Noakes, D.E. (2001): Changes in the weight, collagen concentration and content of the uterus and cervix of the ewe during pregnancy.

Res. Vet. Sci. 70, 61-66

Reibiger, I., Spaniel-Borowski, K. (2000): Difference in localisation of eosinophils and mast cells in the bovine ovary.

J. Reprod. Fert. 118, 243-249

Reist, M., Koller, A., Busato, A., Küpfer, U., Blum, J.W. (2000): First ovulation and keton body status in the early postpartum period of dairy cows.  
Theriog. 54, 685-701

Remmele, W., Stegner, H.E. (1987): Immunhistologischer Nachweis von Östrogenrezeptoren (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe – Vorschlag zur einheitlichen Bewertung des Untersuchungsbefundes.  
Frauenarzt 2, 41-43

Renfree, M.B., Blanden, D.R. (2000): Progesterone and oestrogen receptors in the female genital tract throughout pregnancy in tammar wallabies.  
J. Reprod. Fertil. 119, 121-128.

Rexha, S., Grunert, E., Saratsis, P. (1993): Untersuchungen über die Beziehung zwischen Steroidhormonprofilen und äußerlich feststellbaren Anzeichen eines nahenden Partus beim Rind.  
Tierärztl. Umsch. 48, 431-436

Rice, V.A., Andrews, F.N., Warnick, E.J., Legates, J.E. (1966): Breeding and improvement of farm animals. 6<sup>th</sup> Ed. McGraw-Hill, New York, zitiert nach Gregory (1977)

Rigby, S., Love, C., Carpenter, K., Varner, D., Blanchard, T. (1998): Use of Prostaglandin E<sub>2</sub> to ripen the cervix of the mare prior to induction of parturition.  
Theriog. 80, 897-904

Röber, O. (1910): Vergleichende Untersuchungen über die elastischen Elemente in den Geschlechtsorganen der Haustiere.  
Diss. Med. Vet. Leipzig, zitiert nach Schuh (1993)

Roberts, S.J. (1971): Involution and regression of the uterus.  
In: Roberts, S.J. (1971): Veterinary obstetrics and genital diseases. Edwards Brothers, Michigan, 209-211

Robertson, S.A., Mayrhofer, G., Seamark, R.F. (1996): Ovarian steroid hormones regulate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor synthesis by uterine epithelial cells in the mouse.  
Biol. Reprod. 54, 183–196

Rodriguez, M., Tasende, C., Meikle, A., Garofalo, E.G. (2000): Estrogen and progesterone receptors in the ovine cervix during the postpartum period.

Theriog. 53, 743-750

Romeis, B. (1989): Mikroskopische Technik, 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München-Wien, Baltimore

Rotten, D., Gavignet, C., Colin, M.C., Robert, A.M., Godeau, G. (1988): Evolution of the elastic fiber network of the human uterine cervix before, during and after pregnancy. A quantitative evaluation by automated image analysis.

Clin. Physiol. Biochem. 6, 285-292

Runnels, L.J., Clark, L.K. (1992): Obstetrics.

In: Leman, A.D., Straw, B. E., Mengeling, W. L., Allaire, S. D., Taylor, D. J. (1992): Diseases of swine, Seventh Edition, Wolfe, 925-932

Ruoslathi, E. (1988): Structure and biology of proteoglycans.

Ann. Rev. Cell Biol. 4, 229-255

Rüsch, P., Berchtold, M. (1978): Tote Frucht: Fetotomie oder Schnittentbindung?

Schweiz. Arch. Tierheilk. 120, 245-251

Rüsse I., Grunert, E. (1993): Genitale Graviditätsveränderungen.

In: Richter, J., Götze, R. (1993): Tiergeburtshilfe. 4. Auflage, herausgegeben von E. Grunert und K. Arbeiter, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 58-61

Rüsse, M. (1965): Der Geburtsablauf beim Rind.

Arch. Exp. Veterinärmed. 19, 783-805; 963-1026

Sachs, L. (1997): Angewandte Statistik, Springer-Verlag

Saito, Y., Sahamoto, H., Mac Lushy, N.F., Naftolin, F. (1985): Gap junctions and myometrial steroid hormonal receptors in pregnant and postpartum rats: A possible cellular basis for the progesterone withdrawal hypothesis.

Am J. Obstet. Gynecol. 151, 805-812

Schaetz, F. (1984a): Einengung des Geburtsweges.

In: Baier, W., Schaetz, F. (1984): Tierärztliche Geburtskunde, 5. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 135-138

Schaetz, F. (1984b): Gebärmutterverdrehung.

In: Baier, W., Schaetz, F. (1984): Tierärztliche Geburtskunde, 5. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, 167-177

Schmidt, J. (1924): Abnormitäten und Krankheiten des Muttertieres als Geburtshindernisse.

In: Richter, J., Schmidt, J., Reinhardt, R. (1924): Harms Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe. Verlagsbuchhandlung Richard Schoetz, Berlin

Schneebeli, J., Döberli, M. (1987): Varianten der puerperalen Ovaraktivität beim Rind.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 129, 279-293

Schuh, R. (1993): Histomorphologische Untersuchungen an der Cervix uteri bei Katze, Hund, Schaf, Rind und Pferd.

Diss. Med. Vet. München

Schulz, S., Bostedt, H. (1995): Vesikoflexion und Vaginalprolaps beim Schwein als geburtshilfliches Problem.

Tierärztl. Praxis 23, 139-47

Schulz, L.C., Grunert, E. (1959):

Physiologie und Pathologie der puerperalen Involution des Rinderuterus.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 66, 29-37

Seeger, T., Grunert, E., Ahlers, A. (1994): Zur Entstehung einer gestörten Heilung der Bauchwandwunde nach Schnittentbindung beim Rind.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 101, 309-311

Sennström, M.B., Ekman, G., Westergren-Thorsson, G., Malmstrom, A., Bystrom, B., Endresen, U., Mlambo, N., Norman, M., Stabi, B., Brauner, A. (2000): Human cervical ripening, an inflammatory process mediated by cytokines.

Mol. Hum. Reprod. 6, 375–381

Shemesh, M., Dombrovski, L., Gurevich, M., Shore, L.S., Fuchs, A.R., Fields, M.J. (1997): Regulation of bovine cervical secretion of prostaglandins and synthesis of cyclooxygenase by oxytocin.

Reprod. Fert. Dev. 9, 525-530

Shi, L., Shi, S.Q., Saade, G.R., Chwalisz, K., Garfield, R.E. (2000): Studies of cervical ripening in pregnant rats: effects of various treatments.

Mol. Hum. Reprod. 6, 382-389

Silva, A.E.D.F. (1979): Untersuchungen über den Gesamtöstrogen- und Progesterongehalt im Blutplasma bei Geburtstieren unter Berücksichtigung der Zervixöffnung.

Diss. Med. Vet. Hannover

Sobiraj, A. (1992): Untersuchungen zur Morphologie sowie zur Histochemie und Biochemie der Uterus bei Rindern in der frühen postpartalen Periode.

Habil. Med. Vet. Gießen

Sobiraj, A. (1994): Geburtsschwierigkeiten bei Schaf und Ziege – Auswertung des Patientenaufkommens aus sieben Ablammperioden an einer geburtshilflichen Klinik.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 101, 471-476

Stabenfeldt, G.H., Osburn, B.J., Ewing, L.L. (1970): Periphral plasma levels in the cow during pregnancy and parturition.

Am. J. Physio. 218, 571-575

Steinnetz, B.G., O'Brien, E.M., Kroc, R.L. (1980): The role of relaxin in cervical softening during pregnancy in mammals.

In: Naftolin, F., Stubblefield, P.G.: Dilatation of the cervix. Verlag Raven Press, New York, 157-180

Stolla, R., Dusi-Färber, B., Stengel, B., Schmid, G., Braun, J. (1999): Geburtsstörungen bei der Hündin: eine retrospektive Studie.

Wien. Tierärztl. Mschr. 86, 145-149

Stoss, A.O. (1944): Tierärztliche Geburtskunde und Gynäkologie. 2. durchgesehene Auflage, Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart

Strauss, G. (1969): Funktionsbedingte Unterschiede der Feinstruktur des kollagenen Bindegewebes menschlicher Uteri.

Arch. Gynäk. 208, 147-177

Stygar, D., Wang, H., Vladoic, Y.S., Ekman, G., Eriksson, H., Sahlin, L. (2001):

Co-localization of oestrogen receptor beta and leukocyte markers in the human cervix. Mol. Hum. Reprod. 7, 881-886

Stys, S.J., Clewell, W.H., Meschia, G. (1978): Changes in cervical compliance independent of uterine activity.

Am. J. Obstet. Gynecol. 130, 414-418

Tamm (1997): Untersuchungen zur Gebärmutterverdrehung des Rindes.

Diss. Med. Vet. Hannover

Tchernitchin, A. N. (1983): Eosinophil-mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation - a separate group of responses mediated by an independent mechanism.

J. Steroid. Biochem. 19, 95-100

Thilander, G., Eriksson, H., Edquist, L.E., Rodriguez Martinez, H. (1990): Variations in oestradiol and progesterone receptor levels in the porcine myometrium and cervix during pregnancy and parturition.

J. Vet. Med. A 37, 329-338

Thomas, J.O. (1990): Survey of the causes of dystocia in sheep.

Vet. Rec. 127, 574-575

Tillmann, H. (1960): Das gravide Muttertier.

In: Richter, J., Götze, R. (1960): Tiergeburtshilfe. 2. Auflage, herausgegeben von G. Rosenberger und H. Tillmann, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 87-100

Trofatter, K.F., Bowers, D., Gall, S.A., Killam, A.P. (1985): Preinduction cervical ripening with prostaglandin E<sub>2</sub> gel.

Am. J. Obstet. Gynecol. 153, 268-271

Uldbjerg, N., Ekman, G., Malmstrom, A., Olsson, K., Ulmsten, U. (1983): Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans, and collagenolytic activity.

Am. J. Obstet. Gynecol. 15, 662-666

Uldbjerg, N., Malmström, A. (1991): The role of proteoglycans in cervical dilatation.

Sem. Perinat. 15, 127-132

Ulmstein, U., Wingerup, L. (1980): Clinical experiences with a new gel for intracervical application of prostaglandin E<sub>2</sub> before therapeutic abortion or induction at term labour.

Prostaglandins 20, 533-545

Venge, P., Bergstrand, H., Haakasson, L. (1993): Neutrophils and eosinophils.

In: Kelley (Ed.) 1993: Textbook of rheumatology, 4<sup>th</sup> edition. Philadelphia, Saunders, 269-285

Vesanen, M., Isomaa, V., Alnko, M., Vihko, R. (1991): Bovine uterine, cervical and ovarian estrogen and progesterone receptor concentrations.

Ani. Reprod. Sci. 26, 61-71

Wagner, W.C., Eggers, G., Hoffmann, B., Ellendorf, F. (1992): Changes in placental hormone secretion after dexamethasone treatment in cattle.

Reprod. Dom. Anim. 27, 85-92

Wagner, W.C., Hansel, W. (1969): Reproductive physiology of the post partum cow. I. Clinical and histological findings.

J. Reprod. Fertil. 18, 493-500

Walter, A., Marx, D. (1957): Der biologische Geburtsverlauf beim Rind und die Gefahren einer Beschleunigung durch Zughilfe.

Zuchthygiene 1, 329-339

Ward, W.R. (1975): Bovine parturition physiology.

Vet. Rec. 97, 151

Wehling, M. (1997): Specific, nongenomic actions of steroid hormones.

Annu. Rev. Physiol. 59, 365-393

Wehrend, A. (1997): Untersuchungen zur Genexpression von Kumulus-Oozyten-Komplexen von *Sus scrofa f.d.* während der In-vitro-Reifung.

Diss. Med. Vet. Hannover

Wehrend, A., Ben Ahdi, Z., Hospes, R. (1999): Überwachung des Puerperiums der Hündin. Tagungsbeiträge der 45. Jahrestagung der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG, Giessen, 7.10 – 10.10.1999

Wehrend, A., Padberg, K.B., Bostedt, H. (2002a): Elektronische Zugkraftquantifizierung bei Anwendung des mechanischen Geburtshelfers in der Rindergeburt.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., in Druck

Wehrend, A., Reinle, T., Herfen, K., Bostedt, H. (2002b): Die Fetotomie beim Rind unter besonderer Berücksichtigung post operativer Komplikationen – eine Auswertung von 131 Operationen.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 109, 56-61

Wehrend, A., Träsch, K., Failing, K., Bostedt, H. (2002c): Untersuchungen zum regionalen pH-Wert in Vagina, Zervix und Uterus von Kühen im Interöstrus.

Dtsch. Tierärztl. Wschr., in Druck

Weller, P. F. (1992): Cytokine regulation of eosinophile function.

Clin. Immun. Immunopath. 62, 55-59

Wille, E. (1938): Der Gebärmutterhals des Rindes.

Tierärztl. Rundschau 48, 781-786

Winkler, M., Fischer, D.C., Ruck, P., Marx, T., Kaiserling, E., Oberpichler, A., Tschesche, H., Rath, W. (1999): Parturition at term: parallel increases in interleukin-8 and proteinase concentrations and neutrophil count in the lower uterine segment.

Hum. Reprod. 14, 1096–1100

Winkler, M., Rath, W. (1999): Changes in the cervical extracellular matrix during pregnancy and parturition.

J. Perinat. Med. 27, 45-60

Wollrab, J., Hübner, B., Pelzer, H., Hiller, A. (1989): Möglichkeiten der Geburtshilfe beim Schaf.

Mh. Vet. Med. 44, 754-757

Wrobel, K.H. (1971): Histologische, histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Cervix uteri des Rindes.  
Habilitationsschrift, Beihefte zum Zentralblatt für Veterinärmedizin, 15, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg

Wrobel, K.H., Laun, G., Hees, H., Zwack, M. (1986): Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen am Vaginalepithel des Rindes.

Anat. Histol. Embryol. 15, 303-328

## 8 Anhang

### 8.1 Zusammensetzung von Lösungen und Puffern

Angegeben sind die Zusammensetzungen von Lösungen und Puffern, die selbst hergestellt wurden. Keine Berücksichtigung fanden kommerziell erworbene Lösungen und Puffer. *Aqua bidest.* wurde aus einer Millipore-Anlage (Milli Q Biocel) gewonnen.

#### 8.1.1 Lagerung und Fixierung des Gewebes

##### *Neutrales gepuffertes Formol nach Lillie*

- Formol (40%) (Merck, Darmstadt)	100 ml
- NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O (Merck, Darmstadt)	4 g
- Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Merck, Darmstadt)	6,5 g
- <i>A. bidest.</i>	900 ml

##### *Natriumphosphat-Puffer (0,1 M; ph 7,2)*

###### *Lösung 1 (0,1 M):*

- NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O (Merck, Darmstadt)	13,8 g
- <i>A. bidest.</i>	ad 1000 ml

###### *Lösung 2 (0,1 M):*

- NaHPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O (Merck, Darmstadt)	17,8 g
- <i>A. bidest.</i>	ad 1000 ml

##### *Gebrauchslösung:*

- Lösung 1	28,3 ml
- Lösung 2	71,7 ml

## 8.1.2 Färbelösungen

### *Hämatoxylin*

- Papanicolaours Lsg. 1b (Merck, Darmstadt) 250 ml

### *Eosin*

- Eosin G-Lsg. 0,5 % wäßrig (Merck, Darmstadt) 250 ml

- Eisessig (Merck, Darmstadt) 10 µl

### *Sirius-Red-Färbung*

- Sirius-Red F3B (Dystar, Leverkusen) 500 mg

- *A. bidest.* 45 ml

- Ethanol absolut (Roth, Karlsruhe) 50 ml

- 1 % NaOH (Merck) 1 ml

- 20 % NaCl (Merck) etwa 4 ml

tropfenweise Zugabe bis es zu einer leichten Präzipitation an der Gefäßwand kommt.

Lagerung der Lösung über 24 Stunden, dann Filtrierung. Die Lösung bleibt bei Raumtemperatur zwei Monate verwendungsfähig.

### *Toluidin-Blau-Färbung*

#### *Stammlösung A:*

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck, Darmstadt) 9,078 g

*A. bidest.* ad 1000 ml

#### *Stammlösung B:*

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck, Darmstadt) 2,969 g

*A. bidest.* ad 250 ml

#### *Puffer nach Soerensen:*

Stammlösung B 1,2 ml

Stammlösung A ad 200 ml

*Färbelösung:*

Puffer nach Soerensen	200 ml
Toluidinblau O Zinkchlorid Doppelsalz (Merck, Darmstadt)	0,006 g

*Giemsa-Färbung*

*Giemsa-Färbelösung*

Giemsa-Lösung (Merck, Darmstadt)	5 ml
<i>A. bidest.</i>	80 ml

*Azan-Färbung nach Heidenhain*

*Azokarminlösung*

- Azokarmin G (Merck, Darmstadt)	0,1 g
- <i>A. bidest.</i>	100 ml

aflösen, kurz aufkochen, abkühlen bei Raumtemperatur, filtrieren

- Eisessig (Merck, Darmstadt)	1 ml
-------------------------------	------

*Anilin-Blau-Orange-Stammlösung*

- Anilinblau (Merck, Darmstadt)	0,5 g
- Orange G (Merck, Darmstadt)	2 g
- <i>A. bidest.</i>	100 ml

lösen

- Eisessig (Merck, Darmstadt)	8 ml
-------------------------------	------

kurz aufkochen, abkühlen bei Raumtemperatur, filtrieren

*Anilin-Blau-Orange-Färbelösung*

- Anilin-Blau-Orange-Stammlösung (Merck, Darmstadt)	100 ml
- <i>A. bidest.</i>	200 ml

## 8.2 Färbeprotokolle

### *Hämatoxylin-Eosin-Färbung*

<b>Arbeitsschritt</b>	<b>Dauer</b>	<b>Temperatur</b>
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 60 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 50 %	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	5 Minuten	Raumtemperatur
Hämatoxylin	9 Minuten	Raumtemperatur
Leitungswasser	15 Minuten wässern	Raumtemperatur
Eosin	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	3 x tauchen	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	1 x tauchen	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	2 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur

Eindeckeln der Schnitte mit Roti®-Histokitt (Roth, Karlsruhe).

### Sirius-Red-Färbung

<b>Arbeitsschritt</b>	<b>Dauer</b>	<b>Temperatur</b>
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 60 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 50 %	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	5 Minuten	Raumtemperatur
Hämatoxylin	kurz tauchen	Raumtemperatur
Leitungswasser	spülen bis leicht bläulich	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	3 x tauchen	Raumtemperatur
Sirius-Red-Lösung	24 Stunden	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	10 Minuten spülen	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	1 x tauchen	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	2 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur

Eindeckeln der Schnitte mit Roti®-Histokitt.

## Giemsa-Färbung

<b>Arbeitsschritt</b>	<b>Dauer</b>	<b>Temperatur</b>
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 60 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 50 %	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	2 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest</i>	2 Minuten	Raumtemperatur
Giemsa- Färbelösung	2,5 Stunden	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	bis zur Malvenfärbung entfärben	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	entfärben	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur

Eindeckeln der Schnitte mit Roti®-Histokitt.

### Toluidin-Blau-Färbung

<b>Arbeitsschritt</b>	<b>Dauer</b>	<b>Temperatur</b>
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 60 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 50 %	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	2 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest</i>	2 Minuten	Raumtemperatur
1 % Toluidin-Blau-Lösung	60 Minuten	Raumtemperatur
Aqua dest.	kurz tauchen	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	kurz tauchen	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	kurz tauchen	Raumtemperatur
Ethanol absolut	1 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur

Eindeckeln der Schnitte mit Roti®-Histokitt.

*Azan-Färbung nach Heidenhain*

<b>Arbeitsschritt</b>	<b>Dauer</b>	<b>Temperatur</b>
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	15 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 80 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 70 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 60 %	5 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol 50 %	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	5 Minuten	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	kurz tauchen	Raumtemperatur
Azokarminlösung	60 Minuten	60°C
<i>Aqua bidest.</i>	3 x tauchen	Raumtemperatur
Alkoholische Anilinlösung	10 Minuten	Raumtemperatur
Essigsaurer Alkohol	5 - 10 Minuten	Raumtemperatur
5 % Phosphorwolframsäure	3 Stunden	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	Abspülen	Raumtemperatur
Anilinblau-Orange- Essigsäure	3 Stunden	Raumtemperatur
<i>Aqua bidest.</i>	Abspülen	Raumtemperatur
Ethanol 96 %	2 Minuten	Raumtemperatur
Ethanol absolut	2 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur
Xylol	10 Minuten	Raumtemperatur

Eindeckeln mit Roti®-Histokitt.

## Danksagungen

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. H. Bostedt für die Ermöglichung dieser Arbeit, für seine Unterstützung, seine Anregungen und Hinweise sowie die schnelle Lösung von Problemen. Insbesondere bedanke ich mich auch dafür, dass er stets darauf achtete, dass neben der Beschäftigung mit dieser Arbeit, der Blick für die gesamte klinische Fortpflanzungsmedizin nicht verloren ging.

Bei Herrn Prof. Dr. G. Scheiner-Bobis (Institut für Biochemie und Endokrinologie der Justus-Liebig-Universität Gießen) danke ich für den zur Verfügung gestellten Laborplatz für die molekularbiologischen Arbeiten, die ohne die Hilfe von Frau Kloß nicht möglich gewesen wären.

Ebenso sei Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. R. Leiser (Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie) für die Einweisung in die histologischen Arbeitsmethoden gedankt und die Möglichkeit, Geräte seiner Arbeitsgruppe zu nutzen.

Frau Dr. B. Hospes (Genlabor der Abteilung für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie der Justus-Liebig-Universität Gießen) danke ich für die Sequenzierung des Amplifikates des bovinen Östrogenrezeptors  $\alpha$ .

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. B. Hoffmann und seinem Laborpersonal sei für die endokrinologischen Messungen gedankt.

Frau Dr. H. Aupperle und Herrn Prof. Dr. H. A. Schoon (Institut für Veterinär-Pathologie der Universität Leipzig) bin ich für die Durchführung der immunhistologischen Färbungen sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. K. Failing danke ich für die umfangreiche Unterstützung bei der statistischen Bearbeitung der gewonnenen Daten

Frau Dr. I. Reibiger (Institut für Anatomie der Universität Leipzig) sei für die Kontrollfärbungen und die nützlichen Hinweise gedankt. Gerade in der sensiblen Phase der Übertragung von Methoden aus der Literatur auf das eigene Material waren Ihre Hinweise und Ihre Unterstützung entscheidend.

ISBN 3-936815-90-9



**Verlag: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft Service GmbH**  
35392 Gießen · Frankfurter Str. 89 · Tel.: 06 41/2 44 66 · Fax: 06 41/2 53 75  
e-mail: [Geschaeftsstelle @dvg.net](mailto:Geschaeftsstelle@dvg.net) · Homepage: <http://www.dvg.net>