



Funktionelle und morphologische Studien über die equine Zervix im Stadium der Ingravidität



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrades beim Fachbereich
Veterinärmedizin der Justus-Liebig-
Universität Gießen



Susanne Huchzermeyer

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

Betreuer: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Bostedt

**Funktionelle und morphologische Studien über die
equine Zervix im Stadium der Ingravidität**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Susanne Huchzermeyer
Tierärztin aus Minden (Westfalen)

Gießen 2003

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

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Bostedt

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Bergmann

Tag der mündlichen Prüfung: 03.07.03

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1	Funktion der Zervix	2
2.2	Anatomie	3
2.2.1	Makroskopische Anatomie	3
2.2.2	Mikroskopische Anatomie	4
2.2.2.1	Lichtmikroskopie	4
2.2.2.2	Elektronenmikroskopie	7
2.3	Bindegewebe	10
2.4	Zellpopulationen	13
2.5	Physiologische Veränderungen der Zervixstruktur	22
2.5.1	Altersabhängige Unterschiede	22
2.5.2	Regionale Unterschiede	24
2.5.3	Zyklusabhängige Unterschiede	25
2.5.4	Hormonell bedingte Unterschiede	27
2.6	Klinische Bedeutung der Zervix	32
2.7.	Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes	35
2.7.1	Pathogenität der Keimspezies	35
2.7.2	Die Keimflora des Vestibulums	36

2.7.3	Die Keimflora der Vagina	37
2.7.4	Die Keimflora der Zervix	38
2.7.5	Die Keimflora des Uterus	39
2.7.6	Keimdichte und physiologische Bedeutung der Keimflora	40
2.7.7	Tabellen	40
3.	Material und Methoden	43
3.1	Bakteriologische Untersuchung	43
3.1.1	Probanden	43
3.1.2	Tupferprobenentnahme	45
3.2	Histologische Untersuchung	47
3.2.1	Untersuchungsmaterial	47
3.2.1.1	Probanden	47
3.2.1.2	Materialgewinnung	47
3.2.2	Histologische Untersuchung	49
3.2.2.1	Fixierung des Probenmaterials	49
3.2.2.2	Einbettung des Probenmaterials	49
3.2.2.3	Herstellung der Gewebeschnitte	50
3.2.2.4	Färbung der Gewebeschnitte	51
3.2.3	Histologische Auswertung	57
3.3	Statistische Verfahren	59
4.	Ergebnisse	60
4.1	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung	61
4.1.1	Quantitative Auswertung der mikrobiellen Besiedlung	61
4.1.1.1	Häufigkeit des Keimnachweises im Genitaltrakt von Stuten	61

4.1.1.2	Intensität der mikrobiellen Besiedlung im Genitaltrakt von Stuten	64
4.1.1.3	Anzahl unterschiedlicher Keimspezies im Genitaltrakt von Stuten	66
4.1.2	Qualitative Auswertung der mikrobiellen Besiedlung	69
4.1.3	Zusammenfassung der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung	73
4.2	Ergebnisse der histologischen Untersuchung	74
4.2.1	Morphologie des Epithels in der equinen Zervix und deren Messung	74
4.2.2	Art, Anzahl und Verteilung der vaskulären Strukturen innerhalb der equinen Zervix	78
4.2.3	Art, Anzahl und Verteilung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix	81
4.2.4	Art, Anzahl und Verteilung der Mastzellen in der equinen Zervix	85
4.2.5	Zyklische Beeinflussung der zellulären Komponenten der equinen Zervix am Beispiel der eosinophilen Granulozyten und der Mastzellen	90
4.2.6	Zusammenfassung der Ergebnisse der histologischen Untersuchung	96
5.	Diskussion	97
5.1	Diskussion der mikrobiologischen Ergebnisse	98
5.1.1	Einordnung und Vergleich der Methode	98
5.1.2	Vergleich der <i>in vivo</i> und <i>post mortem</i> gewonnenen Ergebnisse	99
5.1.3	Unterschiede in der Keimquantität im Verlauf des equinen Genitaltraktes	102
5.1.4	Vergleich des Anteils fakultativ pathogener Keimspezies zur Gesamtspezieszahl	103

5.1.5	Vergleich der zervikalen und der uterinen Keimflora	104
5.2	Diskussion der histologischen Ergebnisse	105
5.2.1	Das Zervikalepithel der Stute	105
5.2.2	Die vaskulären Strukturen der equinen Zervix	106
5.2.3	Die eosinophilen Granulozyten der equinen Zervix	107
5.2.4	Die Mastzellen der equinen Zervix	112
5.2.5	Zusammenfassende Schlußbetrachtung	116
6.	Zusammenfassung	117
7.	Summary	120
8.	Anhang	123
9.	Literaturverzeichnis	128

Meinen Eltern

1. Einleitung

Einer ausbleibenden Reproduktionsleistung der Stute liegen häufig, neben Managementfehlern, pathologische Prozesse des Genitales zu Grunde. Äthiologisch sind solche Fertilitätsdepressionen beim Pferd am häufigsten auf uterine Infektionen bakteriellen Ursprungs zurückzuführen. Die Mikroorganismen erreichen hierbei zumeist auf kanalikulärem Weg, ascendierend durch die Zervix, den Uterus, wo es unter begünstigenden Umständen zu einem Haften und Vermehren des infektiösen Agens kommt. Die Zervix nimmt dabei als immunologische und morphologische Barriere zwischen dem kaudalen Genitaltrakt und dem Uterus eine besondere Rolle ein, was durch vorausgehende Untersuchungen speziesübergreifend dargestellt werden konnte (Fox, 1993). In welchem Ausmaß Aberrationen der Zervix die Fertilität der Stute beeinflussen, ist jedoch weitgehend unbekannt. Im Gegensatz zum equinen Uterus liegen bisher kaum Untersuchungen über den histologischen Aufbau dieses Abschnittes im Genitaltraktes der Stute vor, in denen insbesondere die Verteilung der gewebständigen Abwehrzellen berücksichtigt sind.

Ziel dieser Arbeit war es daher, mit Hilfe mikrobiologischer Studien den allgemeinen bakteriellen Status in den unterschiedlichen Abschnitten des Reproduktionstraktes der Stute vergleichend zu erfassen, um Rückschlüsse auf die Effektivität verschiedener Verschluss- und Schutzvorrichtungen zuzulassen. Es erfolgte dabei eine besondere Fokussierung auf die Zervix und ihre Bedeutung hinsichtlich der Infektionsabwehr und Inhibitionswirkung der Keimaszension.

Vertieft wird die Studie durch histologische Untersuchungen, darauf zielend, sich detaillierte Informationen über den morphologischen und histologischen Aufbau der equinen Zervix zu erarbeiten. Diese Werte sollen als Grundlage für das Verständnis der physiologischen Abläufe und der Pathohistologie dieses Organs dienen. Ein besonderer Interessenschwerpunkt liegt dabei auf dem Zervikalepithel, den vaskulären Strukturen und der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen.

2. Literatur

2.1 Funktion der Zervix

Der Zervix, die das Uteruslumen von der Vagina trennt, kommt in dieser besonderen anatomischen Lage mehrere Funktionen zu. Sie stellt eine immunologische und morphologische Barriere zwischen Uterus und Umwelt dar. Dadurch wird einerseits eine pathologische mikrobielle Besiedlung des kranialen Genitales verhindert, andererseits ist der Zervixschluss eine Voraussetzung für die Erfüllung und Aufrechterhaltung des speziellen uterinen Milieus (Eggert-Kruse, 1997). Diese morphologische Barrierefunktion ist im Zyklusverlauf unterschiedlich stark ausgeprägt. Im Östrus erweitert sich der Zervikalkanal unter starker Mukusproduktion, ermöglicht ein Vordringen von Spermien und eine Drainage der uterinen Sekretion (Liebich, 1998). Während der Gelbkörperphase kommt es zu einer Kontraktion der zirkulär verlaufenden glatten Muskelschicht. Am Ende der Gravidität öffnet sich die Zervix neurohormonal gesteuert, um eine Passage der Frucht zu ermöglichen und schließt sich im Anschluss an die Geburt wieder.

Die mechanische Barrierefunktion wird durch ein lokales immunologisches Abwehrsystem ergänzt, welches auf zellulären und humoralen Mechanismen basiert (Tillmann et al., 1982; Fox, 1993).

Der Zervikalmukus erfüllt abhängig von der Reproduktionsphase unterschiedliche Funktionen. Zum Zeitpunkt des Östrus wirkt er als Gleitmittel (Tillmann et al., 1982; Ginther, 1992). Auch ein verdünnender und durch den kaudal gerichteten Sekretstrom reinigender Effekt wird angenommen (Tillmann et al., 1982).

Während der Gravidität unterstützt ein zäher Schleimpfropf den mechanischen Zervixschluss, so dass kein Vordringen infektiöser Agenzien möglich ist.

Weiterhin besitzt die Zervix auch eine Haltefunktion. Sie stellt mit Hilfe ihres Aufhängeapparates und der Vagina die kaudale Fixation des Uterus dar.

Im Rahmen der Kohabitation kommt dem Gebärmutterhals des Pferdes eine bedeutende Rolle zu, da die Abgabe des Ejakulats durch den relaxierten Zervikalkanal hindurch in den Uterus erfolgt. Bei anderen Tierspezies, bei denen

die Spermideposition im *Fornix vaginae* erfolgt, werden der Zervix noch weitere Aufgaben zugesprochen (Hafez und Hafez, 2000). Der Gebärmutterhals arbeitet hier als Schleuse, die den Durchtritt von Spermien im zeitlichen Zusammenhang mit der fertilen Periode des Zyklus reguliert. Ebenso erfolgt an diesem Ort eine Selektion morphologisch intakter und funktionell adäquater Spermatozoen (Eggert-Kruse, 1997).

2.2 Anatomie

2.2.1 Makroskopische Anatomie

Die Zervix liegt bei der ingraviden Stute vollständig in der Beckenhöhle, dorsal von *Urethra* und Blase. Sie verlagert sich während der Gravidität nach kranial in die Bauchhöhle. Über das lateral ansetzende *Mesometrium* ist sie an der Beckenwand fixiert. Die Arterienversorgung der Zervix erfolgt über die *Arteria uterina* und den *Ramus uterinus* der *Arteria vaginalis*, die miteinander anastomosieren. Die Venen laufen weitgehend parallel zu den gleichnamigen Arterien (Budras, 1997). Sympathische und parasympathische Nervenfasern versorgen die Zervix über den *Plexus pelvinus*. Es sind zahlreiche Lymphgefäße vorhanden, deren Abfluss über das *Lymphocentrum lumbale* und *iliosakrale* stattfindet (Leiser, 1999).

Die Zervix ist ein dickwandiges Organ, welches aus kräftiger, glatter Muskulatur und dichtgefügttem Bindegewebe besteht. Sie bildet den *Canalis cervicalis*, der mit dem inneren Muttermund, dem *Ostium internum* beginnt und mit dem äußeren Muttermund, *Ostium externum* in die Vagina mündet.

Beim Pferd, wie auch beim Rind, ragt die Zervix kaudal als *Portio vaginalis* in die Vagina vor (Leiser, 1999). Die Länge beträgt bei der Stute etwa 5,0 bis 7,5 cm, bei einem Durchmesser von 3,0 bis 5,0 cm (Sisson, 1975).

Der innere Muttermund des Pferdes weist Trichterform auf und setzt sich als *Canalis cervicalis* nach kaudal fort. Während dieser Kanal bei Rind und Schaf aufgrund der *Plicae circulares* beziehungsweise *Pulvini cervicales* in seinem geraden Verlauf mehrfach unterbrochen ist, fehlen derartige Strukturen beim Pferd (Leiser, 1999). Das Lumen der Zervix ist bei der Stute mit hohen, radial gestellten Schleimhautfalten ausgekleidet. Diese *Plicae longitudinales* erreichen im Bereich der Mitte ihre maximale Höhe (Röber, 1914). Die Schleimhaut ist, im Gegensatz zum bräunlichen Endometrium, blass. Das *Ostium uteri externum* befindet sich zentral in der *Portio vaginalis*, die durch die vaginale Fortsetzung der *Plicae longitudinales* radiär lobuliert ist. Im Gegensatz zum Pferd ist beim Rind, wie auch beim kleinen Wiederkäuer, der äußere Muttermund exzentrisch gelegen (Schmalz, 1911; Röber, 1914).

Zusätzliche Verschlussvorrichtungen, wie bei anderen Haussäugetieren, gibt es beim Pferd nicht (Seiferle, 1933).

2.2.2 Mikroskopische Anatomie

2.2.2.1 Lichtmikroskopie

Die Zervix weist einen vierschichtigen Bau auf. Die Innenauskleidung des Zervikalkanals erfolgt durch die *Tunica mucosa* und die darunterliegende *Tela submucosa*. Es schließt sich die *Tunica muscularis* an. Zu den Körperhöhlen hin ist die Zervix von einer Serosalamelle bedeckt, der *Tunica serosa* (Liebich, 1998).

Tunica mucosa

Die Schleimhaut der Zervix bildet Primärfalten, die sich weiter in Sekundär- und Tertiärfalten differenzieren. Diese Schleimhautfalten erlauben während der Austreibungsphase durch Verstreichen eine starke Zunahme des Lumens. Ebenso vergrößert sich dadurch die sezernierende Oberfläche und der Verschlussmechanismus wird verstärkt (Liebich, 1998).

Das Schleimhautepithel der Stute ist einschichtig und hochprismatisch, mit kugeligen Kernen im basalen Drittel der Zellen. Auf Höhe der Schleimhautfalten nimmt es gelegentlich auch mehrreihige oder mehrschichtige Formen an (Röber, 1914; Leiser, 1990).

Wrobel (1971) differenziert die Epithelzellen des Rindes nach ihrer Höhe in Zylinderzellen, die das Lumen des Zervikalkanals auskleiden und Basalzellen, die das Lumen nicht erreichen. Aufgrund morphologischer Merkmale unterteilt er die Zylinderzellen noch einmal in drei Gruppen: Zilienzellen, granuliert und fuchsinophile Zylinderzellen. Die muzigenen Zellen des Epithels synthetisieren Schleim aus sauren und neutralen Proteoglykanen. Diese Zellen sind einer zyklusbedingten Morphokinese unterworfen und weisen in der Brunst die höchste sekretorische Aktivität auf (Schmollich, 1992). Eine Abstoßung der Zellen erfolgt nicht. Während Liebich (1998) und Schmollich (1992) nur beim Rind *Kinozilien* erkennen können, weist Seiferle (1933) auch beim Pferd einige Stellen mit „flimmerähnlichem Belag“ nach.

Tela submucosa

Die *Tela submucosa* besteht aus lockerem, proliferationsaktivem, kollagenem Bindegewebe. Scherengitterartig angeordnet bilden die Faserbündel die Grundlage der Schleimhautfalten und schieben sich zum Teil zwischen die außen anliegenden Muskelzellen (Liebich, 1998).

Beim Pferd stellt sich die *Tela submucosa* subepithelial sowie in den Falten besonders dicht und kompakt dar. Zusätzlich sind in diesem Bereich geringgradige, von Röber (1914) nicht weiter differenzierte Zellanhäufungen zu erkennen. Elastische Fasern sind bei Pferd und Schaf nur vereinzelt in das Grundgewebe eingelagert (Röber, 1914). Charakteristisch für die Stute ist die große Zahl an longitudinal verlaufenden Venen in der Tiefe. Ein solcher Venenplexus zeigt sich sonst nur beim Hund (Schmalz, 1911; Röber, 1914; Priedkalns, 1987; Leiser, 1990).

Tunica mucosa und *Tela submucosa* sind beim Pferd, wie auch beim Rind, frei von Drüsen (Schmalz, 1911; Röber, 1914; Wrobel, 1971). Beim kleinen

Wiederkäuer hingegen werden von verschiedenen Autoren schleimproduzierende, tubuläre Zervikaldrüsen beschrieben.

Lymphfollikel, wie sie von Schmalz (1911) und Röber (1914) in der *Tunica mucosa* und *Tela submucosa* des Schafes beobachtet werden, sind beim Pferd wie auch bei anderen Haussäugetieren nicht beschrieben.

Tunica muscularis

Die *Tunica muscularis* besteht aus glatter Muskulatur und ist bei Pferd und Rind besonders stark ausgeprägt.

Die innere, stärker ausgeprägte Muskelschicht, die beim Pferd eine Dicke von bis zu 1,6 cm betragen kann, verläuft zirkulär, die äußere, schwächer ausgeprägte Schicht, longitudinal. Bindegewebe verbindet die einzelnen Muskelbündel (Röber, 1914). Die Trennung beider Schichten erfolgt nach Schmalz (1911) und Röber (1914) durch ein *Stratum vasculare*. In der Nähe des *Ostium uteri externum* kann es beim Pferd aber zu einer Verflechtung der Zirkulär- und Längsmuskulatur kommen. Neben dieser innen liegenden Eigenmuskulatur wird die äußere Lage von longitudinal verlaufenden Muskelbündeln gebildet, die aus der subserösen Muskulatur der *Ligamenta lata* hervorgeht. Schmalz (1911) bemerkt zudem, dass beim Pferd, im Vergleich zu anderen Tierarten, die Geschlossenheit der breiten und dichten Muskelzone durch viel Zwischenbindegewebe vermindert wird, was Seiferle (1933) bestätigt. Die zervikalen Muskelschichten kommunizieren mit den entsprechenden Schichten des Uterus und stellen nach kaudal die Grundlage der *Portio vaginalis* dar.

Priedkalns (1987) beschreibt in der *Tela submucosa* und der *Tunica muscularis* wenige, nicht myelinisierte Nervenfasern. Bae et al. (2001) differenzieren immunhistologisch adrenerge und peptiderge Nervenfasern, die parallel zur Muskulatur verlaufen und häufig mit Blutgefäßen assoziiert sind.

Tunica serosa

Oberflächlich ist die Zervix von *Serosa* überzogen, die aus einem einschichtigen Plattenepithel besteht. Die darunter liegende *Tela subserosa* ist bindegewebiger Natur, mit eingelagerten elastischen Elementen (Leiser, 1999). Im Vergleich zum Schaf ist die *Serosa* und *Subserosa* des Pferdes stärker und dicker ausgeprägt (Röber, 1914).

2.2.2.2 Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskopisch ist eine weitere Differenzierung der lichtmikroskopisch beschriebenen Strukturen möglich.

Zervikalepithel

Zur Ultrastruktur des Zervikalepithels beim Pferd liegen bisher keine Arbeiten vor. Wrobel (1971) liefert hier mit seinen Untersuchungen der bovinen Zervix neue Informationen. Die Beschreibungen basieren auf der lichtmikroskopisch durchgeführten Einteilung.

Die Zilienzellen sind annähernd zylinderförmig, mit einem zentral oder subzentral gelegenen Zellkern. Es lassen sich helle und dunkle Zelltypen unterscheiden. Die hellen Zilienzellen sind durch eine abgerundete Form, durch Volumenvergrößerung von Zelleib und Nucleus und durch starke Aufhellung von Zyto- und Karyoplasma charakterisiert. Die apikale Zelloberfläche zeichnet sich durch den Besitz von Zilien und Mikrovilli aus. Die infranukleare Zellregion enthält erweiterte Zisternen des endoplasmatischen Retikulums, welches bei den dunklen Zilienzellen durch Mitochondrien und Glykogenanhäufungen geringe Elektronendurchlässigkeit zeigt.

Im supranuklearen Zellbereich lassen sich freie Ribosomen und ein typisch strukturierter Golgi-Apparat beobachten. Auffällig bei den hellen Zilienzellen sind im Zytoplasma verteilte Desmosom-Mitochondrienkomplexe, die auch in anderen Geweben mit aktiven Transportprozessen in Verbindung gebracht werden (Loewenstein et al., 1965; Penn, 1966).

Auch bei den granulierten Zylinderzellen lassen sich nach Wrobel (1971) helle und dunkle Zelltypen unterscheiden. Die dunklen granulierten Zylinderzellen können auf Grund wechselnder Höhe und wechselnden Granulagehalts weiter differenziert werden. Die Gemeinsamkeit dieses Zelltyps ist der unregelmäßig konturierte, ovale, im distalen Drittel des Zelleibs gelegene Nucleus und die im apikalen Zelldrittel gelegenen Sekretgranula. Einziehungen der Zelloberfläche, die in ihren Abmessungen der Vesikelgröße entsprechen, legen die Vermutung nahe, dass hier Material von der Zelle in das Zervixlumen abgegeben wird.

Die breiten fuchsinophilen Zellen zeichnen sich durch ein weitgehend reduziertes Zytoplasma aus, welches keine Mitochondrien und einzelne, elektronendichte Granula enthält. Die restlichen Granula sind unter Aufhellung ihres Inhaltes und Verlust ihrer Hüllmembranen zu großen Sekretkomplexen zusammengefließen.

In der Phase des Proöstrus entleeren die Zellen ihren Inhalt durch apikale Ruptur in das Zervikallumen.

Gould et al. (1979) beschreiben in den nicht weiter differenzierten, Schleim sezernierenden Zylinderzellen des humanen Zervikalepithels zusätzlich Lysosomen, Fetttropfen, Lipofuscingranula und große Autophagen-Vakuolen. Das Bild der runden Basalzellen, der Ersatzzellen, die das Zervikallumen nicht erreichen, ist durch viele freie Ribosomen, wenige Mitochondrien und ein spärlich entwickeltes endoplasmatisches Retikulum gekennzeichnet. Mit beginnender Differenzierung strecken sich die Zellen in die Länge und schieben sich zwischen Zylinder- und Zilienzellen. Sie enthalten nun mehr Mitochondrien und ein stärker entfaltetes endoplasmatisches Retikulum.

Basalzellen, die sich zu Zilienzellen entwickeln, lagern Glykogen ein, solche, die Schleimzellen werden, beginnen mit der Produktion von Sekretgranula (Wrobel, 1971).

Zervikalbindegewebe

Über die Ultrastruktur des Zervixbindegewebes liegen mehrere Arbeiten vor.

Nach Berwind (1953) besteht das Fasersystem der Frau aus Präkollagenfibrillen mit periodischer Querstreifung. Die Fibrillen weisen eine Dicke von 20 bis 85 μm auf und werden durch Kittsubstanz zusammengehalten.

Leppi und Kinnison (1971) identifizieren bei der ovariektomierten Maus eine kompakte Anordnung von verflochtenen Kollagenfaserbündeln und Bindegewebszellen mit wenig Extrazellulärraum. Bei den Bindegewebszellen handelt es sich um inaktive Fibroblasten, die durch einen elektronendichten Kern, wenig Zytoplasma, ein gering ausgeprägtes, raues endoplasmatisches Retikulum und einen wenig entwickelten Golgi-Apparat gekennzeichnet sind. Gelegentlich sind auch unregelmäßig angeordnete glatte Muskelzellen vorhanden.

Wrobel (1971) unterscheidet bei den stationären Bindegewebszellen des Rindes Fibroblasten und Fibrozyten. Die Fibroblasten besitzen einen großen, hellen, ovalen Zellkern und eine elektronendurchlässige Matrix mit feinsten Filamenten. Diese Filamente sind vor allem in Kernnähe und in den schlanken Zellfortsätzen anzutreffen. Daneben ist ein gut entwickeltes, granuläres endoplasmatisches Retikulum, zwei bis drei umfangreiche Golgi-Felder, große Mitochondrien und frei verteilte Ribosomen vorhanden. Die Fibrozyten dagegen fallen durch einen langgestreckten, dichten Zellkern und eine relativ elektronenundurchlässige, cytoplasmatische Matrix auf. Sie ähneln der Beschreibung nach den von Leppi und Kinnison (1971) angeführten, inaktiven Fibroblasten.

Neben den stationären Bindegewebszellen sieht Wrobel (1971) im Zervikalstroma noch Mastzellen, Plasmazellen, Lymphozyten und Granulozyten. Die Feinstruktur der Mastzellen ist durch die tentakelartigen Zellfortsätze, einen umfangreichen Golgikomplex und in der Zellperipherie gelegene Mastzellgranula gekennzeichnet. Die Plasmazellen zeichnen sich durch pseudopodienartige Zellfortsätze und ein stark entwickeltes, granuläres endoplasmatisches Retikulum aus.

Theobald et al. (1982) beschreiben in der nicht graviden Zervix des Menschen ebenfalls dicht gepackte, feine, wellige Kollagenfasern mit einer periodischen Streifung im Abstand von 640 \AA .

Das Vorhandensein von, aus dicken, verwobenen Kollagenfasern bestehendem, dichtem Stroma kann von Owiny et al. (1987) beim nicht-graviden Schaf bestätigt werden.

Yu et al. (1994) ergänzen, dass bei der ingraviden Ratte die Kollagenfasern parallel und in engem Kontakt zu den Strängen der glatten Muskulatur verlaufen.

2.3 Bindegewebe

Die *Zervix uteri* besteht zu 50 bis 80 Prozent aus Bindegewebe (Danforth, 1947; Harkness und Harkness, 1959). Für die equine Zervix nennt Schuh (1993) einen Wert von 68,66 % im Vergleich zu 80,26 % beim Rind und 81,90 % beim Schaf.

Morphologisch setzt sich das Bindegewebe aus Zellen und Interzellulärsubstanz zusammen.

Zu den ortsständigen, fixen Zellen gehören die Fibroblasten, die an der Synthese der Interzellulärsubstanz maßgeblich beteiligt sind. Die weniger aktive Form der ortsständigen Zellen sind die Fibrozyten. Neben diesen Zellen liegen im Bindegewebe auch freie, mobile Zellen vor, die dem Blut- und Lymphgefäßsystem entstammen.

Die Interzellulärsubstanz ist aus zwei Bestandteilen zusammengesetzt: Der ungeformten, amorphen Grundsubstanz und der geformten, faserigen Grundsubstanz.

Amorphe Grundsubstanz

Hauptbestandteile der amorphen, extrazellulären Matrix sind Makromoleküle, einschließlich Fibronectin, Laminin und Proteoglykanen.

Proteoglykane werden durch ihre *Core-Proteine* definiert. Beispiele für diese Proteoglykane sind Serglycin (PG-S2), Dekorin (PG-S1), Biglykan und Fibromodulin.

An das *Core-Protein* sind über OH-Gruppen 1 bis 100 Glykosaminoglykane (GAGs), wie Heparin, Heparansulfat, Chondroitinsulfat, Dermatansulfat und

Keratansulfat gebunden (Uldbjerg und Malström, 1991). Sechs der acht verschiedenen GAGs werden von Bindegewebszellen produziert (Liggins, 1978). Sie bestehen aus sich wiederholenden Disaccharid-Einheiten, die ein Hexosamin- und ein Uronsäuremolekül oder einen neutralen Zucker beinhalten (Golichowski, 1980).

Das dominierende GAG in der Zervix des Menschen ist nach Nakaya (1974) Dermatansulfat, welches im Dekorin enthalten ist.

Aufgrund ihrer negativen Ladung sind GAGs in der Lage, große Mengen an Wasser zu binden.

Neben den GAGs können auch kleinere Oligosaccharide an ein *Core-Protein* gebunden sein.

Nach der Theorie von Uldbjerg und Malström (1991) umhüllen manche Glykosamine wie Dekorin, die Oberfläche der Kollagenfibrillen und führen so zu deren Organisation, während andere die Kollagenfibrillen aufsplitten.

Die Zusammensetzung der Proteoglykane und die Menge der GAGs wird hormonell beeinflusst. Dies führt über Modulation der Kollagenkomponenten zur Veränderung der mechanischen Eigenschaften der Zervix und wird im Zusammenhang mit der Zervixreifung diskutiert (Uldbjerg und Malström, 1991).

Eine weitere Hauptkomponente der Bindegewebsmatrix ist Fibronectin, ein polymorphes Glykoprotein mit hohem, molekularem Gewicht. Das Gewebsfibronectin wird zu den Nicht-Kollagen Glykoproteinen des Bindegewebes gezählt.

Leppi et al. (1982) konnten Fibronectin, assoziiert mit Kollagen- und glatten Muskelfasern, in der Basalmembran des Zylinderepithels, in der Wand von Blutgefäßen sowie in der Peripherie von Nerven, in der humanen Zervix und in der Zervix von Ratten nachweisen. Nach der Hypothese von Uldbjerg und Malström (1991) stellt Fibronectin eine Verbindung zwischen dem Zytoskelett der Fibroblasten und den Kollagenfasern dar. Eine Interaktion mit Hyaluronsäure, Heparin und Heparansulfat konnte von Rouslahti et al. (1981) ebenfalls gezeigt werden.

Faserige Grundsubstanz

Eingebettet in die amorphe Matrix liegen die faserigen Bestandteile des Bindegewebes. Zu diesen zählen die kollagenen, retikulären und elastischen Fasern.

Kollagen repräsentiert mit 82 % den größten Anteil des Proteins in der nicht-graviden Zervix des Menschen (Danforth und Buckingham, 1973). Es ist die ubiquitär vorkommende Strukturkomponente des Bindegewebes und ist verantwortlich für die biomechanischen Eigenschaften der *Cervix uteri*.

Die in der Zervix zumeist parallel angeordneten Kollagenfibrillen setzen sich aus einzelnen Untereinheiten, dem Tropokollagen, zusammen. Das Tropokollagen wiederum besteht aus drei helikal gewundenen Polypeptidketten aus rund 1000 Aminosäuren. Die vorherrschenden Aminosäuren sind Glyzin, Prolin und Hydroxyprolin.

Biochemisch und morphologisch lassen sich verschiedene Kollagentypen unterscheiden. Nach Kleissl (1978) und Burgeson (1988) dominieren in der Zervix die Typen I und II. Minamoto et al. (1986) lokalisieren Typ I und II- Fasern um Bündel der glatten Muskulatur und weisen zusätzlich Typ IV als äußere Begrenzung der einzelnen Muskelfasern und im Bereich der Basalmembran der Gefäße nach.

Die retikulären Fasern sind feine, stark verzweigte, fadenartige Strukturen, die ein Netzwerk um die Kollagenfasern und die Zellen der glatten Muskulatur bilden. In der nicht-graviden Zervix erscheinen sie nach Danforth und Mitarbeitern (1960) als kurze, unregelmäßig verteilte Segmente.

Retikulinfasern ähneln in ihrer biochemischen Zusammensetzung Kollagenfasern. Ihre Vorstufen werden ebenfalls von Fibroblasten synthetisiert und extrazellulär zu Mikrofibrillen polymerisiert.

Der Nachweis von elastischen Fasern gelingt Danforth et al. (1960) nur in und um die Wand großer Blutgefäße.

Elastische Fasern setzen sich aus einer amorphen, zentralen Masse und einem mantelartig anliegenden Mikrofibrillensaum zusammen. Die amorphe Substanz besteht vorrangig aus Elastin sowie Glyzin, Alanin und Prolin. Fibroblasten und

gelegentlich glatte Muskelzellen synthetisieren Proelastin, das, ähnlich den Kollagenfasern und Retikulinfasern, extrazellulär zur Faser polymerisiert und sekundär von hydrophilen Fibrillen umlagert wird (Liebich, 1998).

2.4 Zellpopulationen

Sowohl im Epithel als auch im Stroma der Zervix ist eine große Zahl an Zellen anzutreffen.

Die dominierende Zellpopulation des zervikalen Bindegewebes besteht aus ortsständigen Fibroblasten (Luque et al., 1997).

Daneben kommen im zellreichen Stroma auch mobile Zelltypen wie Mastzellen, Plasmazellen, Lymphozyten und Granulozyten vor (Wrobel, 1971).

Diese haematopoetischen Zellen sind so ausgestattet, dass sie innerhalb ihrer Mikroumgebung sowohl immunologische als auch nicht immunologische Funktionen erfüllen können (Hunt, 1994).

Immunkompetente Zellen

Schleimhäute, die mit fremdem, antigenetischem Material in Berührung kommen, wie der Gastrointestinal- oder der Respirationstrakt, haben ein spezialisiertes Immunabwehrsystem entwickelt, das sogenannte „*mucosa-associated lymphoid tissue*“ oder MALT (Parrot, 1976; Bienenstock et al., 1978; Isaacson and Wright, 1984).

Die essenziellen Komponenten des MALT sind:

1. Eine lokale Population intraepithelialer Zellen, die Antigene erkennen und präsentieren, zum Beispiel Langerhans-Zellen
2. Eine Population intraepithelialer und subepithelialer T-Lymphozyten
3. Eine subepitheliale Population von B-Lymphozyten, die lokal IgA produzieren und diese Immunglobuline an die Oberfläche abgeben

Langerhans-Zellen

Die Antigen-erkennenden und -präsentierenden Zellen des Epithels sind dendritische Makrophagen oder Langerhans-Zellen. Diese, ausschließlich elektronenmikroskopisch oder immunhistologisch darstellbaren Zellen, zeichnen sich durch dendritische, zytoplasmatische Fortsätze aus und beinhalten zytoplasmatische Organellen, die Langerhans- oder Birbeck- Granula (Birbeck et al., 1961). Sie exprimieren in kleinen Mengen Immunglobulin Fc- und Komplement (C3)- Rezeptoren (Steinman, 1981).

Immunhistologisch lassen sich verschiedene Untergruppen der Langerhans-Zellen unterscheiden (Gonwa et al., 1983; Tay et al., 1987; Roncalli et al., 1988).

Langerhans-Zellen sind in allen Schichten des Zervikalepithels vorhanden und verteilen sich beim Menschen auf die gesamte Länge des Zervikalkanals. Die Dichte liegt bei 74-145 Zellen pro mm². Sie besitzen feine, zytoplasmatische Fortsätze, die sich zwischen den Zellen von der Basalmembran bis in oberflächliche Schichten verzweigen und ein filigranes Netzwerk bilden. Manche dendritische Zellen entsenden Zellfortsätze, die sich bis in den Bereich unterhalb der Basalmembran ausdehnen und Kontakt mit den Kapillaren des Stromas aufnehmen (Morris et al., 1983).

T-Lymphozyten

Neben den dendritischen Makrophagen lassen sich sowohl im Epithel als auch subepithelial im Stroma der humanen Zervix T-Lymphozyten nachweisen. Immunhistologisch angefärbt zeigt sich, dass es sich bei diesen Zellen überwiegend um cytotoxische und Suppressor T-Zellen (CD8+) handelt, während T-Helferzellen (CD4+) sich nur in geringen Mengen nachweisen lassen (Morris et al., 1983; Roncalli et al., 1988).

T-Lymphozyten kommen in allen Zellschichten vor, wobei sie jedoch im subepithelialen Stroma häufiger zu finden sind als im tiefer gelegenen Bindegewebe.

Bei zwischen den Basalzellen des Epithels angesiedelten T-Zellen, seltener bei den Stroma-T-Zellen, beobachten Morris et al. (1983) Kontakt zu den Zellfortsätzen der Langerhans-Zellen.

Aus dieser Beobachtung heraus entstand die Erklärung der Funktionsweise dieser beiden Zellpopulationen: Dendritische Makrophagen nehmen exogenes antigenetisches Material auf, prozessieren es in intrazellulären Organellen und präsentieren es den Stromalymphozyten. Diese migrieren in das Epithel und reagieren mit dem Antigen, gegen das sie sensibilisiert sind. Es ist ebenfalls möglich, dass es zu einer Rekrutierung zirkulierender T-Zellen kommt (Morris et al., 1983).

B-Lymphozyten

B-Lymphozyten stellen die Grundlage des lokalen sekretorischen Immunsystems der Zervix dar. Sie gehören, wie auch die T-Lymphozyten, zur spezifischen, zellulären Abwehr.

Die in der *Submucosa* gelegenen B-Lymphozyten zeichnen sich dadurch aus, dass sie sich auf eine lokale, antigenetische Stimulation zu Plasmazellen differenzieren und Antikörper produzieren, deren Exkretion über das Epithel auf die Schleimhautoberfläche und den sie bedeckenden Schleim erfolgt (Fox, 1993). In der Produktion von sekretorischen Immunglobulinen dominieren die IgA-Plasmazellen, gefolgt von IgM und IgG (Vaerman, 1973). Dies konnte von Widders und Mitarbeitern (1985) in Vagina, Zervix und Uterus der Stute bestätigt werden.

Sekretorisches IgA hat virusneutralisierende Eigenschaften, verhindert das Anheften von bakteriellen Keimen an die Schleimhautoberfläche, aktiviert Komplement über den alternativen Weg, wirkt bakterizid bei Anwesenheit von Lysozym und Komplement, opsoniert Bakterien für die Phagozytose und verhindert den Eintritt von Antigenen durch die Bildung von nicht-absorbierbaren Komplexen mit dem antigenetischen Molekül (Doe, 1982).

Plasmazellen aller Isotypen konnten von Widders et al. (1985) in der Schleimhaut und in der *Lamina propria* der equinen Zervix nachgewiesen werden, wobei die Färbung von IgM nur gering ist. Die Zervix unterscheidet sich von anderen Abschnitten des Genitaltraktes durch eine deutlich erhöhte Zahl an Plasmazellen, was von Vaerman und Férin (1974) beim Menschen bestätigt werden konnte.

Nach Ansicht dieser Autoren besitzt demnach die Zervix das effektivste lokale sekretorische Immunsystem im Vergleich zu Uterus und Vagina.

Natural Killer Zellen

Natural Killer (NK) Zellen, auch „*large granular lymphocytes*“ genannt, gehören als Subpopulation der Lymphozyten ebenfalls zur spezifischen zellulären Abwehr.

NK-Zellen sind im Stroma der normalen menschlichen Zervix, im Gegensatz zum Uterus, gar nicht oder nur in geringen Mengen nachweisbar (Hunt, 1989).

Ihre Funktion besteht in der Immunabwehr von virusinfizierten Zellen und Tumorzellen. Sie tragen jedoch keine Antigenrezeptoren und die Erkennung der Zielzellen erfolgt ohne vorherige Sensibilisierung (Roncalli et al., 1988).

Makrophagen

Makrophagen, die zu den mononukleären Phagozyten gehören, stellen einen wichtigen Bestandteil der unspezifischen (angeborenen), zellulären Immunität dar.

In der nicht-graviden Zervix von Mäusen konnten diese Zellen vorwiegend in der Schleimhaut entlang des luminalen Epithels, in der *Lamina propria* und in der Muskelschicht, oft assoziiert mit Ansammlungen von neutrophilen Granulozyten gefunden werden. Ihnen wird neben der immunologischen Funktion auch eine Bedeutung hinsichtlich der zervikalen Reifung zugeschrieben, da bei der Maus die Zahl vor der Geburt stark ansteigt und am vorletzten Graviditätstag ein Maximum erreicht (Mackler et al., 2000).

Neutrophile Granulozyten

Neutrophile Granulozyten zählen zu den polymorphkernigen Phagozyten (Mikrophagen) und sind wie die Makrophagen ein Bestandteil der unspezifischen, zellulären Immunität. Im normalen Bindegewebe kommen sie nur selten vor, wohingegen sie im Blut die zahlenmäßig dominierende Zellpopulation darstellen.

Neutrophile Granulozyten stammen aus dem Knochenmark, verweilen kurze Zeit im Blut und migrieren dann zwischen den Endothelzellen hindurch in das perivaskuläre Gewebe. Die Lebensspanne umfaßt aufgrund limitierter Energiereserven nur wenige Tage (Fawcett, 1994).

Ihre Funktion besteht in der Phagozytose und Zerstörung von antigenetischem Material, in erster Linie Bakterien. Zu diesem Zweck enthalten sie Granula mit bakteriziden Enzymen, wie Peroxidase, saurer Phosphatase, β -Glucuronidase, alkalischer Phosphatase, Lysozym, Laktoferrin und Phagozytine.

Nach mikrobieller Invasion induzieren Spaltprodukte der Komplementfaktoren und der Zytokine eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen, die ein Haften der neutrophilen Granulozyten am Kapillarendothel und eine nachfolgende Emigration in das Bindegewebe ermöglichen. Auf chemotaktischem Weg erreichen sie dann ihr Zielgebiet. Diese Mechanismen ermöglichen eine schnelle Mobilisation großer Mengen an neutrophilen Granulozyten, die ortsansässige Makrophagen unterstützen (Fawcett, 1994).

In gesundem zervikalen Gewebe spielen sie nur um den Zeitpunkt der Geburt eine Rolle, während sie im Ingraviden Zustand nicht nachweisbar sind.

Junqueira et al. (1980) stellt in humanen, intrapartalen Gewebeproben der Zervix einen starken Zahlenanstieg dieser Zellpopulation fest. Ihre Darstellung gelingt besonders an der inneren Oberfläche der Venolen und oft kann auch eine Migration durch die Wand der Gefäße in das umliegende kollagene Bindegewebe beobachtet werden. Im Gewebe zeigen die Zellen die Tendenz, ihre Granula zu verlieren. Daneben ist eine vermehrte Zahl an Fibroblasten, Mastzellen und Makrophagen zu erkennen.

Auch Luque et al. (1997) stellen bei Schafen *intra partum* eine massive Infiltration mit neutrophilen Granulozyten fest, wobei sich die Verteilung vor allem auf die oberflächlichen subepithelialen Schichten beschränkt und weniger auf tiefere Schichten der Zervix. Dies widerspricht Luques (1997) Meinung nach der These, dass diese Zellen an der Kollagenolyse zum Zeitpunkt der Geburt beteiligt sind, da diese auch in den tiefer gelegenen Schichten geschieht. Nach Kelly (1994) könnte die zervikale Leukozyteninvasion *intrapartum* auch in der Errichtung einer Barriere gegen Infektionen durch den offenen Zervikalkanal involviert sein. Diese Aussage kann durch die Feststellungen von Saltiel et al. (1987) gestützt werden, die in der zerviko-endometrialen Zytologie der Stute *post partum* eine Abnahme der neutrophilen Granulozyten analog zur Bakterienzahl beobachten.

Eosinophile Granulozyten

Ebenso wie die neutrophilen Granulozyten sind die eosinophilen Granulozyten, die zur Gruppe der polymorphkernigen Phagozyten zählen, als Bestandteil der unspezifischen, zellulären Immunität zu sehen.

Eosinophile Granulozyten stammen ebenfalls aus dem Knochenmark, differenzieren sich in der Milz und zirkulieren dann wenige Stunden im Blut. Die Produktion und Freisetzung wird von Zellprodukten aktivierter T-Lymphozyten und Makrophagen reguliert. Gesteuert über lokale Chemotaxis wandern die eosinophilen Granulozyten in das Gewebe aus, wo ihre Lebensdauer nur 8 bis 10 Tage beträgt. Eine zentrale Rolle bei der chemotaktischen Steuerung nehmen dabei die Freisetzung von Histamin und für die Eosinophilen spezifische Zytokine aus den Mastzellen ein (Fawcett, 1994).

Die eosinophilen Granulozyten zeichnen sich durch eine hohe Zahl an cytoplasmatischen Granula aus, wobei das Pferd die größten unter den Haussäugetieren besitzt. Diese Granula enthalten Peroxidasen, Phosphatasen, Wachstumsfaktoren, Zytokine und Kollagenasen. Neben diesen primären, homogenen Granula kommen bei einigen Tierarten auch kristalloide Granula vor, beim Pferd jedoch nicht (Jain, 1986).

Eosinophile Granulozyten setzen nach schneller Mobilisation Entzündungsmediatoren frei, die die Leukozytenrekrutierung, den Abbau der Basalmembran und die Angiogenese kontrollieren (Reibiger und Spanel-Borowski, 2000). Die Aktivierung erfolgt mit Hilfe von Fc-, C3-Rezeptoren und Histaminrezeptoren an ihrer Oberfläche.

Im gesunden Zervixgewebe sind sie nur intra- und postpartal anzutreffen. Eine massive Infiltration dieses Zelltyps lässt sich bei der Ratte *intra partum* darstellen, im ingraviden Zustand hingegen nicht (Luque und Montes, 1989; Luque et al., 1996 und 1998). Die Zellen verteilen sich gleichmäßig im zervikalen Bindegewebe, sind aber im Bereich um kleinere Blutgefäße häufiger anzutreffen (Luque und Montes, 1989). Robertson et al. (2000) finden bei *intra partum* befindlichen Mäusen die eosinophilen Granulozyten vornehmlich im subepithelialen Stroma.

Die Funktion der eosinophilen Granulozyten ist in dieser Lokalisation noch nicht vollständig geklärt. Trotz der hydrolytischen Enzyme sind sie vermutlich aufgrund

eines Mangels an Lactoferrin und Phagocytin weniger effektiv in der Zerstörung von Bakterien als neutrophile Granulozyten. Im Allgemeinen wird ihre Aufgabe in der Regulation von allergischen Erkrankungen und akuten Entzündungsreaktionen, der Blutkoagulation und Fibrinolyse und in der Abwehr von parasitären Infektionen gesehen (Sun et al., 1991; Fawcett, 1994). Diese erst genannte regulierende Funktion wird vornehmlich über eine Interaktion mit der Mastzellpopulation vermittelt. Sie beinhaltet die Fähigkeit Immunkomplexe und Mastzellgranula zu phagozytieren und über die Sekretion von Prostaglandinen und Zink die Freisetzung von Histamin, Serotonin und PAF aus den Mastzellen zu inhibieren. Desweiteren verfügen eosinophile Granulozyten über Faktoren, die das Auffüllen des Histamins in den Mastzellen unterdrücken und Histaminasen, die freies Histamin inaktivieren. Peroxidasen und Phospholipase C der eosinophilen Granulozyten deaktivieren weitere aus den Mastzellen stammende Entzündungsmediationen.

In der Zervix speziell wird vermutet, dass auch dieser Zelltyp zum Schutz vor Infektionen anwesend ist, da die Zervix ihre morphologische Barrierefunktion intra partum verliert (Kelly, 1994). Saltiel et al. (1987) stellen in Zervix und Uterus wie auch bei den neutrophilen Granulozyten eine Abnahme der eosinophilen Granulozyten korrelierend zur Bakterienzahl bei der Stute post partum fest. Andere Autoren diskutieren eine Beeinflussung der Permeabilität des Zervixgewebes durch eosinophile und neutrophile Granulozyten, welches einen schnelleren Transport von Hormonen und anderen, lokal wirksamen Substanzen ermöglicht (Hibbs et al., 1982; Milks et al., 1986).

Tierartlich vergleichend ist festzustellen, dass es sich bei der intrapartalen Zellinfiltration der Ratte, der Maus und des Rindes um eosinophile Granulozyten handelt, während diese bei Mensch und Schaf von neutrophilen Granulozyten getragen wird (Luque und Montes, 1989; Junqueira et al., 1980; Luque et al., 1997; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2002).

Mastzellen

Bindegewebsmastzellen, Schleimhautmastzellen und die basophilen Granulozyten des Blutes lassen sich zur Gruppe der metachromatisch granulierten Zellen zusammenfassen (Enerback et al., 1978). Sie stammen aus dem Knochenmark, gelangen in Form von Vorläuferzellen an ihren Bestimmungsort und haben dort eine Lebensdauer von Wochen bis Monaten (Fawcett, 1994).

Mastzellen enthalten in ihren zahlreichen großen Granula eine Reihe sehr wirksamer Entzündungsmediatoren, einschließlich neutraler Proteinasen, Histamin, Eicosanoiden, Proteoglykanen und Zytokinen (Bradding et al., 1995). Sie besitzen an der Oberfläche IgE, wodurch sie in der Lage sind, mit einer großen Zahl von Antigenen zu reagieren und nach Degranulation eine lokale Immunantwort auszulösen. Dies ist vor allem bei der Allergie vom anaphylaktischen Typ von zentraler Bedeutung.

Aufgrund ihrer chemischen Ausstattung spielen Mastzellen eine Rolle in der Vermittlung von Entzündungsprozessen und sind an der Synthese der Bindegewebsgrundsubstanz beteiligt. Es wird vermutet, dass die Entzündungsmediation unter anderem auf synapsenartige Verbindungen der Mastzellen zu Nervenfasern beruhen, die für lokale, neuroimmune Verbindungen verantwortlich sind (Reibiger und Spanel-Borowski, 2000). Desweiteren stimulieren einige Inhaltsstoffe der sekretorischen Granula, vor allem Tryptase, die Rekrutierung von Granulozyten. Histamin und ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis) führen chemotaktisch zu einer Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten. Dies ist besonders bei allergischen Erkrankungen entscheidend (He et al., 1997). Die Tryptase der Mastzellen besitzt aber nicht nur einen Einfluß auf immunkompetente Zellen, sondern auch auf Fibroblasten, deren Kollagenproduktion und -freisetzung sie fördern (Cairns et al., 1997).

Mit der Produktion von Proteoglykanen, an erster Stelle Heparin, sind die Mastzellen auch direkt an der Synthese der Bindegewebsmatrix beteiligt.

Die meisten Organe enthalten Mastzellen als normalen Bestandteil des Bindegewebes. So lassen sie sich auch im Bindegewebe der Zervix des Rindes mit einer Dichte von durchschnittlich 37 Zellen pro Querschnitt einer Primärfalte

nachweisen (Wrobel, 1971). Intrapartum kommt es in der Zervix des Menschen zu einem deutlichen Anstieg dieser Zellpopulation (Junqueira et al., 1980).

Im Uterus von Färsen lassen sich Mastzellen vor allem direkt subepithelial und in der Nähe von Blutgefäßen darstellen. Im engen Kontakt zum Endometrium dienen sie dazu, mit den Antigenen zu reagieren, denen es gelingt die *Mucosa* als äußere Barriere zu überwinden. Über den Blutstrom an ihren Bestimmungsort befördert, sind sie in Gefäßnähe ebenfalls häufiger anzutreffen (Galeotti et al., 1997).

2.5 Physiologische Veränderungen der Zervixstruktur

2.5.1 Altersabhängige Unterschiede

Postnatal vollziehen sich an den weiblichen Geschlechtsorganen unter neurohormonaler Steuerung funktionsbedingte Veränderungen (Leiser, 1999).

Die *Cervix uteri* des juvenilen Tieres unterscheidet sich makroskopisch von der adulter Tiere durch geringere Größe und Gewicht, sowie eine weichere Konsistenz. Die Schleimhautfaltung zeigt bereits ihre arttypische Struktur, ist aber zierlicher und weniger deutlich ausgeprägt.

Nach Erreichen der Geschlechtsreife ist die Zervix größer und von festerer Beschaffenheit. Die Schleimhaut färbt sich dunkler.

Die Zervix älterer, gravid gewesener Tiere, zeichnet sich durch eine besondere Derbheit und Stärke der Wandung aus und zeigt eine erhebliche Vergrößerung der Schleimhautfalten. Die Aufhängebänder sind solider geworden und die Blutgefäße dickwandiger, großvolumiger und stärker geschlängelt (Seiferle, 1933). Beim Pferd zeigt sich der Altersunterschied deutlich im Durchmesser der Zervix, der bei einer von Röber (1914) untersuchten Maidenstute 1,5 cm und bei einer 20 jährigen Stute 3,5 cm betrug.

Lichtmikroskopisch zeichnet sich das Epithel bei älteren Pferden im Vergleich zu jüngeren durch einen einheitlicheren Bau aus. In der *Lamina propria* sind mehr Blutgefäße sichtbar und der Anteil an Bindegewebe und elastischen Fasern des Stromas nimmt zu. Die Vermehrung der elastischen Fasern ist besonders in der *Serosa* und *Adventitia* sichtbar (Röber, 1914). Im Zervikalepithel des juvenilen Rindes dominieren vor allem Basalzellen und Zylinderzellen, die sich nicht ohne weiteres in die Kategorien der adulten Zervix einordnen lassen. Zilienzellen und fuchsinophile Zellen kommen nur in einer Häufigkeit von 0,5 % (Zilienzellen) bis 4,1 % (fuchsinophile Zellen) vor (Vergleich adult: 5,36 % und 16,38 %). Die Zylinderzellen besitzen ein RNS-armes Zytoplasma und nahe der Zellbasis liegende, ovale oder runde Kerne mit aufgelockertem Chromatin. Die *Apices* der

Hauptzellen wölben sich leicht in das Zervikallumen vor. Darunter befindet sich eine fast geschlossene Lage von Basalzellen (Wrobel, 1971).

Elektronenmikroskopisch zeigt sich, dass die seltenen Zilienzellen des Kalbes Spindelform aufweisen, das Zytoplasma eine ähnliche optische Dichte wie die der Basalzellen hat und dass das endoplasmatische Retikulum nur schwach entwickelt ist.

Der apikale Zellsaum trägt wenige, zum Teil nicht ausdifferenzierte Zilien. Die Hauptzellen des Kalbes sind schlanke Zylinder ohne Zilienbesatz. Die Mehrzahl dieser Zellen besitzt apikale Zytoplasmfortsätze und enthält schon Sekretgranula im supranuklearen Bereich. Die zytoplasmatische Matrix ist mäßig dicht und beherbergt viele freie Ribosomen und ein gut entwickeltes, granuläres endoplasmatisches Retikulum. Basalzellen und fuchsinophile Zellen unterscheiden sich nicht von denen des erwachsenen Rindes. Die Stromazellen der juvenilen Zervix ähneln mehr den Fibroblasten als den Fibrozyten und fallen durch einen Reichtum an Mikrotubuli auf (Wrobel, 1971).

Beim Menschen stellt Strauss (1969) eine Kollagenisierung der Zervix und eine Reduzierung der Grundsubstanz mit zunehmendem Alter fest und begründet mit dieser Tatsache das Problem der Muttermundsöffnung bei „alten Erstgebärenden“. Auch Berwind (1953) sieht diese Tendenz zur Kollagenisierung.

Eine besondere Auswirkung des Alters zeigt sich auch bei der Zellpopulation im zervikalen Gewebe. Bei den Untersuchungen von Widder et al. (1985) am Genitaltrakt juveniler Stuten lassen sich keine Plasmazellen oder Immunglobuline im Epithel nachweisen. In der *Lamina propria* gelingt dies nur in geringen Mengen. Im pränatalen zervikalen Gewebe des Menschen ist eine deutlich geringere Zahl an Langerhans-Zellen zu beobachten (26-33 Zellen pro mm² zu 74-145 Zellen pro mm² bei Adulten), die auch über weniger zytoplasmatische Fortsätze verfügen. Ähnliches trifft auch auf die B- und T-Lymphozyten in allen Gewebeschichten zu (Morris et al., 1983).

Auch Mastzellen sind in der Zervix beim juvenilen Rind nur selten darzustellen (Wrobel, 1971).

Die oben genannten Autoren erklären diese Tatsache mit dem Fehlen des stimulierenden Einflusses von antigenetischem Material, mit dem pränatales und juveniles Zervixgewebe nur in geringem Maße in Berührung kommt.

2.5.2 Regionale Unterschiede

Die equine Zervix zeigt aus histologischer Sicht auffallende regionale Unterschiede.

Von der Vagina aus über die Ektozervix zur Endozervix gehend, ergibt sich ein allmählicher Übergang des mehrschichtigen Plattenepithels zu einem mehrreihigen und schließlich einschichtigen Zylinderepithel. In der Mitte des Zervikalkanals erreichen die Schleimhautfalten ihre maximale Höhe und den höchsten Ausdifferenzierungsgrad. In der Nähe des Uterus verliert die Zirkulärschicht der *Tunica muscularis* an Dicke und der Muskelanteil der *Serosa* nimmt zu. Eine Verflechtung der Zirkulär- und Längsmuskulatur ist im Bereich des *Orificium externum* zu erkennen (Röber, 1914).

Schuh (1993) beschreibt bei der equinen Zervix hingegen von kaudal nach kranial eine Zunahme der Wanddicke, der Faltenhöhe und der Dicke des *Stratum circulare*, sowie eine Abnahme der *Tunica mucosa*. Histomorphometrisch gemessen umfaßt der bindegewebige Anteil kaudal 72,30 % und in der Mitte 65,03 %, der muskulöse Anteil entsprechend 27,70 % und 34,97 %.

Auch Harkness und Harkness (1959) stellen bei der histomorphometrischen Untersuchung der Rattenzervix deutliche regionale Unterschiede fest. Besteht die Zervix der Ratte am kaudalsten Pol des intravaginalen Teils (Ektozervix) noch zur Hälfte aus Epithel, reduziert sich dieser Anteil nach kranial auf ca 6 %. Der bindegewebige Part vermehrt sich von kaudal nach kranial von ca. 48 % auf ca. 65 %. Eine starke Massenzunahme der glatten Muskulatur wird ebenfalls sichtbar (2 % kaudal, 32 % kranial).

Diese Angaben stimmen weitestgehend mit den histologisch und chemisch ermittelten Ergebnissen des Muskelgehalts der humanen Zervix von Rorie und

Newton (1967) überein, die Werte von 6,4 % im unteren Drittel, 18 % im mittleren Drittel und 28,8 % im oberen Drittel, im Vergleich zu 68,8 % im Uterus ermitteln.

Es finden sich keine regionalen Unterschiede in der Dichte der Langerhanszellen, wohingegen die Zellzahl der T-Lymphozyten in der Übergangszone zum Zervikalkanal des Menschen sehr viel höher ist als im Epithel der Ektozervix (Edward und Morris, 1985). IgG- und IgM-Plasmazellen weisen im Uterus des Pferdes eine höhere Dichte auf als in der Vagina, während die dominierenden IgA-Plasmazellen im kranialen Genitale ihre Maximalwerte zeigen (Widders et al., 1985).

2.5.3 Zyklusabhängige Unterschiede

Die verschiedenen Phasen des Brunstzyklus spiegeln sich in zyklischen Veränderungen der Zervix wider, die sowohl makroskopisch als auch auf zellulärer Ebene darzustellen sind.

Proöstrus / Östrus

Im frühen Östrus fängt die sonst zapfenförmige Zervix der Stute an, durch beginnende Ödematisierung abzuflachen. Sie sinkt ab und das *Orificium externum* beginnt sich zu öffnen. Die Schleimhaut ist rosa, feucht und stärker vaskularisiert. Gegen Ende des Östrus sinkt die Zervix bis in die Nähe des Vaginalbodens. Das *Orificium externum* ist geöffnet und die Schleimhaut ist rosarot, feucht und deutlich vaskularisiert (Andrews und McKenzie, 1941).

Ultrasonographisch weist die Zervix der Stute im frühen Östrus einen Durchmesser von durchschnittlich 2,5 bis 3,5 cm auf. Der Übergang der *Tunica mucosa* zur *Tunica muscularis* ist nur nahe des äußeren Muttermundes zu erkennen. Das Lumen des Zervikalkanals ist an dieser Stelle schmal. Parallele weiße Linien, die den längs verlaufenden Schleimhautfalten entsprechen, sind, wenn vorhanden, weit verteilt. Im Östrus vergrößert sich der Durchmesser der Zervix auf 3 bis 5 cm. Die Muskelschicht ist stärker ausgeprägt und aufgrund ihrer Ödematisierung

homogen hypoechogen oder nur im Bereich der *Tunica serosa* echogen. Im Bereich des Zervikalkanals können schwache hyperechogene Linien vorhanden sein oder Mukosa und Muskularis haben ein homogenes, nicht unterscheidbares Erscheinungsbild (Day et al., 1995).

Im Östrus wirken die Epithelzellen des Pferdes höher, geschwollen und sind mit Schleim gefüllt (Ginther, 1992). Leukozyten invadieren in die Zervix. Übereinstimmungen finden sich bei histologischen Untersuchungen des Rindes. Das Epithel besitzt ebenfalls hohe, breite Zylinderzellen. Es dominieren die fuchsinophilen Zellen, die mit Schleimkomplexen angefüllt sind. Zilienzellen dagegen machen im Proöstrus und Östrus weniger als 10 % aus.

Im Zervixstroma werden die Kollagenbündel durch große Zwischenräume getrennt.

Harkness und Harkness (1959) bestimmen die Kollagenkonzentration im Östrus auf 5,6 g/100 g Trockengewicht (Vergleich Diöstrus 7,15 g).

Als stationäre Elemente überwiegen Fibroblasten und die Stromakapillaren sind weitgestellt. Mastzellen kommen zur Zeit des Proöstrus im zentralen Stroma der Primärfalten und im intermuskulären Bindegewebe in mäßigen Mengen vor. Während des Östrus fehlt diese Zellart fast völlig. Wrobel (1971) deutet diese Tatsache damit, dass eine Entspeicherung der Granula stattgefunden hat, da die angewendete histochemische Technik nur die granulareiche Form erfaßt.

Metöstrus

Während dieser Zyklusphase ist die equine Zervix kontrahiert, die Ödematisierung geht zurück und das *Orificium externum* ist geschlossen (Andrews und McKenzie, 1941). Im ultrasonographischen Bild entspricht die Erscheinung der Zervix in etwa der des Proöstrus (Day et al., 1995).

Im Zervikalepithel des Rindes beginnen sich die Zylinderzellen abzuflachen. Die Zahl der Zilienzellen, der Basalzellen und der Mastzellen nimmt im Vergleich zum Östrus zu, die Zahl der Fibroblasten dagegen nimmt ab (Wrobel, 1971).

Diöstrus

Während des Diöstrus stellt sich die Zervix des Pferdes durch maximalen Muskeltonus deutlich, fest und gut abgrenzbar dar. Sie ist zentral lokalisiert und in das Vaginallumen protrudierend, bei fest verschlossenem *Orificium externum*. Die Schleimhaut ist blass, trocken und wenig vaskularisiert (Andrews und McKenzie, 1941).

Der ultrasonographisch gemessene Durchmesser beträgt 2 bis 3,5 cm. Das *Stratum musculare* stellt sich echogen und dünn dar, wobei der Übergang zur *Tunica mucosa* deutlich zu erkennen ist. Im Lumen der Zervix lassen sich, neben anechogenen Bereichen, dichte weiße Linien erkennen (Day et al., 1995).

Das Zervikalepithel des Pferdes weist zu dieser Zyklusphase eine kuboidale Form auf (Ginther, 1993).

Auch beim Rind haben sich die Zylinderzellen des Epithels maximal abgeflacht. Die Zilienzellen machen etwa 10 –20 % der Epithelzellen aus, nachdem sie im späten Metöstrus ihr zahlenmäßiges Maximum erreicht hatten. Die Kollagenbündel im Zervixstroma liegen dicht zusammen. An stationären Zellen überwiegen die Fibrozyten.

Die Zahl der Mastzellen erreicht zu Beginn des Diöstrus ihr Maximum. Die Zellen sind in großer Zahl im Bindegewebe der Tertiärfalten und zwischen den Muskelbündeln festzustellen (Wrobel, 1971). Dagegen konnte ein Einfluß des Brunstzyklus auf die Plasmazellzahl beim Pferd nicht festgestellt werden (Widders, 1985).

2.5.4 Hormonell bedingte Unterschiede

Funktionsbedingte Unterschiede der Zervix im Zyklusverlauf, der Gravidität und während der Geburt, unterliegen hormonellen Kontrollmechanismen. Eine besondere Rolle dabei spielen Östrogene, Progesteron, Relaxin, Prostaglandine und Oxytocin.

Östrogene

Bei den Östrogenen handelt es sich um Steroidhormone, deren Bildung in den Granulosazellen des Ovarfollikels, der Nebennierenrinde und tierartlich unterschiedlich auch in der Plazenta erfolgt (Döcke, 1994). Liggins (1978) vermutet, dass Östrogene notwendig für die physiologische Entwicklung der graviden Zervix, einschließlich der praepartalen Reifung sind. Dies geschieht nicht durch direkte Stimulation sondern im Zusammenspiel mit anderen Hormonen.

Bei den Untersuchungen von Leppi und Kinnison (1971) an der Zervix der Maus zeigt sich, dass das Stroma mit Estradiolbenzoat behandelten Tieren durch weit verteilte Bündel an Kollagenfasern gekennzeichnet ist. Die Fibroblasten sind größer und enthalten ein hochentwickeltes endoplasmatisches Retikulum und Golgikomponenten. Nahe der Zelloberfläche sind zytoplasmatische Vesikel zu erkennen.

Nakayas Studie an der humanen Zervix (1974) ergab, dass die Behandlung mit Estriol oder Estradiol zu einer absoluten und prozentualen Massenzunahme der Glycosaminoglykane führt. Bei der Betrachtung der einzelnen GAGs wird offensichtlich, dass der Hyaluronsäurewert nach Estradiolbehandlung mit einer 3,4- bis 4,0-fachen Erhöhung die stärkste Reaktion zeigt.

Rajabi et al. (1991) liefern weitere Erkenntnisse bezüglich der Frage nach der Wirkung der Östrogene. Es kann in Organkulturen des Meerschweinchens nachgewiesen werden, dass die physiologische Konzentration an Estradiol-17 β den Abbau von Typ I Kollagenfasern in der ingraviden Zervix stimuliert.

Östrogene beeinflussen aber nicht nur die mechanischen Eigenschaften der Zervix sondern haben auch einen Einfluß auf die Zellpopulationen und deren Verteilungsmuster. Schon 1960 fanden Hawk et al. beim Kaninchen heraus, dass Östrogene die Leukozytenemigration und die Elimination von *E. coli* aus dem Uterus fördern, wohingegen Progesteron sie hemmt. Luque et al. (1998) stellten fest, dass Estradiol-17 β bei Ratten *intra partum* zu einer Invasion von eosinophilen Granulozyten in das Zervikalgewebe führt.

Maximale Plasmazellzahlen werden bei der Maus (McDermott et al., 1980) und bei der Ratte (Wira et al., 1980) ebenfalls unter Östrogeneinfluß nachgewiesen.

Progesteron

Progesteron, ein C21-Steroid, wird im *Corpus luteum*, der Nebennierenrinde und der Plazenta gebildet (Döcke, 1994).

Im Gegensatz zum Östrogen scheint das Progesteron als Inhibitor der Zervixreifung zu wirken. Es verhindert als einziges Hormon *in vitro* den Nettoverlust von Kollagen beim Menschen (Hillier und Wallis, 1981). Einen möglichen Erklärungsansatz liefern Jeffrey und Koob (1980) mit der These, dass Progesteron in der Lage ist, die Kollagenaseproduktion, die zum Abbau des Kollagens führt, zu unterdrücken. Vermittelt wird diese Hemmung durch zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP). Progesteron erniedrigt den Spiegel der zyklischen Nukleotidphosphodiesterase, die cAMP abbaut. Der cAMP-Spiegel steigt an und hemmt die Kollagenasesynthese. Zusätzlich zu der Suppression der Kollagensynthese konnten Sato et al. (1991) beim Kaninchen zeigen, dass hohe Plasmaprogesteronspiegel zu einer beschleunigten Synthese eines Proteinaseinhibitors führt (*tissue inhibitor of metalloproteinases* = TIMP). Auf die Abwehrmechanismen hat Progesteron einen hemmenden Einfluß, da es die Leukozytenmigration reduziert (Hawk et al, 1960; Jeffrey und Koob, 1980). Dies konnten Luque et al. (1996) bestätigen, die einen inhibierenden Effekt des Progesterons auf die Infiltration der Zervix mit eosinophilen Granulozyten bei der Ratte feststellten.

Die Wirkung sowohl des Progesterons als auch der Östrogene wird über intrazelluläre Steroidhormonrezeptoren vermittelt. Die Progesteronrezeptorkonzentration in der equinen Zervix unterliegt zyklischen Schwankungen und weist in der Follikelphase maximale Werte auf, wohingegen die Östrogenrezeptorkonzentration über den Zyklus hinweg annähernd konstant bleibt. Im Vergleich zum Uterus weist die equine Zervix eine geringere Rezeptorkonzentration auf, welches auch bei anderen Tierarten und dem Mensch belegt werden konnte (Re et al., 1995).

Relaxin

Relaxin, ein basisches Polypeptid, welches im Ovar und der Plazenta gebildet wird, spielt zusammen mit anderen Hormonen eine wichtige Rolle bei den

geburtsbedingten, strukturellen Änderungen der Zervix (Hoffmann, 1994). Leppi und Kinnison (1971) wiesen nach, dass Relaxin allein keinen Einfluss auf das Zervixbindegewebe von Mäusen hat, es aber unter Mitwirkung von Östrogen zu einer Hypertrophie der Fibroblasten und einer Auflockerung des Kollagenetzwerkes kommt. Unter der Wirkung dieses Hormons kommt es aber nicht nur zu einer Hypertrophie der Fibroblasten, sondern auch zu einer Hyperplasie dieser Zellpopulation im Zervikalstroma (Burger und Sherwood, 1998). Ursächlich für die Auflockerung des Kollagenetzwerkes könnte eine Stimulation der Produktion oder Freisetzung von kollagenolytischen Enzymen sein (Harris und Krane, 1974). Mushayandebvu und Rajabi (1995) lieferten den biochemischen Beweis dafür. Ein weiterer Grund ist eine Zunahme der nicht-kollagenen Matrix der Zervix, woraus eine relative Abnahme der Kollagenkonzentration resultiert. Die Zunahme der nicht-kollagenen Matrix schließt eine Erhöhung des Wassergehaltes mit ein (Zarrow und Yochim, 1961). Die Wasseraufnahme erscheint wichtig, um eine Separation der Kollagenbündel herbeizuführen. Downing und Sherwood (1986) bestätigten diese Erkenntnisse und ergänzten, dass besonders die Hyaluronsäurekonzentration unter dem Einfluß von Relaxin ansteigt, was auch die erhöhte Wasserbindungskapazität erklärt.

Prostaglandine

Prostaglandine sind Derivate der Arachidonsäure, die im Gegensatz zu den oben genannten Hormonen lokal in der Zervix gebildet werden können (Ellwood et al., 1981).

Die Gabe von PGE₂ führt beim Pferd (Volkman, 1995) und beim Menschen (Ekman et al, 1986), die Gabe von PGE₂ und PGF₂α beim Schaf (Fitzpatrick und Liggins, 1980) zu einer Dilatation der Zervix. Dabei ist nicht genau geklärt, ob therapeutisch angewendete Prostaglandine direkt einen Effekt auf die Zervix ausüben oder indirekt über die Kontraktion des Uterus (Hillier und Wallis, 1981). Ellwood et al. (1981) vermuten, dass PGE und Prostazyklin als lokale Faktoren in die geburtsbedingten Veränderungen der ovinen Zervix durch Stimulation der Kollagenase involviert sind.

Während Fitzpatrick und Liggins (1980) nach lokaler PGF 2 α - und PGE 2-Infusion beim Schaf außer einer Infiltration des Bindegewebes mit Eosinophilen keine histologischen Veränderungen beobachteten, konnten Theobald et al. (1982) bei der Frau nach Prostaglandinvorbehandlung histologische Veränderungen der Zervix, die denen zum Geburtszeitpunkt entsprechen, feststellen.

Ekman et al. (1986) zeigten beim Menschen, dass die Gabe von PGE 2 bei der unreifen Zervix zum Geburtszeitpunkt eine Reduktion des Gesamtkollagengehalts, eine Zunahme der Kollagenlöslichkeit und der kollagenolytischen Aktivität bewirkt. In Fibroblastenkulturen erhöht PGF 2 α die Fraktion Hexosamin-enthaltender Substanzen, darunter besonders der Hyaluronsäure (Murota, 1977).

Neben des Einflusses auf die Zusammensetzung der zervikalen Grundsubstanz modulieren einige Prostaglandine auch die Kontraktibilität der glatten Muskulatur in diesem Organ. PGE und Prostazyklin bewirken nach Bryman et al. (1985) eine Inhibition der Muskelkontraktion, wohingegen PGF 2 α in der Zervix, im Gegensatz zum Uterus, keine Auswirkung auf die Kontraktion hat.

Grundsätzlich ist die Wirkung der Prostaglandine immer im Zusammenhang mit dem hormonellen Gesamtprofil zu sehen (Hillier und Wallis, 1981).

Oxytocin

Oxytocin, ein zyklisches Peptid, welches im Hypothalamus gebildet und im Hypophysenvorderlappen gespeichert wird, bewirkt über Beeinflussung der intrazellulären Kalziumkonzentration die Kontraktibilität der glatten Muskulatur (Mest, 1994). Es vermag sowohl bei der Stute als auch beim Menschen die Austreibung zu induzieren beziehungsweise zu beschleunigen (Volkman et al., 1995; Uldbjerg et al., 1983). Voraussetzung ist die vorhergegangene Reifung der Zervix. Dennoch scheint Oxytocin einen Einfluß auf den Bindegewebsmetabolismus zu haben. *In vitro* vermindert es den Einbau von Hydroxyprolin in das Zervixbindegewebe von graviden Frauen um 60 %. Östradiol-17 β potenziert diesen Effekt konzentrationsabhängig (Wiqvist et al., 1985).

2.6 Klinische Bedeutung der Zervix

Die Zervix stellt neben der Vulva und dem Hymenalring die dritte Barriere zwischen Uterus und der Außenwelt dar. Krankhafte Veränderungen, die die physiologische Funktion der Zervix beeinträchtigen, können daher zur Infertilität führen. Zudem ist ein zeitlich abgestimmtes Öffnen und Reorganisieren während Geburt und Puerperium nötig.

Zu den wichtigsten krankhaften Veränderungen beim Pferd zählen zervikale Missbildungen, Zervizitis, zervikale Lazerationen, zervikale Adhäsionen, Hyper- und Neoplasien.

Zervikale Missbildungen

Zervikale Missbildungen gehören zu den angeborenen Veränderungen und kommen beim Pferd selten vor.

Eine Aplasie der Zervix ist auf eine fehlende Anbildung der entsprechenden Teile der Müllerschen Gänge zurückzuführen und wurde im Zusammenhang mit chromosomalen Aberrationen („white heifer disease“) gefunden (Schlotthauer und Zollman, 1956; Bowling et al., 1987). Eine Hypoplasie konnte sowohl bei einer Stute mit normaler ovarieller Aktivität als auch bei Stuten mit dem Karyotyp 63 X0 und daraus resultierender Unterentwicklung des gesamten Genitaltrakts beobachtet werden (Blanchard, 1982; Bowling, 1987; Herzog, 1995).

Am häufigsten sind Fusionsanomalien der Müllerschen Gänge beschrieben, die sich in Form einer *Zervix duplex* manifestieren. Der Gebärmutterhals kann dabei vollständig oder nur partiell betroffen sein. Eine Verdopplung lediglich des äußeren Muttermundes, sowie des gesamten kaudalen Drittels der Zervix sind in der Literatur dokumentiert (McRae, 1935; Wehrend et al., 2001). Neben der Zervix können auch zusätzlich Vagina und Uterus von dieser Hemmungsmissbildung betroffen sein.

Zervizitis

Eine Entzündung der Zervix kann sowohl infektiösen als auch nicht infektiösen Ursprungs sein und ist oft mit einer Endometritis oder Vaginitis vergesellschaftet (Sertich, 1992).

Zu den Erregern einer Zervizitis zählen Keime wie β -hämolyisierende Streptokokken, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Klebsiella pneumoniae*, die im Allgemeinen auch im Zusammenhang mit der Endometritis genannt werden (Conboy, 1978). Andere, nicht infektiöse Ursachen, können mechanische Reizungen nach Deckakt oder Geburt, sowie mechanisch-chemische Reizungen nach intrauteriner Medikation mit Antibiotika oder Antiseptika sein. Ebenso kann aus einer Pneumo- oder Urovagina eine Zervizitis resultieren (Sertich, 1992).

Zervikale Lazerationen

Verletzungen im Zervixbereich entstehen vor allem während der Geburt. Es kann sich hierbei um normale Geburten oder um Schweregeburten mit gewaltsamen Auszug des Fohlens handeln. Fetotomien führen ebenfalls häufig zu Gewebeschädigung im Zervikalkanal (Sertich, 1992). Abgeheilte Verletzungen hinterlassen, abhängig von ihrem Ausmaß, durch die Narbenretraktion funktionelle Defekte des Zervikalkanals und der *Portio vaginalis*. Lediglich den Bereich des äußeren Muttermundes und den kaudalen Abschnitt der Zervix betreffende Veränderungen führen nicht zwangsläufig zum Verlust der Verschlussfunktion des gesamten Komplexes, wodurch die Möglichkeit einer Zuchtverwendung des Pferdes nicht beeinträchtigt wird (Busch und Klug, 1998).

Zervikale Adhäsionen

Durch Verklebungen kann die Funktionsfähigkeit der Zervix erheblich reduziert werden. Transluminale Adhäsionen verhindern das Öffnen der Zervix und verschließen somit den Uterus. Eine Drainage der uterinen Sekretion wird verhindert und kann zu einer Akkumulation von Flüssigkeit in der Gebärmutter führen. Dieser Zustand kann Grundlage einer Pyometra werden. Verklebt die *Portio vaginalis* mit der seitlichen Wand der Vagina, kann daraus eine

Verschlussunfähigkeit der Zervix resultieren, die den Schutz einer Gravidität unmöglich macht (Santschi et al., 1995).

Ursache der Adhäsionen können Traumen der Zervix während der Geburt oder schwere Entzündungen sein. Auch iatrogen durch aggressive intrauterine Therapie mit reizenden oder ätzenden Substanzen kann es zu Verklebungen kommen (Sertich, 1992; Wehrend und Thumes, 2000).

Hyperplasien und Neoplasien

Eine zervikale Hyperplasie wurde bei einer fünf Jahre alten Maidenstute beschrieben. Es handelte sich dabei um eine benigne Veränderung. Es waren keine Anzeichen einer Entzündung sichtbar. Ungeklärt ist, ob es sich dabei um ein angeborenes oder erworbenes Problem handelte (Riera, 1989).

Neoplasien der Zervix sind selten. Im Vordergrund stehen Leiomyome und Fibrome, die aufgrund ihrer Größe die Zervixfunktion beeinflussen (Romagnoli, 1987; Sertich, 1992).

2.7 Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes bei der Stute

2.7.1 Pathogenität der Keimspezies

Zu den wichtigsten Abwehrmechanismen hochentwickelter Organismen zählen neben der Resistenz, den anatomischen und chemisch-physikalischen Barrieren und dem Immunsystem mit zellulären und humoralen Anteilen, die individuelle wirtseigene Keimflora der Haut und Schleimhäute der nach außen offenen Körperhöhlen (Mayr, 2002).

So weisen bestimmte Abschnitte des Genitaltraktes sowohl bei der Stute als auch beim Hengst schon unter physiologischen Bedingungen eine mikrobielle Besiedlung auf, wobei man zwischen apathogenen, fakultativ und obligat pathogenen Keimen unterscheidet (Leidl et al., 1976).

Apathogene Keimspezies sind primär nicht in der Lage, akute Endometritiden zu verursachen. Sie können in Fällen inflammatorischer Prozesse des Endometriums im Zusammenhang mit fakultativ oder obligat pathogenen Spezies gefunden werden oder lediglich eine Oberflächenkontamination darstellen (Ricketts, 1981). Ricketts (1981) zählt zu den apathogenen Spezies nicht-haemolysierende Streptokokken, α -haemolysierende Streptokokken, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus albus*, *Corynebacterium* Spezies, Anthracoides Spezies und *Neisseria* Spezies.

Fakultativ pathogene Keime zeichnen sich dadurch aus, dass sie bei verminderter Resistenzlage, hoher Keimdichte und einer ausgeprägten Virulenz in der Lage sind, krankhafte Zustände der Genitalschleimhaut auszulösen, wohingegen sie bei immunkompetenten Tieren keine Auswirkung zeigen (Allen und Newcombe, 1979; Ricketts, 1981; Tillmann et al., 1982). Sie sind Teil der Keimflora der kaudalen Genitalabschnitte und werden üblicherweise nur nach Bedeckung und Geburt in kranialeren Abschnitten nachgewiesen (Allen und Newcombe, 1979). Die dominierenden Keime unter den fakultativ pathogenen Arten des Pferdes sind die β -hämolysierenden Streptokokken, *Escherichia coli*, *Escherichia coli variatio haemolytica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas*

aeruginosa. Ebenso genannt werden *Bordetella bronchiseptica*, *Actinobacillus equuli*, *Rodococcus equi*, Sproß- und Schimmelpilze (Scott et al., 1971; Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988; Tillmann et al., 1982).

Obligat pathogene Keime kommen nach Pohl et al. (1977) im Genitaltrakt der Stute nicht vor. Pathogene Keime definieren Pohl et al. (1977) als Keime, die überwiegend mit Entzündungszellen vergesellschaftet sind. Nach Allen und Newcombe (1979) sowie Ricketts (1981) handelt es sich hierbei vor allem um *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella aerogenes* und *Pseudomonas aeruginosa*. Die beiden letztgenannten werden von anderen Autoren in die Gruppe der fakultativ pathogenen Keime eingestuft (Scott et al., 1971; Leidl et al., 1976; Tillmann et al., 1982; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988).

2.7.2 Mikrobielle Keimflora des Vestibulums

Der Keimgehalt des Vestibulums, welches nur durch die Labien von der Außenwelt getrennt ist und sich als etwa 10 cm langer, kapillarer Spalt darstellt, unterscheidet sich nur wenig von dem der äußeren Haut im Anogenitalbereich (Merkt et al., 1987; Schubert, 1994).

Leidl et al. (1976) isolierten bei der bakteriologischen Untersuchung des Vestibulums von 156 Stuten in 47,4 % β -hämolyisierende Streptokokken, in jeweils 1,3 % hämolysierende *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa* und in 5,1 % der Fälle *Staphylococcus aureus* (Tab. 2).

Bei den von Merkt et al. (1987) untersuchten Stuten waren in 4 von 9 Fällen β -hämolyisierende Streptokokken und in einem Fall hämolysierende *E. coli* im Bereich des Vestibulums zu finden (Tab. 3). Alle anderen Proben dieser Region wiesen eine mikrobiologisch unbedenkliche Flora auf.

Hinrichs et al. (1988) führten eine entsprechende Untersuchung bei 48 klinisch unauffälligen Stuten durch. In 69 % der Fälle war eine bakteriologische Besiedlung des Vestibulums nachweisbar. Dabei wurden β -hämolyisierende Streptokokken zu 21 %, *E.coli* zu 12 % und *Pseudomonas aeruginosa* zu 3 % isoliert (Tab. 4).

Schubert (1994) fand bei 37 untersuchten Proben mit 73 % einen deutlich höheren Prozentsatz an β -hämolyisierenden Streptokokken. Hämolyisierende *Staphylokokken* waren in 5,4 %, *Klebsiella* Spezies und Hefen in jeweils 2,7 % nachweisbar. Hämolyisierende *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa* wurden in keinem Fall isoliert (Tab.5).

Diese oben genannten Saprophyten werden normalerweise in kleinerer oder größerer Zahl im Vestibulum gefunden und sind Bestandteil der hier ansässigen Flora. In dieser Region erzeugen diese Mikroorganismen keine Anzeichen einer Entzündung (Leidl et al. 1976; Allen und Newcombe, 1979, Merkt et al. 1987).

2.7.3 Mikrobielle Keimflora der Vagina

Die Vagina, in der physiologischerweise ein Unterdruck herrscht, wird vom Vestibulum durch den Hymenalring abgetrennt. Kranial schließt sich die Zervix an. Während bei früheren Untersuchungen der gesamte vaginalbereich als steril angesehen wurde, konnten in neueren Studien eine Vielzahl von apathogenen Mikroorganismen isoliert werden (Day, 1957; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988).

Scott et al. (1971) entnahmen mikrobiologische Proben von 100 Stuten nach der Schlachtung, wobei 95 % der aus der Vagina entnommenen Abstriche bakteriologisch positiv ausfielen. Bei den vorherrschenden Bakterienarten handelte es sich auffälligerweise um fakultativ pathogene Spezies, wie β -hämolyisierende Streptokokken (80 %) und coliforme Keime (69 %) (Tab.1). Bei dieser Arbeit ist jedoch zu berücksichtigen, dass zwischen der Schlachtung und der Entnahme der Tupferproben vier Stunden vergingen und keine Vorkehrungen getroffen wurden, um die Organe nach Erschlaffung der Sphinkter vor einer möglichen postmortalen Kontamination zu bewahren (Hinrichs et al., 1988).

Die Untersuchungen von Leidl et al. (1976) hingegen zeigten, dass von 157 Proben 118 keine fakultativ pathogene Keimbesiedlung aufwiesen. In 20,4 % der Fälle waren β -hämolyisierende Streptokokken nachweisbar, hämolyisierende *E.coli*

und *Staphylococcus aureus* in jeweils 0,6 % und *Pseudomonas aeruginosa* in 3,2 % der Fälle (Tab. 2).

Bei den Studien von Merkt et al. (1987) wurde in 4 von 9 Proben ein geringgradiger Keimgehalt festgestellt. In einer dieser Proben waren hämolysierende *E.coli* nachweisbar (Tab. 3).

Hinrichs et al. (1988) stellten bei den aus der Vagina entnommenen Proben eine Häufigkeit des Bakterienwachstums von 42 % fest. Fakultativ pathogene Keime waren hier jedoch überhaupt nicht nachweisbar (Tab. 4). Nach Hinrichs et al. (1988) ist der kaudale Abschnitt der Vagina demzufolge ebenso „steril“ wie der Uterus.

Newcombe (1978) stellte in 48 % der Fälle eine Übereinstimmung der bakteriellen Flora des *Fornix vaginae* mit der des Uteruslumens fest. Es zeigten sich nur bei 32 % der Stuten mit Streptokokkenbesiedlung der Vagina gleichzeitig klinische Störungen am Genitale. Diese Feststellung weist darauf hin, dass dieser Keim nicht zwangsläufig zu einer pathologischen Situation führen muss (Leidl et al., 1976).

2.7.4 Mikrobielle Keimflora der Zervix

Zum Keimspektrum der Zervix liegen in der Literatur nur wenige Informationen vor. Scott et al. (1971) gelangen bei der bakteriologischen Untersuchung des Zervikalkanals 100 geschlachteter Stuten bei 45 % ein Keimnachweis. In 16 Fällen ließen sich nach Anreicherung β -hämolysierende Streptokokken isolieren, in 26 Fällen coliforme Keime einschließlich *Klebsiella* Spezies, in 18 Fällen *Pseudomonas* Spezies und in zwei Fällen *Staphylococcus aureus* (Tab.1).

Leidl et al. (1976) ermittelten bei 155 Proben des Zervikalkanals lebender Stuten ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der β -hämolysierenden Streptokokken und *Staphylococcus aureus* (17,4 % und 1,2 %). Hämolysierende *E.coli*, *Klebsiella* Spezies und *Pseudomonas aeruginosa* dagegen ließen sich nur in einer deutlich geringeren Zahl der Fälle nachweisen (1,8 %, 0,6 % und 1,8 %) (Tab. 2).

Auch die Untersuchungen von Ricketts et al. (1981) an 11922 lebenden Stuten zeigte, dass bei 14 % der bakteriologischen Untersuchungen der *Zervix* β -hämolyisierende Streptokokken, bei 15 % *E.coli*, bei 0,2 % *Pseudomonas aeruginosa* und bei 6 % *Staphylococcus aureus* vorhanden waren.

Neben diesen fakultativ pathogenen Keimen konnten Scott et al. (1971) und Ricketts et al. (1981) in geringen Mengen auch als apathogen einzustufende Keime, wie *Enterobacter* Spezies, nicht-hämolyisierende Streptokokken, α -hämolyisierende Streptokokken und *Neisseria* Spezies nachweisen.

Nach Newcombe et al. (1978) stimmt die Keimflora des *Ostium externum* der *Zervix* in 33,1 % mit der des *Fornix vaginae* und in 46,2 % mit der des Uteruslumens überein.

2.7.5 Mikrobielle Keimflora des Uterus

Bei den von Scott et al. (1971) untersuchten 100 Proben des isolierten Uterus nach der Schlachtung wiesen nur 33 % bakterielles Wachstum auf. Es dominierten auch hier, wie in den anderen Abschnitten des Genitaltraktes, β -hämolyisierende Streptokokken mit 16 %, gefolgt von den coliformen *Keimen* mit 12 % und *Pseudomonas* Spezies mit 8 %. *Staphylococcus aureus* war neben apathogenen Spezies in 4 % der Fälle nachweisbar (Tab.1).

Leidl et al. (1976) führten eine entsprechende Untersuchung an 154 klinisch gesunden Stuten durch, bei denen in nur 30 Fällen (19,5 %) die bakteriologische Untersuchung positiv ausfiel (Tab. 2). Die Nachweishäufigkeit der β -hämolyisierenden Streptokokken entsprach der von Scott et al. (1971) an geschlachteten Stuten, der Anteil der Stuten mit anderen fakultativ pathogenen Keimarten war jedoch deutlich geringer.

Hinrichs et al. (1988) stellten bei den aus dem Uterus entnommenen Proben in 31 % der Fälle mikrobielles Wachstum fest, wobei es sich aber nicht um fakultativ pathogene Keime handelte (Tab. 4).

2.7.6 Keimgehalt und physiologische Bedeutung

Quantitativ nimmt der Keimgehalt also im Verlauf des Genitaltrakts deutlich von innen nach außen ab (Scott et al., 1971; Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988; Schubert, 1994). Zu den Hauptkeimarten beim Pferd zählen β -hämolyisierende Streptokokken, *Escherichia coli*, *Escherichia coli variatio haemolytica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* (Scott et al., 1971; Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988; Tillmann et al., 1982). Ob es jedoch eine physiologische Keimflora bei der Stute, wie vergleichsweise beim Menschen gibt, ist in der Literatur nicht eindeutig geklärt. Während einige Autoren der Meinung sind, dass im Genitale der Stute eine natürlich mikrobielle Flora vorhanden ist, gehen andere aufgrund der geringen Keimzahl und der hohen Keimvariation von einer transienten oder kontaminations-bedingten Keimflora aus (Scott et al., 1971; Tillmann et al., 1982; Hinrichs et al., 1988)

2.7.7 Tabellen

Tab. 1: Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes nach Scott et al. (1971), n=100

Lokali- sation	Bakterio- logisch positiv	Nachweishäufigkeit der einzelnen Keime			
		β -hämol. Strept.	Koliforme Keime	Pseudomonas Spezies	<i>Staph.</i> <i>aureus</i>
Vagina	95 %	88 %	81 %	57 %	6 %
Zervix	45 %	16 %	26 %	18 %	2 %
Uterus	33 %	16 %	12 %	8 %	4 %

Tab. 2: Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes nach Leidl et al. (1976)

Lokali- sation	Unter- suchte Proben	Bakteriol. positiv (nur fpK*)	Nachweishäufigkeit der einzelnen Keime				
			β-häm. Strept.	Coliforme Keime		<i>Pseud.</i> <i>aerug.</i>	<i>Staph.</i> <i>aureus</i>
				E.coli	Kleb.		
Vestibulum	156	51,3 %	47,4 %	1,3 %	0,0 %	1,3 %	5,1 %
Vagina	157	24,8 %	20,4 %	0,6 %	0,0 %	3,2 %	0,6 %
Zervix	155	23,2 %	17,4 %	1,9 %	0,6 %	1,9 %	1,3 %
Uterus	154	19,5 %	14,9 %	1,9 %	0,0 %	1,9 %	0,6 %

*fpK: fakultativ pathogene Keime

Tab. 3: Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes nach Merkt et al. (1987), n=9

Lokalisation	Bakteriol. positiv (nur fpK*)	Nachweishäufigkeit der einzelnen Keime		
		β-hämolysierende Streptokokken	hämolysierende E. coli	<i>Staph.</i> <i>aureus</i>
Vestibulum	56 %	44 %	11 %	0 %
Vagina	11 %	0 %	11 %	0 %
Zervix/Uterus	0 %	0 %	0 %	0 %

*fpK: fakultativ pathogene Keime

Tab. 4: Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes nach Hinrichs et al. (1988), n=48

Lokali- sation	Bakteriol. positiv	Nachweishäufigkeit der einzelnen Keime			
		β-häm. Streptokokken	Coliforme Keime		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
			E.coli	Klebsiella sp.	
Vestibulum	69 %	15 %	8 %	0 %	2 %
Vagina	42 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Uterus	31 %	0 %	0 %	0 %	0 %

Tab. 5: Mikrobielle Keimflora des Genitaltraktes nach Schubert (1994), n=37

Lokali- sation	Bakteriol. positiv (nur fpK*)	Nachweishäufigkeit der einzelnen Keime				
		β-häm. Strept.	Coliforme		<i>Pseud. aerug.</i>	Häm. Staph.
			E.coli	Klebs. sp.		
Vestibulum	75,7 %	73,0 %	0 %	2,7 %	0 %	5,4 %
Vagina	40,5 %	37,8 %	0 %	2,7 %	0 %	2,7 %
Zervix/Uterus	32,4 %	27,0 %	0 %	2,7 %	0 %	2,7 %

*fpK: fakultativ pathogene Keime

3. Material und Methode

3.1 Bakteriologische Untersuchung

3.1.1 Probanden

Die bakteriologischen Untersuchungen wurden an lebenden Stuten (Gruppe 1) und an Stuten unmittelbar nach der Schlachtung (Gruppe 2) durchgeführt.

In der Gruppe 1 standen 20 genitalgesunde Stuten zur Verfügung, die in der Klinik für Gynäkologie, Geburtshilfe und Andrologie der Justus-Liebig-Universität in Gießen zur instrumentellen Besamung vorgestellt wurden. Die Gruppe setzte sich aus zehn Warmblut-, drei Haflinger-, zwei Vollblut-, zwei Friesen- und drei Quarterhorsestuten zusammen (Tab. 3.1). Der Altersrahmen bewegte sich zwischen fünf und 20 Jahren, bei einem Durchschnittsalter von 9,5 Jahren.

In der Gruppe 2 wurden zehn Stuten untersucht, die im Schlachthof Gießen auf Grund von extragenitalen Erkrankungen geschlachtet worden waren. Es handelte sich dabei um fünf Warmblut-, zwei Pony-, zwei Haflinger- und eine Kaltblutstute. Der Altersrahmen bewegte sich zwischen sieben und 25 Jahren, bei einem Durchschnittsalter von 13,8 Jahren. Alle Tiere wiesen vor der Schlachtung ein ungestörtes Allgemeinbefinden auf. Die Zervices dieser Tiere standen anschließend für die histologische Untersuchung zur Verfügung.

Als Voraussetzung für die Aufnahme in die Untersuchung wurde bei der Gruppe 1 das Fehlen pathologischer Abweichungen der rektalen Uterusbefunde, der sonographischen Uterusbefunde, der vaginalen Befunde und der Exfoliativzytologie des Endometriums gefordert. Der Zyklusstand wurde mit Hilfe von rektaler, adspektorisch vaginaler und sonographischer Untersuchung ermittelt. Erkrankungen der Genitalorgane konnten bei der Gruppe 2 durch eine eingehende makroskopische Befunderhebung ausgeschlossen werden. Eine Verifizierung des Zyklusstandes erfolgte anhand der visuell erkennbaren Funktionsgebilde der Ovarien. Ab einer Follikelgröße von 3 cm wurde der Zyklusstand Östrus angenommen (Ginther, 1992; Hohenhaus, 1992).

Tab. 3.1 Rasse, Alter und Zyklusstand der für die mikrobiologische Untersuchung zur Verfügung stehenden Stuten (Gruppe 1)

Nr.	Rasse	Alter (in Jahren)	Zyklusstand
1	Warmblut	6	Östrus
2	Warmblut	20	Östrus
3	Warmblut	7	Östrus
4	Warmblut	8	Östrus
5	Warmblut	6	Diöstrus
6	Warmblut	7	Diöstrus
7	Warmblut	11	Diöstrus
8	Warmblut	7	Diöstrus
9	Warmblut	7	Diöstrus
10	Warmblut	7	Diöstrus
11	Haflinger	9	Östrus
12	Haflinger	13	Diöstrus
13	Haflinger	16	Diöstrus
14	Vollblut	12	Diöstrus
15	Vollblut	14	Diöstrus
16	Friese	6	Östrus
17	Friese	8	Diöstrus
18	Quarterhorse	5	Östrus
19	Quarterhorse	10	Östrus
20	Quarterhorse	11	Östrus

Tab. 3.2 Rasse, Alter und Zyklusstand der für die histologische Untersuchung zur Verfügung stehenden Stuten (Gruppe 1)

Nr.	Rasse	Alter (in Jahren)	Zyklusstand
1	Pony	14	Östrus
2	Warmblut	16	Östrus
3	Warmblut	7	Östrus
5	Warmblut	11	Östrus
4	Warmblut	25	Diöstrus
6	Haflinger	17	Östrus
7	Warmblut	8	Diöstrus
8	Pony	22	Diöstrus
9	Kaltblut	10	Diöstrus
10	Haflinger	12	Diöstrus

3.1.2 Tupferprobenentnahme

Zur Überprüfung der qualitativen und quantitativen mikrobiellen Besiedlung wurden folgende Lokalisationen zur Probenentnahme ausgewählt:

- Vestibulum
- Vagina
- Zervix
- Uterus (*Corpus uteri*)

Bei der Gruppe 1 erfolgte die Probenentnahme aus dem Vestibulum mit Hilfe eines sterilen Stieltupfers¹. Bei der Entnahme der Proben aus den kranialen Lokalisationen kam ein mit einem sterilen Baumwollträger bestücktes,

¹ Cutiplast®, LP Italiana SPA

geschlossenes System² zum Einsatz. Dies erfolgte unter Sichtkontrolle mit Hilfe eines sterilisierten Spreizspekulums nach *Polanski* bei vorheriger Reinigung und Desinfektion des äußeren Genitales.

Bei der Gruppe 2 wurde die Tupferprobenentnahme nach Längseröffnung des Genitaltraktes zur Vermeidung einer Kontamination durchgeführt. Hierzu wurden ebenfalls sterile Stieltupfer verwendet. Die genauen Probenentnahmelokalisationen sind in Abbildung 3.1 dargestellt. Unmittelbar nach Entnahme wurden die Tupfer in sterile Mediumröhrchen verbracht und bis zum Transport im Kühlschrank gelagert. Bei den Stieltupfern wurde Stuart-Medium als Nährlösung verwendet, bei den Tupferträgern des geschlossenen Kathetersystems sterile, physiologische Kochsalzlösung.

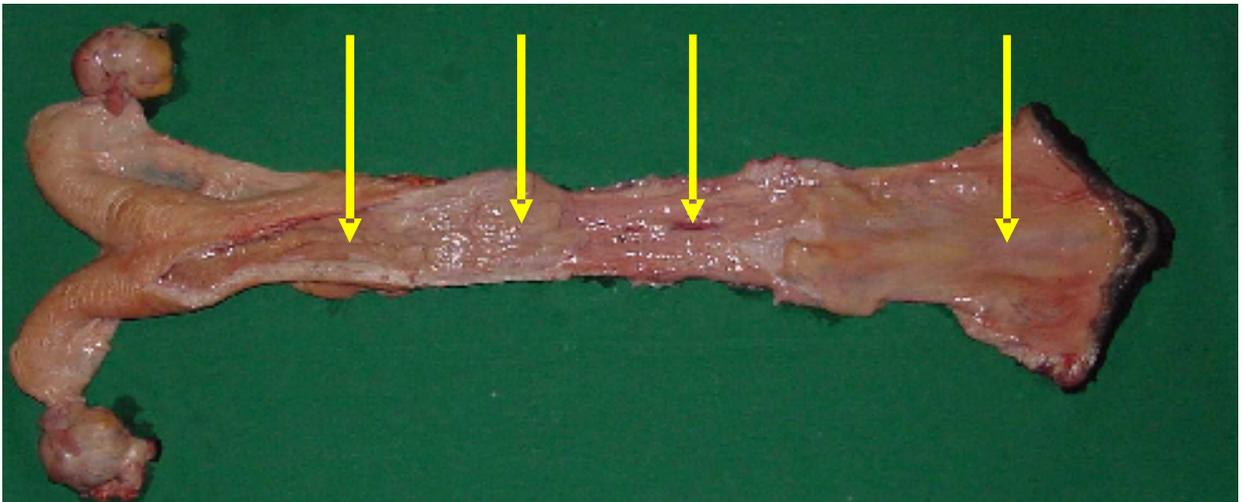


Abb. 3.1 Lokalisationen der Probeentnahme dargestellt an einem isolierten Pferdeuterus

Die Untersuchung der Tupfer erfolgte im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere nach mikrobiellen Standardmethoden. Die Einstufung in die Gruppe der fakultativ pathogenen Keime erfolgte entsprechend den Angaben in der Literatur (Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1982; Hinrichs et al., 1988, Ricketts et al., 1992). Es handelte sich dabei um folgende Spezies: β -hämolisierende Streptokokken, *E.coli*, *E. coli* var. *hämolytica*, Klebsiella Spezies,

² Knudsen-Katheter, Laborgeräte Reinke

Pseudomonas Spezies und *Staphylococcus aureus*. Ein geringgradiger Keimgehalt entsprach ein bis 50 Kolonien, ein mittelgradiger 51 bis 200 Kolonien und ein hochgradiger über 200 Kolonien.

3.2 Histologische Untersuchung

3.2.1 Untersuchungsmaterial

3.2.1.1 Probanden

Zur histologischen Untersuchung standen Zervices von zehn ingraviden Stuten zur Verfügung, die auf Grund extragenitaler Erkrankungen im Schlachthof Gießen geschlachtet wurden. Es handelte sich dabei um die unter 3.1.1 genannten Tiere der Gruppe 2, die bereits an der mikrobiologischen Untersuchung partizipierten (Tab. 3.2).

3.2.1.2 Materialgewinnung

Den Tieren wurde etwa 15 Minuten nach der Betäubung durch Bolzenschuß und Entblutung, integriert in den normalen Zerlegungsvorgang, die Bauchhöhle eröffnet und der Genitaltrakt (Ovarien, Salpinx, Uterus, Zervix, Vagina und Vestibulum) in toto entnommen.

Nach Darstellung und Längseröffnung der Geschlechtsorgane an der Dorsalseite erfolgte eine adspektorische Untersuchung. Es wurden nur Proben von solchen Stuten in die Studie einbezogen, die keine makroskopisch abweichende Befunde oder Missbildungen aufwiesen. Im Anschluß wurde die Zervix im Ganzen herauspräpariert, von Blutresten befreit und zum Transport in Natriumphosphat-Puffer gelagert. Die Probenentnahme ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

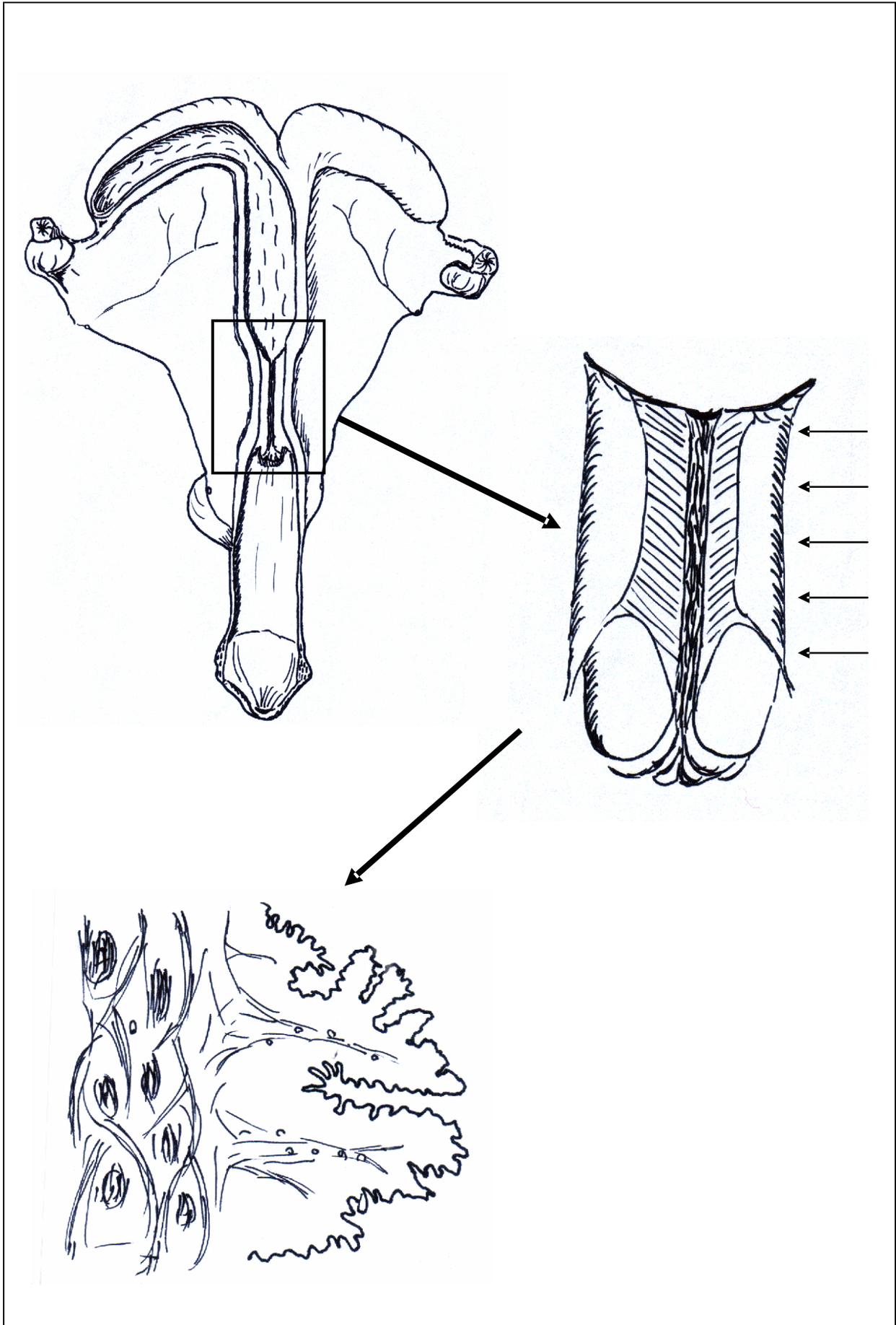


Abb. 3.2 Darstellung der Probenentnahme; die Pfeile kennzeichnen die Untergliederung der Zervix in fünf Regionen, aus denen jeweils ein Gewebekblock entnommen wurde.

3.2.2 Histologische Untersuchung

Die Zusammensetzung von Lösungen und Puffern, die selbst hergestellt wurden, ist im Anhang angegeben.

3.2.2.1 Fixierung des Probenmaterials

Zur Fixation wurde das Zervixgewebe über 72 Stunden bei 4°C in neutral gepuffertes Formol nach Lillie (1976) eingelegt. Danach erfolgte eine Untergliederung der Zervix von kranial nach kaudal in fünf Regionen (siehe Abbildung 3.2). Aus jeder Region wurde ein Gewebeblock mit den Maßen 1 x 1 x 0,5 cm herausgeschnitten und in Bouin'scher Lösung über 48 Stunden nachfixiert. Um den Überschuss an Bouin'scher Lösung aus dem Gewebe zu entfernen, wurden die Proben in Natriumphosphat-Puffer verbracht, der bei entsprechender Verfärbung erneuert wurde.

3.2.2.2 Einbettung des Probenmaterials

Die Entwässerung und Einbettung des Zervixgewebes in Paraffin wurde im Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie der Justus-Liebig-Universität Gießen mit Hilfe eines Einbettautomaten³ nach folgendem Protokoll durchgeführt:

Tab.: 3.3 Entwässerungs- und Einbettungsprotokoll, (RT: Raumtemperatur)

Schritt	Reagenz	Konzentration	Temperatur	Zeit
1	Isopropanol	70%	RT	15 min
2	Isopropanol	80%	RT	15 min
3	Isopropanol	96%	RT	15 min
4	Isopropanol	100%	RT	15 min
5	Isopropanol	100%	RT	15 min
6	Xylol	-	RT	15 min
7	Xylol	-	RT	15 min
8	Paraffin	-	60°C	15 min
9	Paraffin	-	60°C	15 min
10	Paraffin	-	60°C	15 min

3.2.2.3 Herstellung der Gewebeschnitte

Objekträgerbeschichtung

Um die Haftung der histologischen Schnitte auf den Objektträgern⁴ zu erhöhen, erfolgte eine Beschichtung mit 3-Aminopropyltriethoxysilan (APES). Dazu wurden die vorgereinigten Objektträger 20 Sekunden in eine 2%ige APES-Lösung getaucht und anschließend jeweils zweimal in Aceton reinst und in *Aqua destillata* (A. dest.)⁵ gespült. Anschließend wurden die Objektträger in offenen Glasküvetten unter dem Abzug getrocknet und dann in geschlossenen Gefäßen staubarm bei Raumtemperatur gelagert.

³ Einbettautomat Microm Laborgeräte GmbH; Heidelberg

⁴ Objektträger 76 x 26 mm, geputzt, gebrauchsfertig, Firma Knittel

⁵ Millipor-Anlage, Milli Q Biocel

Anfertigung der Schnitte

Um die Bearbeitung der Paraffinblöcke zu erleichtern, erfolgte vor dem Schneiden eine Kühlung über 24 Stunden bei 4°C. Anschließend wurden bei Raumtemperatur mit Hilfe eines Mikrotoms⁶ 6-7 µm dicke Schnitte angefertigt. Als Messer kamen Einmalklingen⁷ zum Einsatz.

Die angefertigten Paraffinschnitte wurden zur Streckung in ein mit 35° bis 38°C warmes A. dest. gefülltes Wasserbad⁸ verbracht. Nach der Streckung der Schnitte wurden diese auf die beschichteten Objektträger aufgezogen, im Wärmeschrank⁹ bei 38°C für 24 Stunden getrocknet und anschließend bei Raumtemperatur, lichtgeschützt und staubarm gelagert.

3.2.2.4 Färbung der Gewebeschnitte

Zur Darstellung der verschiedenen Zellpopulationen und des Bindegewebes kamen folgende Färbungen zur Anwendung:

- | | | |
|---------------------------------|---|--|
| 1. Hämatoxilin-Eosin (H.E.) | ⇒ | Übersichtsfärbung |
| 2. Toluidinblau O | ⇒ | selektive Darstellung der Mastzellen |
| 3. Siriusred (Bogomolez, 1980) | ⇒ | selektive Darstellung der eosinophilen Granulozyten |
| 4. Azan-Färbung nach Heidenhain | ⇒ | Differenzierung von Kollagen-, Muskel- und Epithelgewebe |

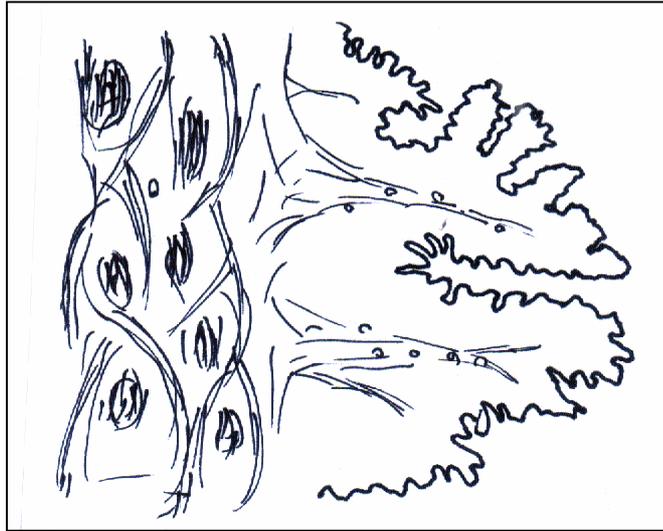
Die Fixation und Färbung der Gewebeproben ist in Abbildung 3.3 dargestellt. Die Färbeprotokolle im Detail sind in Tabelle 3.4 bis 3.7 angegeben.

⁶ Mikrotom, Reichardt Jung AG, Heidelberg

⁷ Einmalklingen, Leica Disposable Microtome Blades Model 819 50 PCS

⁸ Wasserbad Typ WB-24; V 220; W 550; MEDAX Nagel KG Kiel

⁹ Memmert, Typ: ST 40, V 220; Hz 50; W 2000



Pro Region ein Gewebekblock 1,0 x 0,5 x 0,5 cm

1. Fixation über 72 Stunden in Formol nach Lillie (1976)



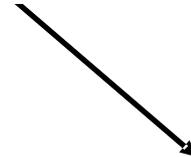
2. Nachfixation über 48 Stunden in Bouin'scher Lösung



3. Entwässerung und Einbettung in Paraffin



4. Histologische Färbung



Hämatoxin
-Eosin

Siriusred

Toluidin-
blau

Azan nach
Heidenhain

Abb. 3.3 Schematische Darstellung der Fixation und Einbettung der Gewebekblöcke, sowie der Färbung der angefertigten histologischen Schnitte.

Tab.3.4 Färbeprotokoll Hämatoxilin-Eosin

Arbeitsschritt	Dauer
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Ethanol absolut	5 Minuten
Ethanol 96%	5 Minuten
Ethanol 80%	5 Minuten
Ethanol 70%	5 Minuten
Ethanol 60%	5 Minuten
Ethanol 50%	5 Minuten
A. dest.	5 Minuten
Hämatoxilin	1,5 Minuten
Leitungswasser	15 Minuten wässern
Eosin 1%	4 Minuten
A.dest.	3 x tauchen
Ethanol 70%	1 x tauchen
Ethanol 80%	2 Minuten
Ethanol 96%	30 Sekunden
Rotihistol	10 Minuten
Rotihistol	10 Minuten

Tab. 3.5 Färbeprotokoll Siriusred

Arbeitsschritt	Dauer
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Ethanol absolut	5 Minuten
Ethanol 96%	5 Minuten
Ethanol 80%	5 Minuten
Ethanol 70%	5 Minuten
Ethanol 60%	5 Minuten
Ethanol 50%	5 Minuten
A. dest.	5 Minuten
Hämatoxinlin	1 x tauchen
Leitungswasser	wässern bis leicht bläulich
Ethanol 70%	3 x tauchen
Sirius-Red-Lösung	24 Stunden
A.dest.	10 Minuten spülen
Ethanol 70%	1 x tauchen
Ethanol 80%	2 Minuten
Ethanol 96%	30 Sekunden
Rotihistol	10 Minuten
Rotihistol	10 Minuten

Tab. 3.6 Färbeprotokoll Toluidin-Blau

Arbeitsschritt	Dauer
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Ethanol absolut	5 Minuten
Ethanol 96%	5 Minuten
Ethanol 80%	5 Minuten
Ethanol 70%	5 Minuten
Ethanol 60%	5 Minuten
Ethanol 50%	5 Minuten
A. dest.	2 Minuten
A. dest.	2 Minuten
Toluidin-Blau 0,003%	60 Minuten
A.dest.	10 Minuten spülen
Ethanol 70%	1 x tauchen
Ethanol 80%	2 Minuten
Ethanol 96%	30 Sekunden
Rotihistol	10 Minuten
Rotihistol	10 Minuten

Tab. 3.7 Färbeprotkoll Azan nach Heidenhain

Arbeitsschritt	Dauer
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Rotihistol (Roth)	15 Minuten
Ethanol absolut	5 Minuten
Ethanol 96%	5 Minuten
Ethanol 80%	5 Minuten
Ethanol 70%	5 Minuten
Ethanol 60%	5 Minuten
Ethanol 50%	5 Minuten
A. dest.	5 Minuten
A. dest.	1 x tauchen
Azokarminlösung	60 Minuten
A. dest.	3 x tauchen
Alkoholische Anilinlösung	10 Minuten
Essigsaurer Alkohol	5-10 Minuten
5% Phosphorwolframsäure	3 Stunden
A. dest.	spülen
Anilinblau-Orange-Essigsr.	3 Stunden
A. dest.	spülen
Ethanol 70%	1 x tauchen
Ethanol 80%	2 Minuten
Ethanol 96%	30 Sekunden
Rotihistol	10 Minuten
Rotihistol	10 Minuten

Die Färbung mit Azokarminlösung fand bei 60 °C, alle anderen Arbeitsschritte bei Raumtemperatur statt. Das Eindeckeln der Schnitte erfolgte mit Roti®-Histokitt¹⁰ und Deckgläsern¹¹.

¹⁰ Roti®-Histokitt, Carl Roth GmbH

3.2.3 Lichtmikroskopische Auswertung

Auswahl der Präparate und histologische Untersuchung

Es wurden nur solche Schnitte in die Untersuchung einbezogen, die hinsichtlich Intaktheit der Gewebestrukturen, Schnittlinie und Färbung eine gute Qualität aufwiesen und den typischen Aufbau der Zervix widerspiegeln.

Es standen pro Färbung, Stute und Region minimal je vier Schnitte zur Verfügung. Für die histologische Untersuchung kam ein Lichtmikroskop¹² zum Einsatz. Die Bilder wurden durch eine Digitalkamera¹³ auf einen PC¹⁴ übertragen und dort mit Hilfe eines Bildanalyseprogrammes¹⁵ ausgewertet.

Histomorphometrische Auswertung

An der H.E.-Färbung und der Azan-Färbung nach Heidenhain wurden folgende morphometrische Parameter in der *Tunica mucosa* bei 400-facher Vergrößerung erhoben:

- Epithelzellbreite Faltenkamm: 10 Messungen pro Gesichtsfeld
- Epithelzellbreite Faltenal: 10 Messungen pro Gesichtsfeld
- Epithelzellhöhe Faltenkamm: 10 Messungen pro Gesichtsfeld
- Epithelzellhöhe Faltenal: 10 Messungen pro Gesichtsfeld

Pro Gewebeschnitt (4x H.E., 4x Azan nach Heidenhain) wurden je zehn Gesichtsfelder ausgezählt.

¹¹ Deckgläser 24 x 50 mm, Menzel Gläser

¹² Mikroskop DMR, Leica, Wetzlar

¹³ Digitalkamera DC 300, Leica, Wetzlar

¹⁴ GX 240, Dell

¹⁵ Leica Image Manager, Leica, Wetzlar

Qualitative und quantitative Auswertung

Für die qualitative und quantitative Auswertung der Zellpopulationen wurde das zervikale Gewebe in vier Zonen unterteilt:

- Zone 1: *Tunica mucosa*
- Zone 2: Oberflächliche Schicht der *Tela submucosa* (bis 100 µm unterhalb des Epithels)
- Zone 3: Tiefe Schicht der *Tela submucosa* im Bereich des Venenplexus
- Zone 4: Oberflächliche Schicht der *Tunica muscularis*

Die Anzahl der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen wurde mit Hilfe der beiden Spezialfärbungen in den verschiedenen Zonen bei 400- bis 1000-facher Vergrößerung in 20 Gesichtsfeldern pro Region ausgezählt und die Dichte auf einen Quadratmillimeter berechnet.

Zusätzlich wurde die Zahl der Blutgefäße in der *Tela submucosa* und in der *Tunica muscularis* ermittelt. Hierzu wurde die H.E.- Färbung und die Azanfärbung nach Heidenhain verwendet. Es erfolgte ebenfalls eine Auszählung von zwanzig Gesichtsfeldern und eine Dichteberechnung auf einen Quadratmillimeter.

3.3 Statistische Verfahren

Die Datenerhebung und –auswertung erfolgte mit Unterstützung des Instituts für Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität in Giessen unter Verwendung des Statistik-Programmsystems BMDP3S (DIXON, 1993).

Zur Datenbeschreibung erfolgte die Berechnung des arithmetischen Mittelwertes (\bar{x}_a) und der Standardabweichung (SD). Lag keine Normalverteilung vor, wurde eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt. Die Daten wurden in diesem Fall als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) mit Streufaktor (SF) angegeben. Dies war bei der histologischen Auswertung der Zellpopulationen nötig.

Zur statistischen Auswertung der mikrobiologischen Ergebnisse wurde der Vergleich der beiden Probandengruppen (*in vivo* und *post mortem*) mit Hilfe des *exakten Fischertests* durchgeführt. Die Ermittlung eines möglichen Unterschiedes zwischen den verschiedenen Probeentnahmeorten erfolgte durch eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen im Faktor Lokalisation.

Die Messwerte des Epithels und der Blutgefäße wurden mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse statistisch analysiert. Die Beurteilung der histologischen Auswertung der Zellpopulationen wurde durch eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen zum einen im Faktor Achsenabschnitt auf der Längsachse der Zervix von kaudal nach kranial und zum anderen im Faktor Gewebeschicht (*Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis*) ermittelt. Beim Vergleich der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen innerhalb der Regionen getrennt nach Gewebeschicht kam der *Friedman-Test* zum Einsatz, da die Werte nicht normalverteilt lagen.

4. Ergebnisse

Die folgende Besprechung der Ergebnisse gliedert sich, dem Versuchsaufbau entsprechend, in zwei Teile. Begonnen sei mit den mikrobiologischen Studien. Zuerst galt es, den allgemeinen bakteriellen Status in den verschiedenen Abschnitten des Reproduktionstraktes der Stute zu erfassen, um Rückschlüsse auf die Effektivität verschiedener natürlicher Verschluss- und Schutzvorrichtungen zu ziehen. Ein besonderes Augenmerk richtete sich dabei auf die Zervix und ihre Bedeutung hinsichtlich der Infektionsabwehr und Inhibitionswirkung der Keimaszension. Unter Berücksichtigung der in der Literatur bekannten und unter verschiedenen Gesichtspunkten beschriebenen anatomischen Barrieren erfolgte die Tupferprobenentnahme aus den Lokalisationen Vestibulum, Vagina, Zervix und Uterus. Bei der Darstellung dieser Resultate liegt der Fokus auf der Häufigkeit des Keimnachweises, der Intensität der mikrobiellen Besiedlung und der Keimspezieszahl, sowie der Analyse des Erregerspektrums im Detail.

Vertieft wird die Studie durch histologische Untersuchungen, darauf zielend, das Verständnis der Zervix anhand ihres morphologischen und histologischen Aufbaus zu erweitern. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Deskription des Epithels, der vaskulären Strukturen, der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen, sowie deren zyklusbedingten Veränderungen.

4.1 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

4.1.1 Quantitative Auswertung der mikrobiellen Keimflora

4.1.1.1 Häufigkeit des Keimnachweises im Genitaltrakt von Stuten

Bei der Auswertung der Proben hinsichtlich des Kriteriums bakteriologisch „positiv“ oder „negativ“ ergab sich an den am weitest kaudal gelegenen Entnahmeorten, wie zu erwarten war, die höchste Anzahl positiver Befunde. So wiesen sowohl bei der Gruppe 1 (*in vivo*) als auch bei der Gruppe 2 (*post mortem*) im Kompartiment Vestibulum alle Proben eine bakterielle Manifestation auf. Bei den intravaginal gewonnenen Ergebnissen nahm die Inzidenz des Erregernachweises deutlich ab, wobei die Werte der Gruppe 1 und Gruppe 2 stark differierten ($p < 0,05$). Während das kulturelle Wachstum bei den *in vivo* entnommenen Proben nur in acht von 20 Fällen positiv ausfiel, zeigte sich bei den *post mortem* entnommenen Proben bei acht von zehn Stuten ein mikrobiell positives Ergebnis. Als stark divergierend erwiesen sich auch die Resultate der Zervix bezüglich der beiden Probandengruppen ($p < 0,01$). Ein Keimnachweis gelang bei den lebenden Tieren in neun von 20 Fällen, bei den Schlachthofpräparaten dagegen bei allen Vertretern. Der Uterus stellte sich bei sieben von 20 Stuten *in vivo* als keimfrei dar, wobei mit einer Quantität von drei aus 10 Proben ohne Erregernachweis nur geringe Unterschiede zur Gruppe 2 bestanden.

Da die bisherige Ergebnisbeschreibung, bei der alle Keimspezies unabhängig von ihrer Pathogenität Berücksichtigung fanden, ein leicht verzerrtes Bild hinsichtlich der Beantwortung der zu Grunde liegenden Fragestellung liefert, war es von vornherein abzusehen, dass eine differenziertere Auswertung nötig sein wird.

Wurde dabei die zentrale Betrachtung ausschließlich auf die fakultativ pathogenen Spezies gelenkt, so zeigte sich entlang der kaudo-kranialen Achse des Reproduktionstraktes eine ausgeprägte Reduktion der Probenzahl, die mit diesen Erregern behaftet waren. Ließen sich in der Gruppe 1 in den Vestibulartupfern noch bei 15 von 20 Stuten bedingt pathogene Keime isolieren, so minimierte sich

dieser Anteil in der Vagina auf sechs und in Zervix und Uterus auf zwei von 20 Proben. Entscheidend höher fielen die Werte in der Gruppe 2 aus, wobei sich der Unterschied zur Gruppe 1 an den Lokalisationen Vagina und Zervix als signifikant herausstellte ($p < 0,01$). Während aus dem Vestibulum entnommene Abstriche in allen Fällen fakultativ pathogene Mikroorganismen aufwiesen (zehn von zehn), lag ihr Anteil intravaginal immer noch bei neun von zehn Proben. Erst in der Zervix konnte eine Reduktion der Stutzanzahl, die eine solche Keiminokulation aufwiesen, auf fünf von zehn und eine Progression dieser Tendenz intrauterin auf ein Zehntel notiert werden.

Als Fazit dieses Auswertungsansatzes sei noch einmal die bemerkenswerte Reduktion des Anteils der mit fakultativ pathogenen Erregern behafteten Proben im Verlauf von kaudal nach kranial herausgestellt, wobei sich die stärkste Differenz am Übergang von Vestibulum zur Vagina herauskristallisierte. Ebenso prägnant erwies sich die Divergenz zwischen den *in vivo* und den *post mortem* gewonnenen Ergebnissen. Die Werte im Detail sind in Tabelle 4.1.1 und Abbildung 4.1.1 aufgeführt.

Tab. 4.1.1 Vergleichende Darstellung des Anteils der Stuten mit Manifestation fakultativ pathogener Erreger im Genitaltrakt (*in vivo* und *post mortem*) in vier verschiedenen Lokalisationen.

Lokalisation	Gruppe 1 (<i>in vivo</i>) n=20	Gruppe 2 (<i>post mortem</i>) n=10	Signifikanz
Vestibulum	15	10	-
Vagina	6	9	$p < 0,01$
Zervix	2	5	$p < 0,01$
Uterus	2	1	-

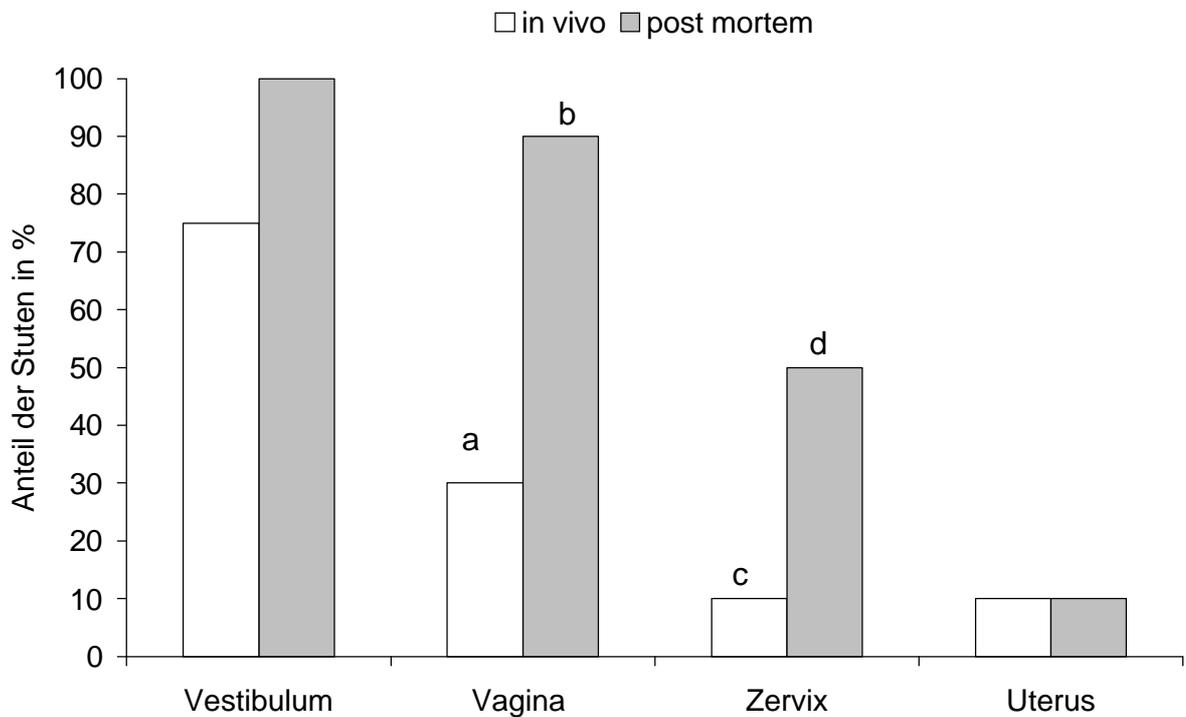


Abb. 4.1.1: Graphische Darstellung des Anteils der Stuten mit Manifestation fakultativ pathogener Erreger im Genitaltrakt (*in vivo* und *post mortem*) in vier verschiedenen Lokalisationen (Vergleich a zu b und c zu b, $p < 0,01$).

4.1.1.2 Intensität der mikrobiellen Keimbesiedlung im Genitaltrakt von Stuten

Wie gezeigt werden konnte, besitzt die reine Beurteilung bakterieller Keimnachweis „positiv“ oder „negativ“ nur eine eingeschränkte Aussagekraft. Im folgenden Teil soll deshalb der Grad der bakteriellen Manifestation näher beleuchtet werden.

Bei der mikrobiologischen Untersuchung gelang es, unabhängig von der Keimspezies, 129 Isolate aus den *in vivo* und 112 aus den *post mortem* gewonnenen Proben zu kultivieren, die nach Anzahl der Kolonien in gering- (bis 50 Kolonien), mittel- (51 bis 200 Kolonien) und hochgradiges Wachstum (über 200 Kolonien) differenziert wurden. Der weitaus größte Teil entfiel dabei sowohl bei der Gruppe 1 als auch bei der Gruppe 2 auf das Vestibulum (71 Isolate *in vivo* und 49 *post mortem*). Dabei handelte es sich in 53 Fällen (*in vivo*) beziehungsweise 28 Fällen (*post mortem*) um ein geringgradiges Wachstum. Eine mittelgradige Wachstumsintensität konnte in elf (*in vivo*) und neun Fällen (*post mortem*) und eine hochgradige bei sieben (*in vivo*) und zwölf Beispielen (*post mortem*) beobachtet werden. Damit nahm das Vestibulum eine exponierte Stellung ein, denn derart hohe Werte konnten in den sich nach kranial anschließenden Regionen nicht ermittelt werden.

Als besonders deutlich stellte sich der Unterschied zwischen Vestibulum und Vagina innerhalb der Gruppe 1 heraus, wo nur noch 15 Isolate quantifiziert wurden. Weniger prägnant zeigte sich die Differenz bei der Gruppe 2 (34 Isolate). Bei beiden Probandengruppen dominierte das geringgradige Wachstum (13 Isolate *in vivo* und 29 Isolate *post mortem*). Eine mittelgradige und hochgradige Kolonieausprägung trat mit einem und drei Fällen (*in vivo*) beziehungsweise keinem und zwei Fällen (*post mortem*) deutlich seltener auf.

Intrazervikal ließen sich aus den von den lebenden Tieren stammenden Tupferproben 18 und aus den Exemplaren der Schlachthofpräparate 20 Isolate nachweisen. Bei der Gruppe *in vivo* handelte es sich lediglich einmal um einen mittelgradigen und einmal um einen hochgradigen Nachweis, während der Rest auf „geringgradig“ entfiel. Die Gruppe *post mortem* hatte an dieser Lokalisation 18 mal geringgradiges und zwei mal hochgradiges Wachstum aufzuweisen.

Mittelgradige Befallsintensität wurde nicht nachgewiesen. Anders sah die Situation im Uterus aus. Gelang in dieser Lokalisation überhaupt noch ein Keimnachweis, so handelte es sich ausschließlich um eine geringgradige Ausprägungsintensität (18 Isolate *in vivo* und neun Isolate *post mortem*). Lediglich bei der Gruppe 1 wiesen drei Isolate eine Koloniezahl von mehr als 50 auf (mittelgradig). Hochgradige Keimgehalte lagen im Uterus nicht vor.

Es wird deutlich, dass sich die im ersten Abschnitt, bei der rein qualitativen Auswertung gezeigte Tendenz der Keimreduktion auch auf den semi-quantitativen Ansatz erweitern lässt. Innerhalb beider Gruppen nahm sowohl die Isolatzahl als auch die Ausprägungsintensität der Isolate von kaudal nach kranial ab. Auffällig war aber wiederum, dass die Proben der Gruppe *post mortem* proportional ein stärkeres mikrobielles Wachstum aufwiesen. Eine tabellarische und graphische Darstellung der Ergebnisse folgt in Tabelle 4.1.2 und Abbildung 4.1.2.

Tab. 4.1.2 Vergleichende Darstellung der Intensität des mikrobiellen Wachstums (geringgradig, mittelgradig und hochgradig) im Genitaltrakt von Stuten (*post mortem* und *in vivo*) in vier verschiedenen Lokalisationen, absolut und in Prozent. Die Prozentzahl bezieht sich auf die Gesamtisolatzahl pro Gruppe.

Lokalisation	<i>in vivo</i> (124 Isolate)			<i>post mortem</i> (112 Isolate)		
	gering-gradig	mittel-gradig	hoch-gradig	gering-gradig	mittel-gradig	hoch-gradig
Vestibulum	53 41 %	11 8,5 %	7 4,5 %	28 25 %	9 8 %	12 10,7 %
Vagina	13 10,1 %	1 0,8 %	1 0,8 %	29 25,9 %	3 2,7 %	2 1,8 %
Zervix	16 14,7 %	1 0,8 %	1 0,8 %	18 16,1 %	0 0 %	2 1,8 %
Uterus	18 15,5 %	3 2,3 %	0 0 %	9 8 %	0 0 %	0 0 %
Gesamt	100 81 %	16 13 %	9 7 %	84 75 %	12 11 %	16 14 %

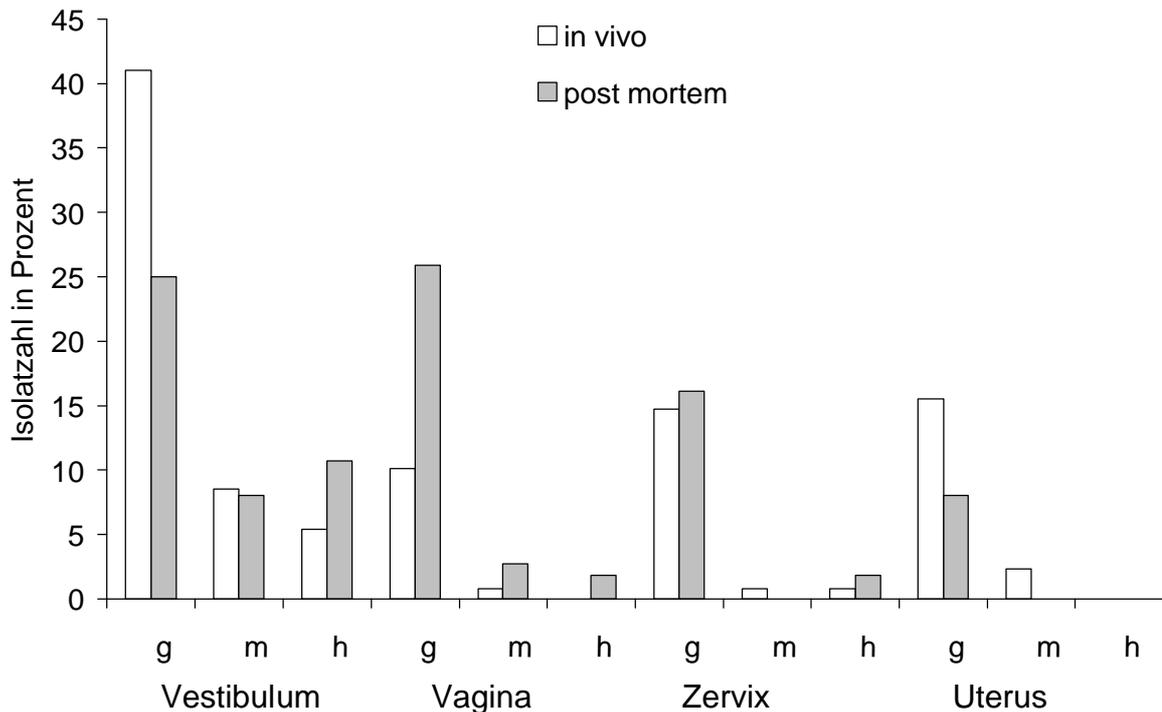


Abb. 4.1.2 : Anteil der Isolate mit gering- (g), mittel- (m) und hochgradigem (h) Keimgehalt aus dem Genitaltrakt von Stuten in vier verschiedenen Lokalisationen.

4.1.1.3 Anzahl unterschiedlicher Keimspezies im Genitaltrakt von Stuten

Um die Beantwortung der Fragestellung weiter zu spezifizieren, schien es essenziell, das Keimspektrum näher zu berücksichtigen. Die Gesamtzahl der Bakterienspezies der Gruppe *in vivo* belief sich auf 15, bei der Gruppe *post mortem* hingegen konnten 18 verifiziert werden. Die größte Artendiversität konnte dabei mit 14 (*in vivo*) und 15 Spezies (*post mortem*) im Vestibulum verzeichnet werden. Im Verlauf des Genitaltraktes nach kranial nahm diese Spannweite signifikant ab ($p < 0,01$). Als auffallend geringer stellte sich die Keimartenzahl der Vaginalproben dar, die *in vivo* bei neun und *post mortem* bei elf lag.

Intrazervikal nahm die Bakterienvielfalt bei der Gruppe 1 überraschenderweise wieder zu (elf Spezies), wenn auch nur geringfügig. Bei der Gruppe 2 dagegen fielen die Werte kontinuierlich auf sieben ab. Aus Proben des Uterus konnten neun (*in vivo*) beziehungsweise sechs Keimspezies (*post mortem*) kultiviert werden.

Die isolierte Betrachtung der fakultativ pathogenen Erregerarten aus der Gesamtzahl des Keimspektrums ergab folgende Werte: Die Proben der Gruppe 1 wiesen im Vestibulum vier fakultativ pathogene Bakterienspezies auf. Diese Zahl reduzierte sich progredient über Vagina und Zervix zum Uterus von drei und zwei auf eine Keimspezies. Ähnliche Verhältnisse lagen bei der Gruppe 2 vor. Hier war eine Regression der Erregerartenquantität von fünf im Vestibulum über drei in Vagina und Zervix auf eine Spezies im Uterus zu konstatieren. Die Unterschiede in der Keimartenzahl an den verschiedenen Probenentnahmeorten erwies sich als statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$).

Als besonders bemerkenswert ist herauszustellen, dass sich neben einer rein quantitativen Minimierung der Bakterienvielfalten von kaudal nach kranial der Anteil der fakultativ pathogenen Keimspezies an der Gesamtanzahl verkleinerte. Lag der Anteil der fakultativ pathogenen Erreger bei der Gruppe *in vivo* im Vestibulum noch bei 29 % (vier von 14), so betrug deren Anteil im Uterus nur noch 11 % (eins von neun). Bei der Gruppe *post mortem* machten die bedingt pathogenen Keimspezies im Vestibulum 33 % (fünf von 15) der Gesamtzahl aus, im Uterus dagegen nur noch 16 % (eins von sechs). Die deutlichste Verschiebung zu den apathogenen Spezies ließ sich dabei am Übergang von Vagina zur Zervix ermitteln.

Die Gegenüberstellung der beiden Probandengruppen ergab bei der Betrachtung der Keimspeziesanzahl nur geringfügige Unterschiede (Tab. 4.1.3, Abb. 4.1.3, Abb. 4.1.4).

Tab. 4.1.3 Vergleichende Darstellung der Anzahl unterschiedlicher Keimspezies im Genitaltrakt von Stuten (*post mortem* und *in vivo*) in vier verschiedenen Lokalisationen, getrennt nach Gesamtzahl und Zahl fakultativ pathogener Erreger (fakult.p.).

Lokalisation	Gruppe 1 (<i>in vivo</i>) n=20		Gruppe 2 (<i>post mortem</i>) n=10	
	gesamt	fakult. p.	gesamt	fakult. p.
Vestibulum	14	4	15	5
Vagina	9	3	11	3
Zervix	11	2	7	3
Uterus	9	1	6	1
Signifikanz	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,001

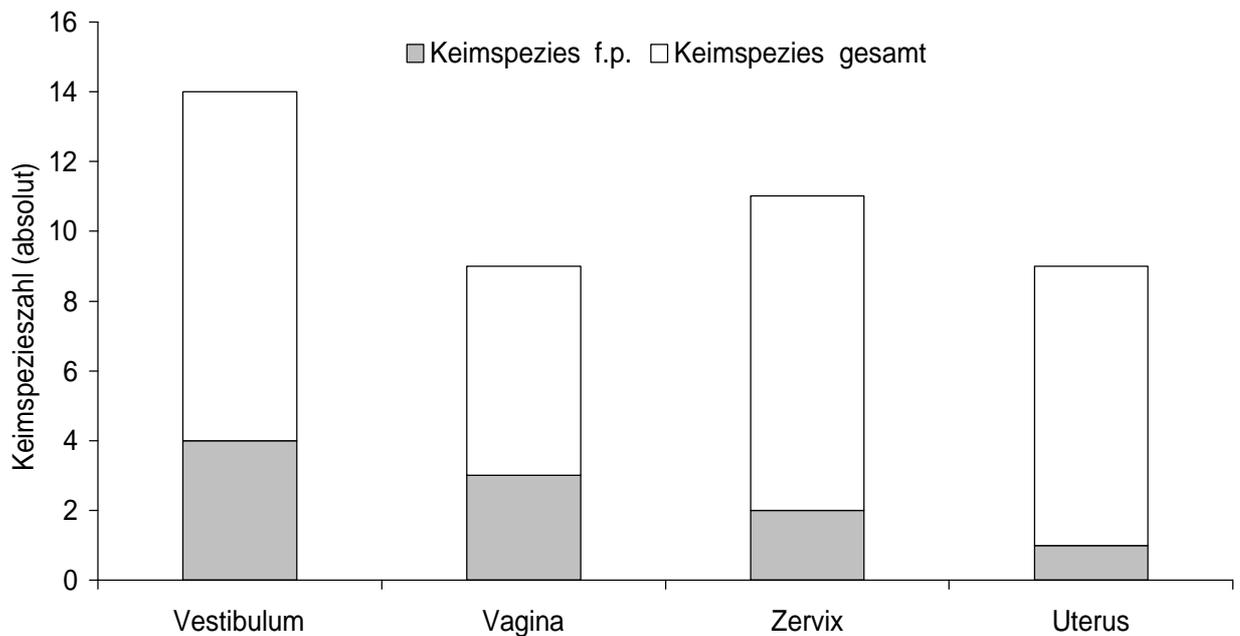


Abb. 4.1.3 Vergleichende Darstellung des Anteils der fakultativ pathogenen Keimarten (f.p.) an der Gesamtspezieszahl im Genitaltrakt von Stuten *in vivo* in vier verschiedenen Lokalisationen. Die Unterschiede zwischen den Lokalisationen erwiesen sich als statistisch signifikant ($p < 0,01$).

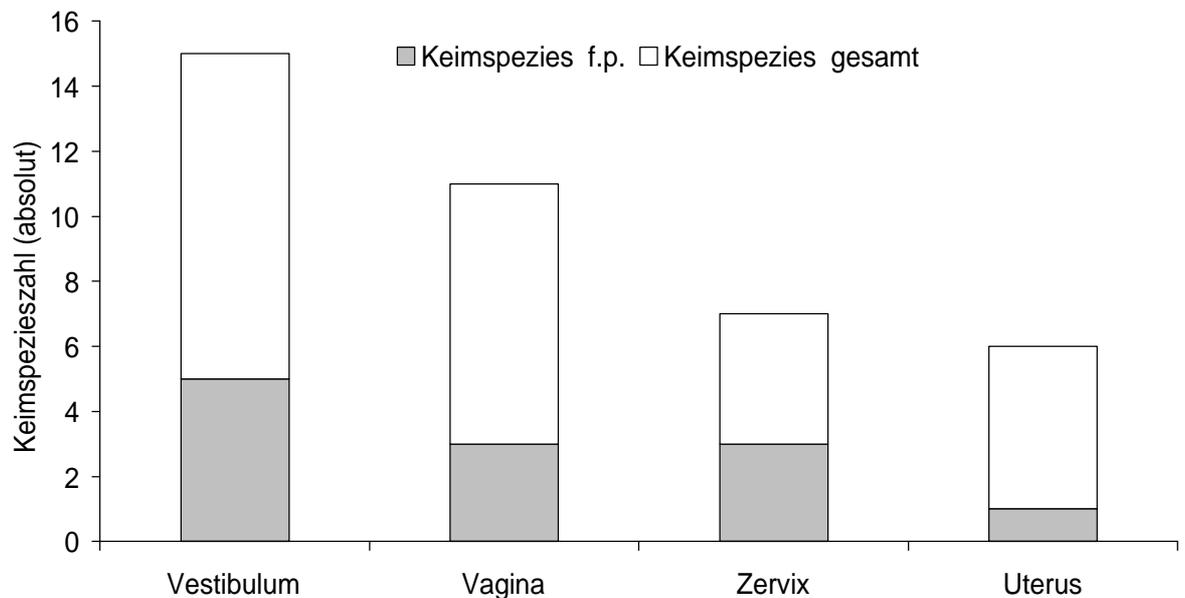


Abb. 4.1.4 Vergleichende Darstellung des Anteils der fakultativ pathogenen Keimarten (f.p.) an der Gesamtspezieszahl im Genitaltrakt von Stuten *post mortem* in vier verschiedenen Lokalisationen. Die Unterschiede zwischen den Lokalisationen erwiesen sich als statistisch signifikant ($p < 0,01$).

4.1.2 Qualitative Auswertung der mikrobiellen Keimflora im Genitaltrakt von Stuten

Obwohl die rein numerische Analyse der Mikroorganismen bereits viele Informationen geliefert hat, soll im letzten Abschnitt mit der Beschreibung der einzelnen Spezies ein weiterer Schritt ins Detail angetreten werden.

Bei den 22 isolierten Keimarten dominierten quantitativ gramnegative Stäbchen (elf Spezies), die zum großen Teil der Familie der *Enterobacteriaceae* angehörten (sechs Spezies), gefolgt von grampositiven Kokken (sieben Spezies). Grampositive Stäbchen und gramnegative Kokken spielten mit drei und einer Spezies nur eine untergeordnete Rolle. Bei 21 Vertretern handelte es sich um aerobe Arten. Nur in einem Fall wurde eine anaerobe Spezies in Zervix und Uterus nachgewiesen.

Die verschiedenen Regionen des Genitaltraktes ließen eine unterschiedliche Keimprävalenz erkennen. So stellten sich im Vestibulum bei den Stuten *in vivo* die

α -hämolisierenden Streptokokken, gefolgt von *Staph. epidermidis* und den β -hämolisierenden Streptokokken, als die vorherrschende Erregerart heraus (bei zwölf beziehungsweise zehn von 20 Stuten zu isolieren), während es sich bei den Stuten *post mortem* um *Acinetobacter* Spezies und *E.coli* handelte (bei neun beziehungsweise acht Stuten von zehn zu isolieren).

In der Vagina bildeten bei der Gruppe 1 Streptokokken Spezies die dominierende Keimart (β -hämolisierende Streptokokken drei mal, α - und γ -hämolisierende Streptokokken je zwei mal von 20). *E. coli* war bei diesen Tieren ebenfalls in zwei Fällen zu isolieren. Bei der Gruppe 2 dagegen stellte die letztgenannte Keimspezies mit acht von zehn Nachweisen überraschend die mit Abstand häufigste Art dar. Deutlich seltener gelang eine Kultivierung von *Staph. epidermidis* und *Acinetobacter* Spezies aus den Proben dieser Stuten (je 5 von 10).

Als auffällig erwies sich, dass die Keimflora von Zervix und Uterus der Tiere *in vivo* vor allem von apathogenen Spezies bestimmt wurde. Hier sind in der Zervix an erster Stelle α -hämolisierende Streptokokken (vier von 20), *Staph. epidermidis*, γ -hämolisierende Streptokokken, *Acinetobacter* Spezies und aerobe Bazillen (je zwei von 20) zu nennen. Intrauterin stellten γ -hämolisierende Streptokokken und aerobe Bazillen die exponiertesten Mikroorganismen dar (je drei von 20). Stark differierend dazu erfuhr die post mortem isolierte Schleimhautflora der Zervix eine Prägung von *Staph. epidermidis* (fünf von zehn), *E. coli* und β -hämolisierenden Streptokokken (vier von zehn). Im Kompartiment Uterus stellte sich *Staph. epidermidis* als vorherrschend heraus (drei von zehn). Eine Übereinstimmung der zervikalen Keimflora mit der uterinen Situation lag bei beiden Gruppen nur in 10% der Fälle vor (zwei von 20 beziehungsweise eins von zehn).

Bemerkenswert ist, dass die Ergebnisse der Stuten nach Schlachtung eine Dominanz der fakultativ pathogenen Spezies, insbesondere der *Enterobacteriaceae* erkennen ließen, die in diesem Maß nicht bei den lebenden Tieren nachvollzogen werden konnte.

Eine zusammenfassende Darstellung aller mikrobiologischen Ergebnisse erfolgt in Tabelle 4.1.4 und 4.1.5.

Tab. 4.1.4 Nachweishäufigkeit der fakultativ pathogenen Keimarten im Genitaltrakt von Stuten in vier verschiedenen Lokalisationen *in vivo* und *post mortem*.

	Vestibulum		Vagina		Zervix		Uterus	
	<i>in vivo</i>	<i>post mortem</i>						
Probenzahl insgesamt	20	10	20	10	20	10	20	10
Probenzahl mit fpK*	15 / 75 %	10 / 100 %	6 / 30 %	9 / 90 %	2 / 10 %	5 / 50 %	2 / 10 %	1 / 10 %
β-Streptokokken	10 / 50 %	5 / 50 %	3 / 15 %	5 / 50 %	1 / 5 %	4 / 40 %	2 / 10 %	1 / 10 %
E.coli	8 / 40 %	8 / 80 %	2 / 10 %	8 / 80 %	1 / 5 %	4 / 40 %	0 / 0 %	0 / 0 %
<i>E. coli variatio haemolytica</i>	0 / 0 %	2 / 20 %	0 / 0 %	2 / 20 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
<i>Klebsiella sp.</i>	2 / 10 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
<i>Pseudomonas sp.</i>	2 / 10 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %
<i>Staph. aureus</i>	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %

* fakultativ pathogene Keime

Tab. 4.1.5 Nachweishäufigkeit der apathogenen Keimarten im Genitaltrakt von Stuten in vier verschiedenen Lokalisationen *in vivo* und *post mortem*.

	Vestibulum		Vagina		Zervix		Uterus	
	<i>in vivo</i>	<i>post mortem</i>						
Staph. epidermidis	10 / 50 %	7 / 70 %	2 / 10 %	5 / 50 %	2 / 10 %	5 / 50 %	1 / 5 %	3 / 30 %
Staph. intermedius	1 / 5 %	1 / 10 %	1 / 5 %	1 / 10 %	1 / 5 %	2 / 20 %	0 / 0 %	2 / 20 %
α-Streptokokken	12 / 60 %	7 / 70 %	2 / 10 %	4 / 40 %	4 / 20 %	2 / 20 %	1 / 5 %	0 / 0 %
γ-Streptokokken	4 / 20 %	1 / 10 %	2 / 10 %	0 / 0 %	2 / 10 %	0 / 0 %	3 / 15 %	1 / 10 %
Acinetobacter sp.	5 / 35 %	9 / 90 %	1 / 5 %	5 / 50 %	2 / 10 %	3 / 40 %	1 / 5 %	1 / 10 %
Aerobe Bazillen	6 / 30 %	2 / 20 %	1 / 5 %	1 / 10 %	2 / 10 %	0 / 0 %	3 / 15 %	0 / 0 %
Alcaligenes faecalis	1 / 5 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %
Nocardioforme Keime	1 / 5 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Corynebact. sp.	6 / 30 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %
Coliforme Keime	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	2 / 20 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Flavobacterium sp.	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 10 %
Micrococcus sp.	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Aeromonas sp.	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Neisseria sp.	1 / 5 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Proteus sp.	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	1 / 10 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %
Anaerobe Keime	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %	1 / 5 %	0 / 0 %

4.1.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung

1. Hinsichtlich des Keimnachweises, der Ausprägung der mikrobiellen Besiedlung, der Keimspezieszahl und der Analyse der verschiedenen Keimspezies im Detail konnte nur wenig Übereinstimmung zwischen der *in vivo* und *post mortem* isolierten Keimflora konstatiert werden.
2. Eine signifikante Reduktion der Intensität der bakteriellen Manifestation ließ sich im Verlauf des weiblichen Genitaltraktes von kaudal nach kranial beobachten. Die stärkste Abnahme zeigte sich hierbei am Übergang vom Vestibulum zur Vagina.
3. Sowohl bei der Quantifikation der Keimspezieszahl insgesamt als auch bei Zählung der fakultativ pathogenen separat gelang es ebenfalls, einen signifikanten Unterschied von kaudal nach kranial zu ermitteln. Auch hier war die deutlichste numerische Reduktion von der Lokalisation Vestibulum zur Vagina hin zu erkennen.
4. Als bemerkenswert stellte sich das errechnete Zahlenverhältnis der fakultativ pathogenen zu den apathogenen Keimarten heraus, wobei der Anteil der fakultativ pathogenen Keimarten entlang der kaudo-kranialen Achse des Genitaltraktes stark abnahm. Die deutlichste Verschiebung des Verhältnisses zu den apathogenen Spezies zeigte sich am Übergang von Vagina zur Zervix.
5. Die Analyse der regional vorherrschenden Keime aus den Proben des Vestibulums und der Vagina ergab eine Dominanz fakultativ pathogener Erreger, wohingegen es sich in der Zervix und intrauterin überwiegend um apathogene Spezies handelte.
6. Eine Übereinstimmung der zervikalen Keimflora mit der uterinen Situation lag nur in 10 % der Fälle vor.

4.2 Ergebnisse der histologischen Untersuchung

Für die histologische Untersuchung stehen Gewebeproben aus fünf verschiedenen Regionen entlang der Längsachse der equinen Zervix zur Verfügung, die von Stuten nach der Schlachtung gewonnen sind.

In allen Gewebeschnitten lässt sich die typische Gewebearchitektur der equinen Zervix, bestehend aus dem oberflächlich abschließenden Epithel, der darunterliegenden *Tela submucosa* mit dem Venenplexus in der Tiefe und der sich anschließenden *Tunica muscularis*, nachweisen. Blutungen und Infiltrationen mit Entzündungszellen sind nicht vorzufinden, so dass zusammen mit dem makroskopischen Bild der Reproduktionsorgane und den mikrobiologischen Ergebnissen davon ausgegangen werden kann, dass es sich um geschlechts gesunde Tiere handelt (siehe 4.1.1 und 4.1.2).

Die Datendeskription erfolgt mit Hilfe des arithmetischen Mittelwertes (\bar{x}_a) und der Standardabweichung (SD). Bei der Auswertung der Zellpopulationen muss auf den geometrischen Mittelwert (\bar{x}_g) und den Streufaktor (SF) zurückgegriffen werden, da die Werte rechtsschief verteilt sind.

4.2.1 Morphologie des Epithels in der equinen Zervix und deren Messung

Die Schleimhaut des Zervikalkanals verzweigt sich baumartig in Primär-, Sekundär- und Tertiärfalten, wobei die Primärfalten noch über eine bindegewebige Grundlage mit zum Teil ausgeprägter Gefäßversorgung verfügen (Abb. 4.2.1). Bei der Auskleidung des Zervikalkanals handelt es sich um ein einschichtiges, hochprismatisches Zylinderepithel. Selten nimmt das Epithel im Bereich der Faltenkämme auch mehrstufige Formen an, wohingegen eine Mehrreihigkeit nie erkannt wird. Die Einzelzellen weisen eine zumeist schlanke Gestalt auf, mit einem großen Zellkern im basalen Drittel. Auffällig ist, dass sich der Zellkörper in Einzelfällen vakuolig aufgetrieben darstellt. Dies ist vor allem in den Faltentälern zu beobachten. Bei dem dominierenden Teil der Zellen säumen deutlich sichtbar Kinozilien die apikale Zellmembran (Abb. 4.2.2). Die durchschnittliche Höhe der Epithelzellen liegt bei $17,5 \pm 1,7 \mu\text{m}$ und die Breite bei $6,4 \pm 1,2 \mu\text{m}$. Die Gegenüberstellung der Zellhöhe der Schleimhautfaltenkämme und -täler ergibt

jedoch einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$). Im Bereich der Faltenkämme beträgt die Höhe durchschnittlich $19,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$, während sie in den Faltentälern nur $15,9 \pm 1,8 \mu\text{m}$ misst. Hinsichtlich der Zellbreite sind nur geringe Unterschiede der Lokalisation zu verifizieren, mit der Tendenz zu schmalere Zellen am Faltenkamm (Durchschnitt $5,9 \pm 1,3 \mu\text{m}$) und breiteren Zellen im Faltental (Durchschnitt $6,8 \pm 1,1 \mu\text{m}$). Insgesamt lassen die Epithelzellen den Trend erkennen, von kaudal nach kranial an Höhe zu verlieren. In der Nähe des *Ostium externum* ergibt sich für den apikalen Abschnitt der Schleimhautfalten eine durchschnittliche Epithelzellhöhe von $19,9 \pm 3,7 \mu\text{m}$ beziehungsweise $17,4 \pm 3,4 \mu\text{m}$ an der Basis, wohingegen die Zellhöhe in der Nähe des *Ostium internum* durchschnittlich $18,7 \pm 3,5 \mu\text{m}$ (Faltenkamm) und $14,7 \pm 2,6 \mu\text{m}$ (Faltental) aufweist (Abb. 4.2.3). Der Unterschied der Zellhöhe im Faltental entlang der longitudinalen Achse der Zervix stellt sich als signifikant heraus ($p < 0,05$). Die Epithelzellbreite unterliegt geringen regionalen Schwankungen, lässt jedoch keine eindeutige ab- oder zunehmende Tendenz erkennen (Tab. 4.2.1, Tab. 4.2.2, Abb. 4.2.3). Der Nachweis einer zyklusabhängigen Beeinflussung gelingt nicht.

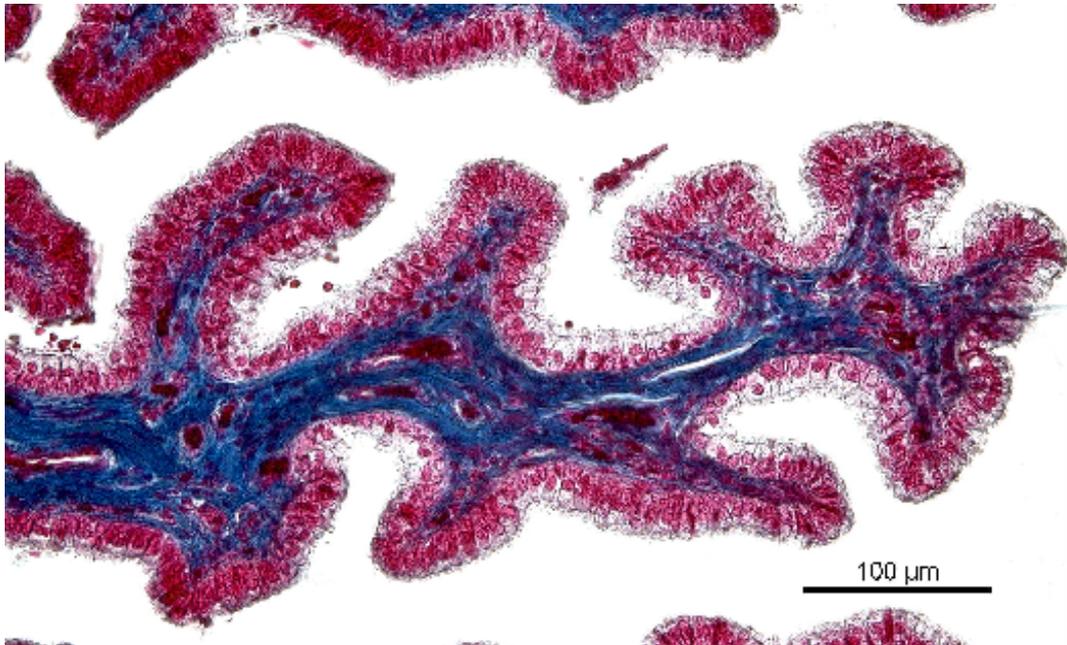


Abb. 4.2.1: Sekundär- und Tertiärfalten des equinen Zervikalepithels, Übersicht, 100 - fache Vergrößerung, Azan nach Heidenhain

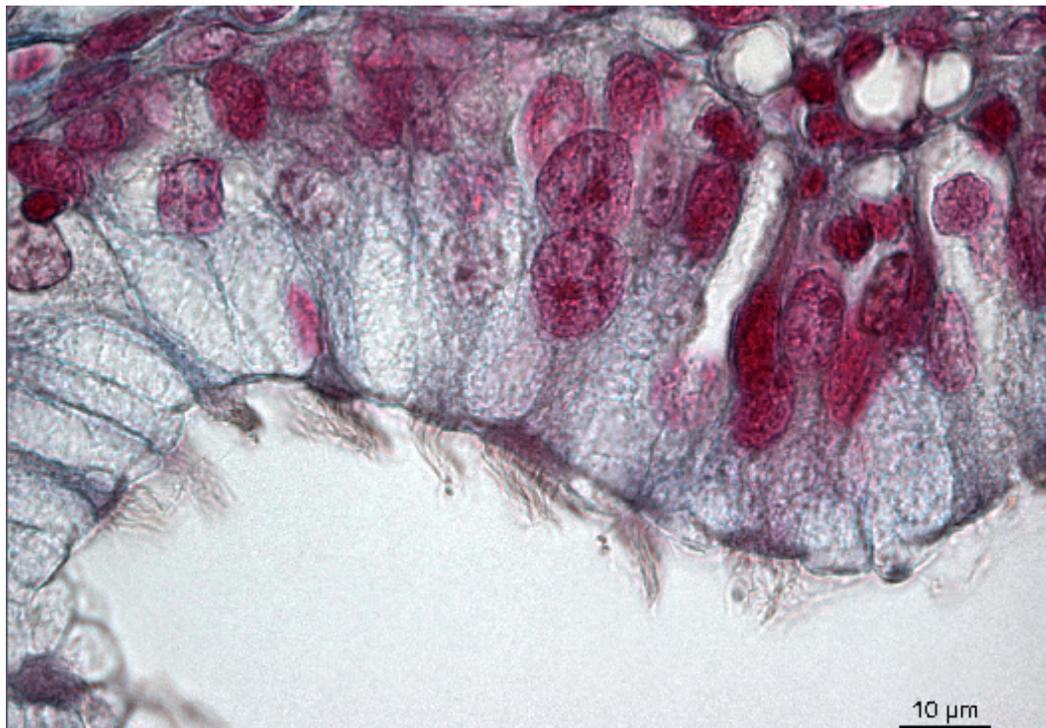


Abb. 4.2.2: Hochprismatisches Zylinderepithel mit Kinozilien, 1000-fache Vergrößerung, Azan nach Heidenhain

Tab. 4.2.1 Ergebnisse der morphometrischen Messung des Epithels in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial und die Lokalisation Schleimhautfaltenkamm und Schleimhautfaltental in μm , angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD) (a zu b: $p < 0,05$, c zu d: $p < 0,05$)

	Faltenkamm		Faltental	
	Epithelmaße in μm		Epithelmaße in μm	
	Zellhöhe	Zellbreite	Zellhöhe	Zellbreite
Region 1	19,9 ^a ± 3,7	6,6 ± 1,4	17,4 ^{b,c} ± 3,4	7,0 ± 0,9
Region 2	19,9 ^a ± 4,5	6,2 ± 0,7	15,7 ^b ± 2,8	6,5 ± 0,9
Region 3	18,3 ^a ± 4,0	6,1 ± 1,0	15,6 ^b ± 2,9	7,3 ± 1,0
Region 4	18,4 ^a ± 3,6	5,4 ± 0,9	15,8 ^b ± 1,9	6,7 ± 1,6
Region 5	18,7 ^a ± 3,5	5,4 ± 0,4	14,7 ^b ± 2,6	6,7 ± 0,8
Gesamt	19,0 ^a ± 2,4	5,9 ± 1,3	15,9 ^{b,d} ± 1,8	6,8 ± 1,1

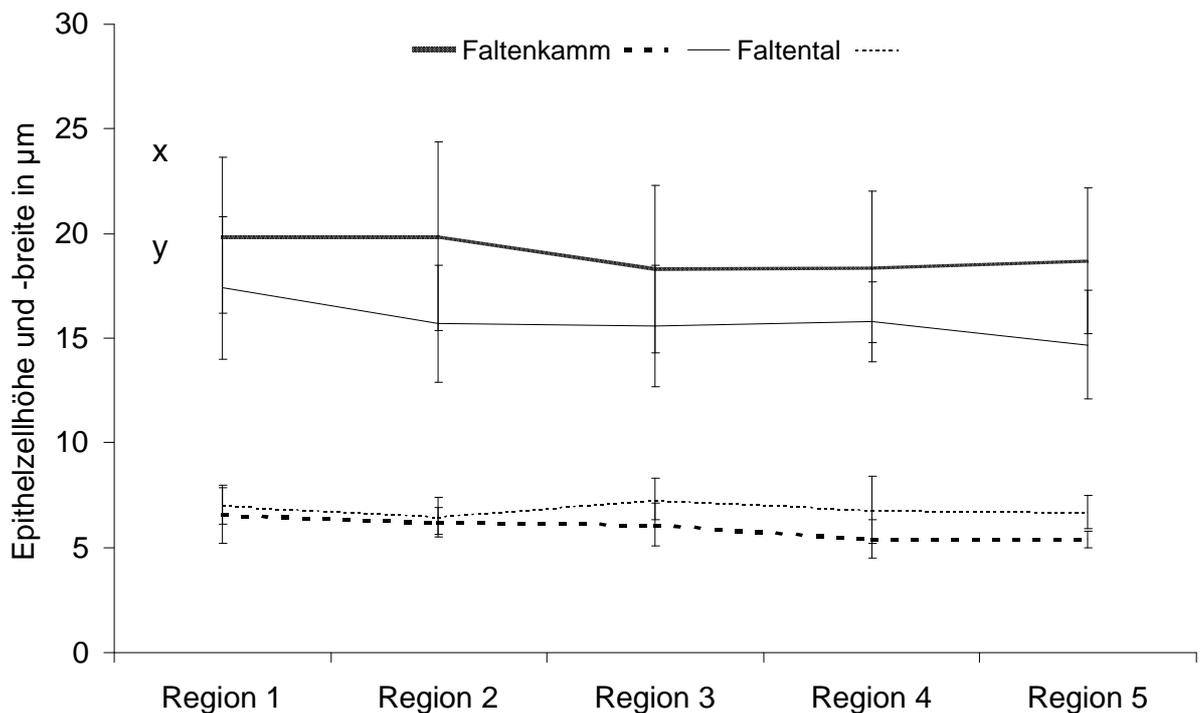


Abb. 4.2.3 Vergleichende Darstellung der Epithelzellhöhe (—) und -breite (---) in der equinen Zervix, unterschieden in Epithelfaltenkamm und -tal in μm . Der Unterschied in der Epithelhöhe (x) im Faltenkamm (y) und Faltental stellt sich als signifikant heraus ($p < 0,05$).

Tab. 4.2.2 Einzelergebnisse der morphometrischen Messung des Epithels in der equinen Zervix, unterteilt in die Lokalisationen Schleimhautfaltenkamm und Schleimhautfaltental in μm , angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).

Tier nummer	Faltenkamm Epithelmaße in μm		Faltental Epithelmaße in μm	
	Zellhöhe	Zellbreite	Zellhöhe	Zellbreite
1	25,4 \pm 3,4	7,1 \pm 1,6	17,9 \pm 3,4	7,6 \pm 0,9
2	20,1 \pm 2,2	5,4 \pm 0,2	17,4 \pm 1,6	5,9 \pm 0,7
3	21,9 \pm 4,1	5,9 \pm 0,7	16,7 \pm 2,4	6,2 \pm 0,6
4	18,1 \pm 0,9	5,5 \pm 0,7	15,1 \pm 1,5	6,7 \pm 0,2
5	17,2 \pm 1,4	5,8 \pm 0,6	12,5 \pm 1,4	8,2 \pm 1,0
6	18,6 \pm 1,4	5,5 \pm 0,4	15,3 \pm 1,8	7,0 \pm 0,8
7	18,4 \pm 1,1	5,7 \pm 0,9	17,6 \pm 2,7	7,2 \pm 0,5
8	12,5 \pm 1,4	6,2 \pm 1,7	12,3 \pm 0,5	6,1 \pm 1,5
9	19,8 \pm 2,5	6,0 \pm 0,6	19,3 \pm 1,3	7,0 \pm 0,7
10	18,1 \pm 2,4	6,0 \pm 1,3	15,0 \pm 1,8	6,5 \pm 1,1

4.2.2 Art, Anzahl und Verteilung der vaskulären Strukturen innerhalb der equinen Zervix

Das Zervixgewebe ist reichlich von Blutgefäßen durchzogen. Neben kleineren Arterien und Venen lassen sich auch Arteriolen, Venolen und Kapillaren differenzieren. Die Arterien und Venen weisen den typischen dreischichtigen Bau auf. Dieser besteht aus einem einschichtigen Endothel und angrenzenden bindegewebigen Anteilen innen, ein oder mehrere Schichten glatter Muskulatur und einem lockeren Kollagennetzwerk außen, welches eine Verbindung zu angrenzenden Geweben herstellt. Deutlich kleinlumiger stellen sich die Arteriolen und Venolen dar, die nur noch ein bis drei Muskelzelllagen aufweisen. Die Kapillaren sind leicht an ihrem einschichtigen, aus Endothelzellen bestehenden Aufbau zu erkennen und beinhalten häufig noch Erythrozyten (Abb. 4.2.5).

Eine nur schwache Vaskularisierung lässt sich in der Gewebeschicht unterhalb des Epithels erkennen. Die ausgeprägteste Gefäßversorgung liegt dagegen in den tiefen Schichten der *Tela submucosa* vor, wobei kleine, längs verlaufende Venen und Venolen dominieren. Die Gefäßdichte beträgt hier im Durchschnitt, ohne Differenzierung der Gefäßart, $46,3 \pm 25,1$ Gefäße pro mm^2 (arithmetischer Mittelwert $\bar{x}_a \pm$ Standardabweichung SD). Teilweise erscheint es, dass die Gefäße von kaudal nach kranial kleinlumiger werden. Eine Quantifikation erfolgt jedoch nicht. In den oberflächlichen Schichten der *Tunica muscularis* liegen die Gefäße in Bindegewebe eingebettet zwischen den einzelnen Muskelsträngen, bei einer durchschnittlichen Dichte von $9,8 \pm 7,8$ Gefäße pro mm^2 . Der Unterschied in der Gefäßdichte der beiden Gewebeschichten erweist sich als signifikant ($p < 0,05$). Regionale Unterschiede entlang der kaudo-kranialen Achse der Zervix bezüglich der Gefäßdichte ergeben sich nicht (Tab. 4.2.3, Tab. 4.2.4, Abb. 4.2.4). Auch eine zyklusabhängige Beeinflussung lässt sich nicht erkennen.

Tab. 4.2.3 Ergebnisse der histologischen Auswertung der Blutgefäßzahl in der equinen Zervix unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial und zwei Gewebeschichten (*Tela submucosa* und *Tunica muscularis*) in Gefäßzahl pro mm^2 , angegeben als arithmetischer Mittelwert \bar{x}_a und Standardabweichung SD.

	Blutgefäße in der <i>Tela submucosa</i>	Blutgefäße in der <i>Tunica muscularis</i>	Signifikanz
Region 1	49,2 ± 35,3	11,7 ± 4,0	P < 0,05
Region 2	42,6 ± 24,7	16,1 ± 11,6	P < 0,05
Region 3	32,0 ± 21,3	15,8 ± 9,3	P < 0,05
Region 4	42,9 ± 24,8	8,5 ± 6,2	P < 0,05
Region 5	58,1 ± 17,5	11,9 ± 4,8	P < 0,05
gesamt	46,3 ± 25,1	9,8 ± 7,8	P < 0,05

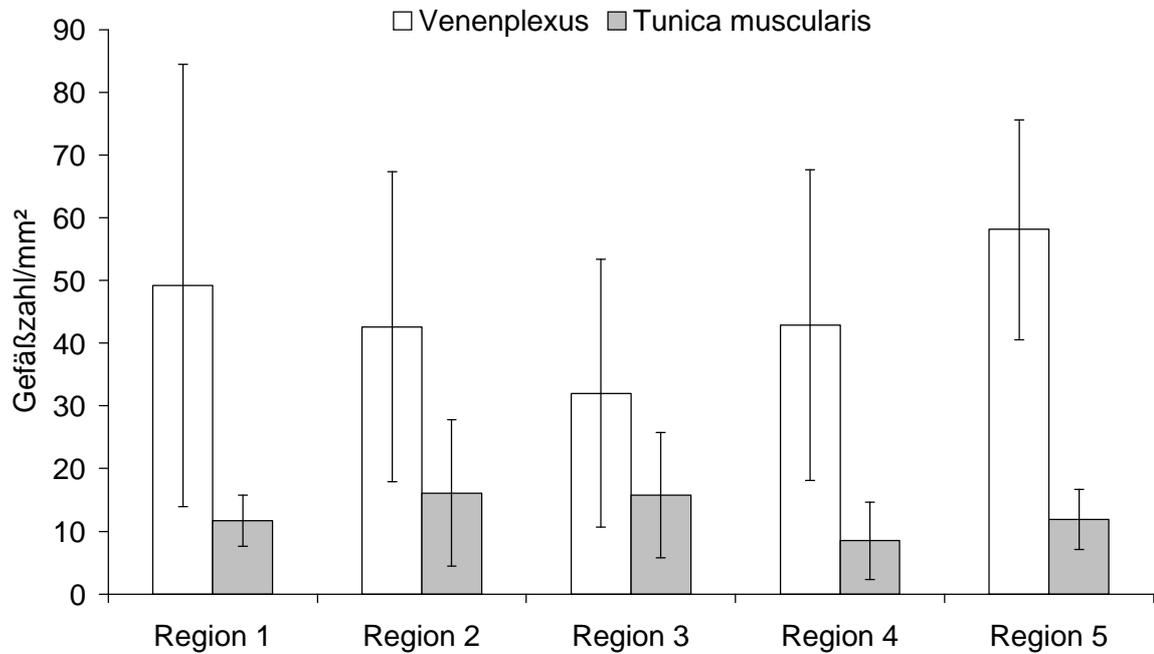


Abb. 4.2.4 Vergleichende Darstellung der Blutgefäßzahl in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial und zwei Gewebeschichten (*Tela submucosa* und *Tunica muscularis*) in Gefäße pro mm². Die Differenz in der Gefäßzahl zwischen den beiden Gewebeschichten erweist sich als statistisch signifikant ($p < 0,05$).

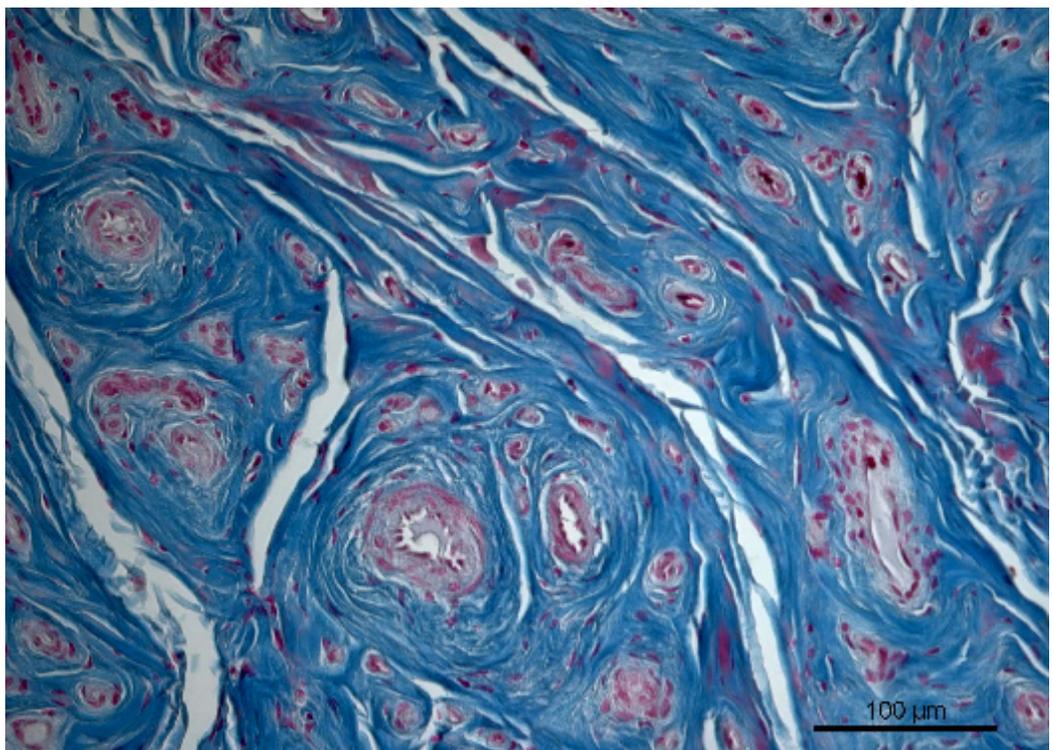


Abb. 4.2.5 Venenplexus in der *Tela submucosa*, Azan nach Heidenhain, 100-fache Vergrößerung

Tab. 2.4.4 Einzelergebnisse der histologischen Auswertung der Blutgefäßzahl in der equinen Zervix, unterteilt in die zwei Gewebeschichten *Tela submucosa* und *Tunica muscularis* in Gefäßzahl pro mm², angegeben als arithmetischer Mittelwert (\bar{x}_a) und Standardabweichung (SD).

Tiernummer	Gefäßzahl in der <i>Tela submucosa</i> ± SD	Gefäßzahl in der <i>Tunica muscularis</i> ± SD
1	32,4 ± 16,7	15,4 ± 1,6
2	26,1 ± 10,6	14,9 ± 4,0
3	31,0 ± 20,3	13,0 ± 7,7
4	42,5 ± 6,9	10,2 ± 3,7
5	56,3 ± 9,5	9,5 ± 3,8
6	49,8 ± 8,7	7,4 ± 1,8
7	45,5 ± 27,0	8,0 ± 5,0
8	48,4 ± 40,0	28,2 ± 20,0
9	46,3 ± 39,0	14,4 ± 10,8
10	46,3 ± 26,3	9,9 ± 6,8

4.2.3 Art, Anzahl und Verteilung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix

Die eosinophilen Granulozyten sind im lichtmikroskopischen Bild singulär oder in Gruppen von zwei bis drei Zellen anzutreffen. Sie heben sich durch ihre Größe von 12 bis 14 µm von den umgebenden Zellen ab und weisen eine runde bis ovale Form auf. Mit Hilfe der Siriusred-Färbung stellen sich die etwa ein bis zwei µm großen, runden Granula leuchtend rot dar. Sie füllen den Zellkörper komplett aus und überdecken den Zellkern und andere Zellorganellen weitestgehend. Zum großen Teil ist eine Erhabenheit der Granula über die Zelloberfläche hinweg zu erkennen (Abb. 4.2.6). Insgesamt liegt die Zelldichte bei 0,37 Zellen pro mm² (Streufaktor SF 4,4). Auffallend ist die inhomogene Verteilung innerhalb der verschiedenen Gewebeschichten, deren Unterschied sich als statistisch hoch signifikant herausstellt ($p < 0,0001$).

Die absolut höchste Zelldichte ist in den oberflächlichen Schichten der *Tela submucosa* (bis 100 µm unterhalb des Epithels) anzutreffen und beträgt 2,44 Zellen pro mm² (SF 6,8). In den tiefen Gewebeschichten der *Tela submucosa*, im Bereich des Venenplexus, liegt die Zelldichte mit 0,41 Zellen pro mm² (SF 2,4) deutlich niedriger. 41% (0,17 Zellen pro mm²; SF 2,0) dieser Zellen befinden sich intravasal und 59% (0,2 Zellen pro mm²; SF 2,7) im umgebenden extravasalen Gewebe.

In den oberflächlicheren Schichten der *Tunica muscularis* ist nur eine geringe Zahl an eosinophilen Granulozyten zu konstatieren. Es ergibt sich eine Dichte von 0,14 Zellen pro mm² (SF 4,2).

Eine differente Situation liegt bei der Adspektion des Epithels vor: Hier lässt sich nur bei drei Stuten eine Infiltration mit eosinophilen Granulozyten in geringer Zahl nachweisen (0,01 Zellen pro mm; SF 20,0) (Tab. 4.2.5, Abb. 4.2.7).

Die Betrachtung der Zelldichte im Verlauf des Zervikalkanals von kaudal nach kranial ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Regionen, weder insgesamt noch auf die einzelnen Zellschichten bezogen (Abb. 4.2.7, 4.2.8). Die eosinophilen Granulozyten sind also innerhalb der Zervix überwiegend homogen verteilt. Eine leichte aber nicht signifikante Reduktion der Zellzahl entlang der kaudo-kranialen Achse ist jedoch in den subepithelialen Gewebeschichten zu erkennen, wo sich die Zellzahl von 9,89 (SF 6,0) auf 1,37 (SF 9,1) Zellen pro mm² minimiert. Diese leicht abnehmende Tendenz spiegelt sich auch in der Gesamtzellzahl unabhängig von den Gewebeschichten wider (Reduktion von 0,53; SF 3,0 auf 0,35; SF 2,6 Zellen pro mm²). Insgesamt unterliegen die Ergebnisse von Stute zu Stute einer relativ hohen Schwankungsbreite (Tab. 4.2.7).

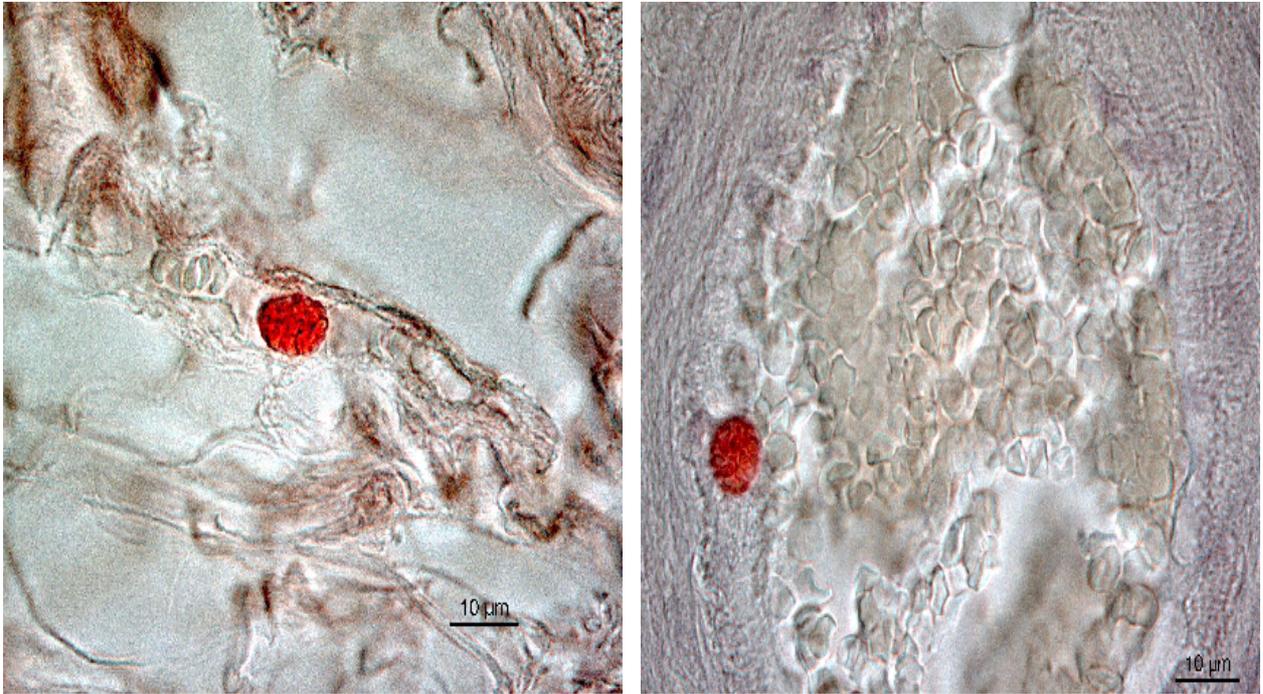


Abb. 4.2.6: Eosinophiler Granulozyt in der *Tela submucosa* (linkes Bild) und intravasal (rechtes Bild), Siriusred, 1000-fache Vergrößerung

Tab. 4.2.5 Ergebnisse der histologischen Auswertung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial und fünf Gewebeschichten in Zellen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als hoch signifikant ($p < 0,001$).

	<i>Tela</i>	Venenplexus		<i>Tunica</i>	Gesamt
	<i>submucosa</i>	intravasal	extravasal	<i>muscularis</i>	
Region 1	9,89 / 6,0	0,21 / 2,2	0,3 / 4,0	0,12 / 1,6	0,53 / 3,0
Region 2	2,35 / 4,6	0,16 / 2,0	0,26 / 2,6	0,13 / 1,7	0,34 / 4,9
Region 3	1,72 / 7,1	0,18 / 2,0	0,3 / 3,0	0,16 / 2,6	0,35 / 3,3
Region 4	1,56 / 8,0	0,17 / 2,1	0,21 / 2,3	0,15 / 1,8	0,3 / 2,9
Region 5	1,37 / 9,1	0,13 / 1,7	0,18 / 1,9	0,12 / 1,6	0,35 / 2,6
Gesamt	2,44 / 6,8	0,17 / 2,0	0,24 / 2,7	0,14 / 1,8	0,37 / 4,2

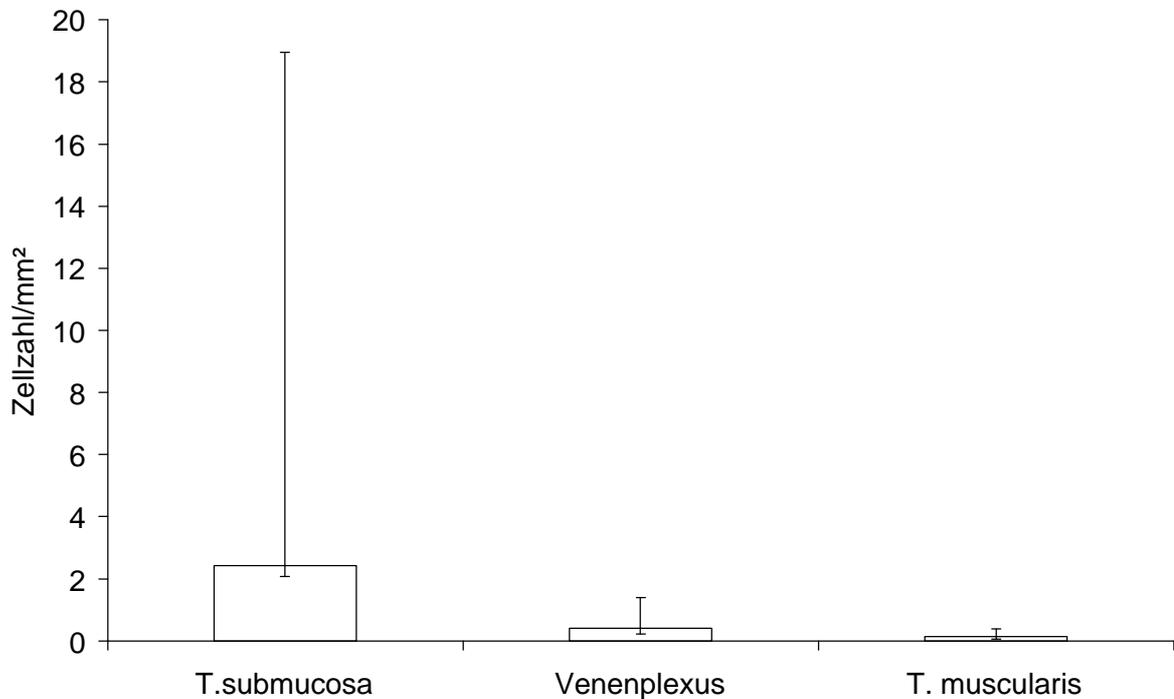


Abb. 4.2.7 Graphische Darstellung von Anzahl und Verteilung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix, unterteilt in drei Gewebeschichten, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als hoch signifikant ($p < 0,001$).

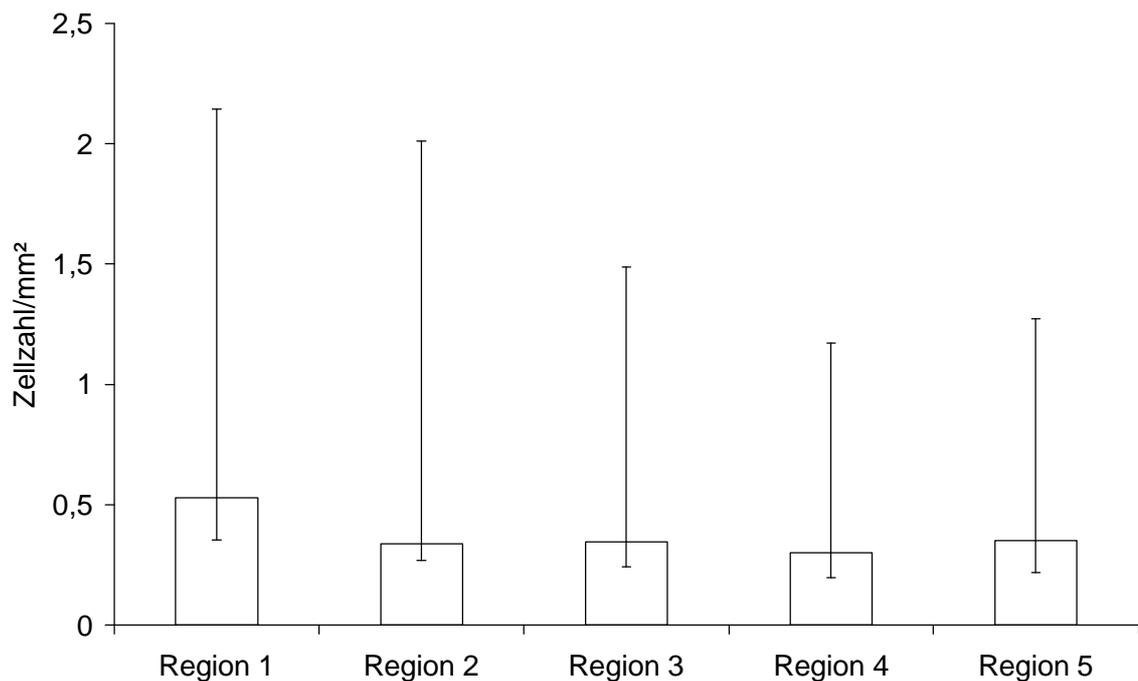


Abb. 4.2.8. Graphische Darstellung von Anzahl und Verteilung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Regionen erweisen sich als nicht signifikant.

4.2.4 Art, Anzahl und Verteilung der Mastzellen in der equinen Zervix

Die Mastzellen spielen zahlenmäßig gegenüber den eosinophilen Granulozyten eine übergeordnete Rolle und sind mit einer größeren Regelmäßigkeit aufzufinden. Die Zellen, die sich mit 20 bis 24 μm etwas größer als die eosinophilen Granulozyten darstellen, liegen zumeist einzeln und weisen eine ellipsoide bis pyramidenförmige Gestalt auf. Gegen den in der Toluidin-Blau-Färbung blau gefärbten Hintergrund heben sich die metachromatisch magenta-farbenden Granula deutlich ab. Bei diesen Granula handelt es sich um kleine, fein über den ganzen Zellkörper verteilte Granula, die jedoch den großen, runden Zellkern noch erkennen lassen. In manchen Fällen ist eine Agglomeration der Granula an einem Zellpol deutlich sichtbar (Abb. 4.2.9).

Die Mastzellen sind mit einer Gesamtdichte von 0,86 Zellen pro mm^2 (SF 5,0) vertreten. Hervorzuheben ist, dass sich auch bei dieser Zellpopulation ein signifikanter Unterschied der Zelldichte in den verschiedenen Gewebeschichten zeigt ($p \leq 0,001$). Die höchste Zelldichte ist hier ebenfalls mit 2,07 Zellen pro mm^2 (SF 7,2) in der subepithelialen Gewebeschicht zu notieren. Die nächst höhere Zahl pro Flächeneinheit lässt sich in der Schicht des Venenplexus nachweisen, wobei die Zellen ausschließlich extravasal liegen (1,35 Zellen pro mm^2 ; SF 5,1).

In der *Tunica muscularis* sind die Mastzellen mit 0,23 Zellen pro mm^2 (SF 3,5) in nur äußerst geringer Menge vertreten. Keine Vertreter dieser Zellpopulation können im Epithel des Zervikalkanals dargestellt werden (Tab. 4.2.6, Abb. 4.2.10).

Die Betrachtung der Zelldichte im Verlauf der Längsachse der Zervix von kaudal nach kranial ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den fünf Regionen (Abb.4.2.11). Dies bezieht sich sowohl auf die einzelnen Gewebeschichten als auch auf die Gesamtbetrachtung aller Gewebeschichten. Eine geringfügig abnehmende Tendenz bezüglich der Zellzahl nach kranial ist jedoch sowohl unabhängig von den Gewebeschichten (von 1,19; SF 5,3 auf 0,7; SF 5,0 Zellen pro mm^2) als auch subepithelial (von 3,31; SF 8,5 auf 1,66; SF 7,8 Zellen pro mm^2) und intramuskulär (von 0,42; SF 4,3 auf 0,14; SF 2,8 Zellen pro mm^2) festzustellen. Die durchschnittliche Zellzahl im Venenplexus steigt jedoch an. (von 1,23; SF 4,0 auf 1,48; SF 5,6 Zellen pro mm^2) (Tab. 4.2.6). Die Ergebnisse der Einzeltiere sind in Tabelle 4.2.7 dargestellt.

Tab. 4.2.6 Ergebnisse der histologischen Auswertung der Mastzellen in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial, und fünf Gewebeschichten in Zellen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als signifikant ($p < 0,01$).

	<i>Tela submucosa</i>	Venenplexus	<i>Tunica muscularis</i>	Gesamt
Region 1	3,31 / 8,5	1,23 / 4,0	0,42 / 4,3	1,19 / 5,3
Region 2	3,98 / 4,5	1,2 / 6,5	0,39 / 5,4	1,23 / 5,4
Region 3	1,41 / 8,0	1,29 / 5,9	0,15 / 2,4	0,65 / 4,9
Region 4	1,22 / 8,1	1,57 / 3,8	0,17 / 3,2	0,69 / 4,6
Region 5	1,66 / 7,8	1,48 / 5,6	0,14 / 2,8	0,7 / 5,0
Gesamt	2,07 / 7,2	1,35 / 5,1	0,23 / 3,5	0,86 / 5,0

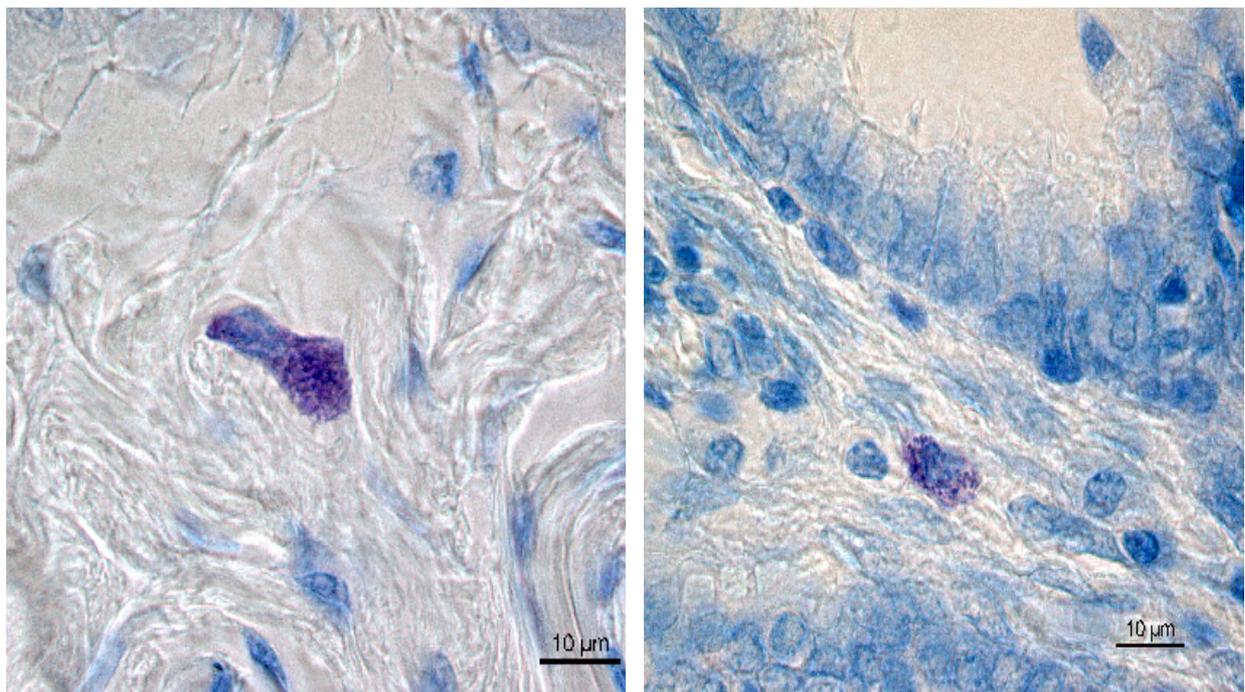


Abb. 4.2.9 Mastzelle perivaskulär (Bild rechts) und in der *Tela submucosa* subepithelial (Bild links), Toluidinblau, 1000-fache Vergrößerung

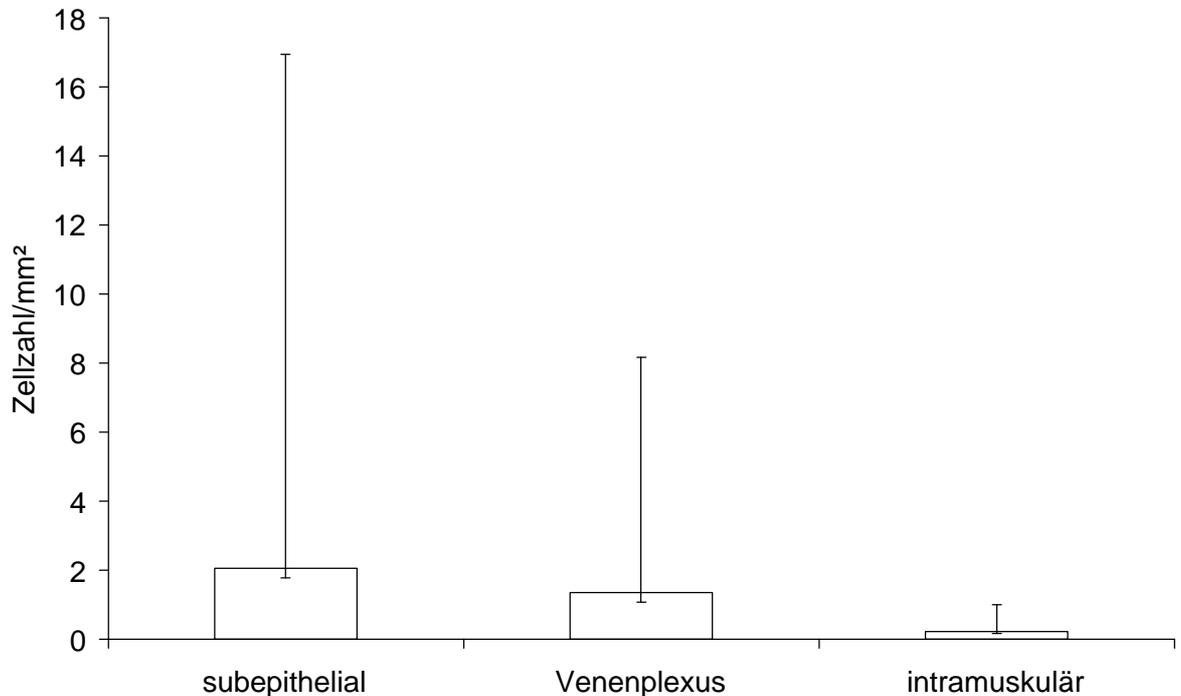


Abb. 4.2.10 Graphische Darstellung von Anzahl und Verteilung der Mastzellen in der equinen Zervix, unterteilt in drei Gewebeschichten, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als signifikant ($p < 0,01$).

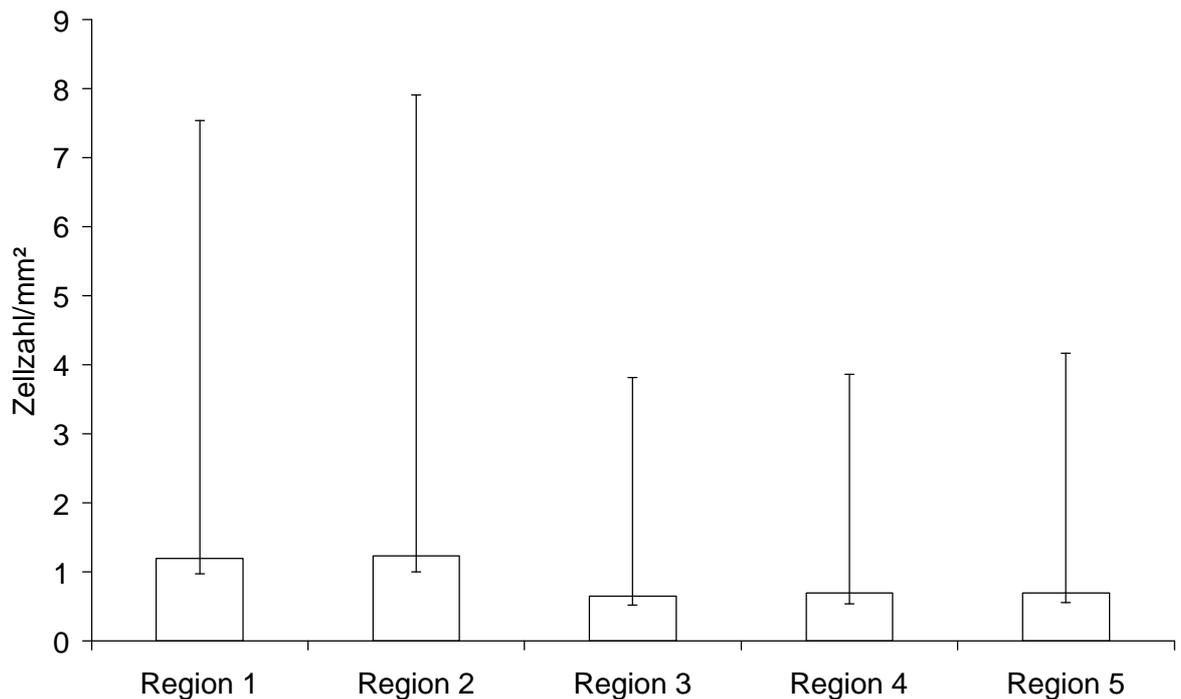


Abb. 4.2.10 Graphische Darstellung von Anzahl und Verteilung der Mastzellen in der equinen Zervix, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den einzelnen Regionen erweisen sich als nicht signifikant.

Tab. 2.4.7 Einzelergebnisse der histologischen Auswertung der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen in der equinen Zervix, unterteilt in die Gewebeschichten Epithel, *Tela submucosa*, Venenplexus intravasal (iv), Venenplexus extravasal (ev) und *Tunica muscularis*, in Zellen pro mm bzw. mm², angegeben als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF).

Tiernummer	Gewebeschicht	Eosinophile (Z/mm* bzw. mm²)	Mastzellen (Z/mm²)
1	Epithel	0,06*	
	<i>Tela submucosa</i>	1,85	4,28
	Venenplexus iv	0,42	-
	Venenplexus ev	0,46	4,99
	<i>Tunica muscularis</i>	0,38	0,17
2	Epithel	0,001*	-
	<i>Tela submucosa</i>	3,23	14,26
	Venenplexus iv	0,04	-
	Venenplexus ev	0,46	2,07
	<i>Tunica muscularis</i>	0,04	0,12
3	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	46,48	2,24
	Venenplexus iv	0,25	-
	Venenplexus ev	1,92	0,42
	<i>Tunica muscularis</i>	0,29	0
4	Epithel	0,001*	-
	<i>Tela submucosa</i>	1,05	6,66
	Venenplexus iv	0,12	-
	Venenplexus ev	0,08	10,33
	<i>Tunica muscularis</i>	0	0,67

5	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	0,7	9,41
	Venenplexus iv	0,12	-
	Venenplexus ev	0,54	4,17
	<i>Tunica muscularis</i>	0,04	0,83
6	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	25,3	3,92
	Venenplexus iv	0	-
	Venenplexus ev	0,29	1,84
	<i>Tunica muscularis</i>	0	0,33
7	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	3,56	0
	Venenplexus iv	0,17	-
	Venenplexus ev	0,29	0,33
	<i>Tunica muscularis</i>	0,04	0,17
8	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	1,12	5,81
	Venenplexus iv	0,08	-
	Venenplexus ev	0	0,33
	<i>Tunica muscularis</i>	0,12	0
9	Epithel	0*	-
	<i>Tela submucosa</i>	1,85	7,22
	Venenplexus iv	0,08	-
	Venenplexus ev	0,17	2,41
	<i>Tunica muscularis</i>	0,04	1,5
10	Epithel	0	-
	<i>Tela submucosa</i>	2,29	6,05
	Venenplexus iv	0,42	-
	Venenplexus ev	0,17	5,42
	<i>Tunica muscularis</i>	0,12	2,83

4.2.5 Zyklische Beeinflussung der zellulären Komponenten in der equinen Zervix am Beispiel der eosinophilen Granulozyten und der Mastzellen

Eosinophile Granulozyten

Abhängig vom Zyklusstand der Stuten lässt sich ein Unterschied in der Infiltration der Zervix mit Abwehrzellen erkennen. Dieser Einfluss ist besonders bei den eosinophilen Granulozyten deutlich, wobei die Zelldifferenz knapp nicht signifikant ist ($p = 0,07$). Während sich im Diöstrus durchschnittlich 0,34 Zellen pro mm^2 (SF 3,0) im zervikalen Gewebe befinden, steigt die Zahl im Östrus um fast das 5-fache auf 1,52 Zellen pro mm^2 (SF 5,2). Hierbei sind weniger die tiefen Gewebeschichten, wie die Schicht des Venenplexus und die Muskularis, sondern vielmehr die oberflächlichen Anteile involviert.

In der Epithelschicht nimmt die Zellzahl von 0 Zellen pro mm auf 0,01 pro mm (SF 1,4) zu. Die subepitheliale Gewebeschicht zeigt eine 4-fache Erhöhung von durchschnittlich 1,44 Zellen (SF 2,0) auf 5,93 Zellen pro mm^2 (SF 5,3). Im Bereich des Venenplexus kommt es lediglich zu einer Verdoppelung von 0,3 Zellen (SF 1,7) pro mm^2 im Diöstrus auf 0,59 Zellen pro mm^2 (SF 2,8) im Östrus. Dabei befinden sich im Diöstrus die eosinophilen Granulozyten zu annähernd äquivalenten Teilen intravasal (0,14 Zellen pro mm^2 ; SF 2,0) und extravasal (0,16 Zellen pro mm^2 ; SF 1,5), wobei sich im Östrus etwa 76% der Zellen extravasal aufhalten (0,45 Zellen extravasal; SF 3,1 zu 0,14 Zellen intravasal; SF 2,4). In der *Tela muscularis* erhöht sich die Zellzahl im Östrus um das 2,3 fache auf 0,14 Zellen pro mm^2 (SF 2,5) (Diöstrus 0,06 Zellen pro mm^2 ; SF 1,8) (Tab. 4.2.8, Abb. 4.3.12).

Eine regionale Beeinflussung der Zellzahl entlang der Longitudinalachse der Zervix abhängig von Zyklusstand ist in keiner Gewebeschicht zu erkennen (Tab. 4.2.9, Abb. 4.2.13).

Tab. 4.2.8 Ergebnisse der histologischen Auswertung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix im Diöstrus und Östrus, unterteilt in drei Gewebeschichten in Zellen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als knapp nicht signifikant ($p = 0,07$).

	<i>Tela submucosa</i>	Venenplexus		<i>Tunica muscularis</i>
		intravasal	extravasal	
Diöstrus	1,44 / 2,0	0,14 / 2,0	0,16 / 1,5	0,06 / 1,8
Östrus	5,93 / 5,3	0,14 / 2,4	0,45 / 3,1	0,14 / 2,5

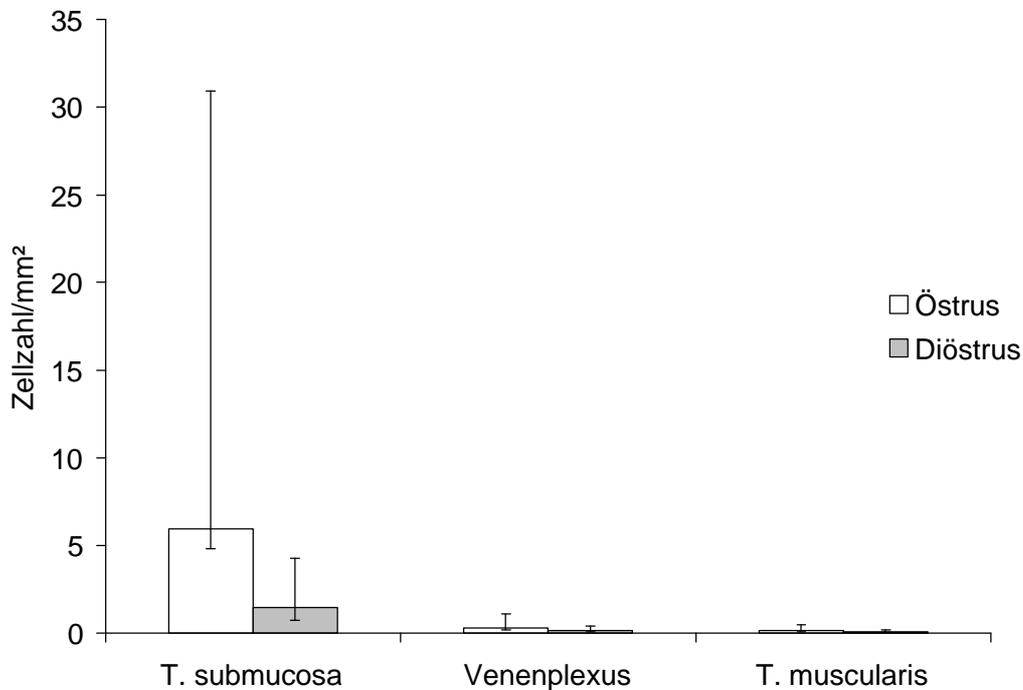


Abb. 4.2.12 Vergleichende Darstellung der Zahl der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus, unterteilt in drei Gewebeschichten, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als knapp nicht signifikant ($p = 0,07$).

Tab. 4.2.9 Ergebnisse der histologischen Auswertung der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix im Diöstrus und Östrus, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial in Zellen pro mm², dargestellt als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Der Unterschied innerhalb der Regionen erweist sich als nicht signifikant.

	Diöstrus	Östrus
Region 1	0,39 / 3,5	2,67 / 4,2
Region 2	0,42 / 2,3	1,52 / 3,7
Region 3	0,41 / 2,1	1,22 / 7,0
Region 4	0,23 / 3,8	1,55 / 5,0
Region 5	0,29 / 4,0	1,07 / 6,9
Gesamt	0,34 / 3,0	1,52 / 5,2

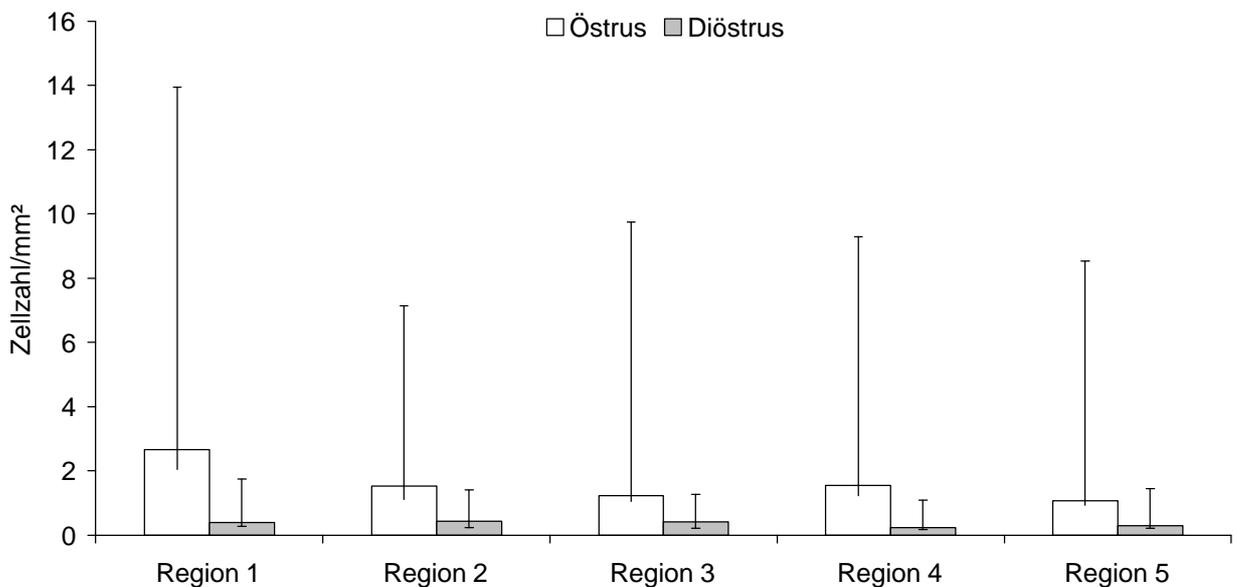


Abb. 4.2.13 Vergleichende Darstellung der Zahl der eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Regionen von kaudal nach kranial erweisen sich als nicht signifikant.

Mastzellen

Zyklischen Einflüssen ist auch die Infiltration des Zervikalgewebes mit Mastzellen unterworfen. Die Unterschiede sind jedoch weniger stark ausgeprägt und nicht statistisch signifikant. Im Diöstrus befinden sich durchschnittlich 0,93 Zellen pro mm² (SF 6,5) im Gewebe. Im Östrus ist ein Anstieg der Zellzahl um das 2,3-fache auf 2,18 Zellen pro mm² (SF 3,3) zu verzeichnen. Neben der absoluten Zellzahlerhöhung lässt sich auch eine Umverteilung der Zellen in den einzelnen Gewebeschichten beobachten. Durch Zellinfiltration erhöht sich die Zahl subepithelial von 2,99 Zellen pro mm² (SF 6,8) (Diöstrus) um das 1,7-fache auf 5,13 Zellen pro mm² (SF 2,0) (Östrus). In der Schicht des Venenplexus ist eine Veränderung der Mastzellzahl von 1,43 Zellen (SF 3,9) auf 2,41 Zellen (SF 3,3) pro mm² zu notieren (1,7-fache Erhöhung). Überraschenderweise stellt sich die Zellbewegung in der *Tela muscularis* als gegenläufig dar. Im Diöstrus halten sich 0,57 Zellen pro mm² (SF 4,2) im Gewebe auf, während es im Östrus zu einer Fluktuation um das 2,7-fache auf 0,21 Zellen pro mm² (SF 2,2) kommt (Tab. 4.2.10, Abb. 4.2.14). Die vergleichende Betrachtung der Mastzellzahl in den verschiedenen Regionen der Zervix entlang der Longitudinalachse ergibt im Verlauf des Zyklus keinen signifikanten Unterschied (Tab. 4.2.11, Abb. 4.2.15).

Tab. 4.2.10 Ergebnisse der histologischen Auswertung der Mastzellen in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus, unterteilt in drei Gewebeschichten in Zellen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als nicht signifikant.

	<i>Tela submucosa</i>	Venenplexus	<i>Tunica muscularis</i>
Diöstrus	2,99 / 6,8	1,43 / 3,9	0,57 / 4,2
Östrus	5,13 / 2,0	2,41 / 3,3	0,21 / 2,2

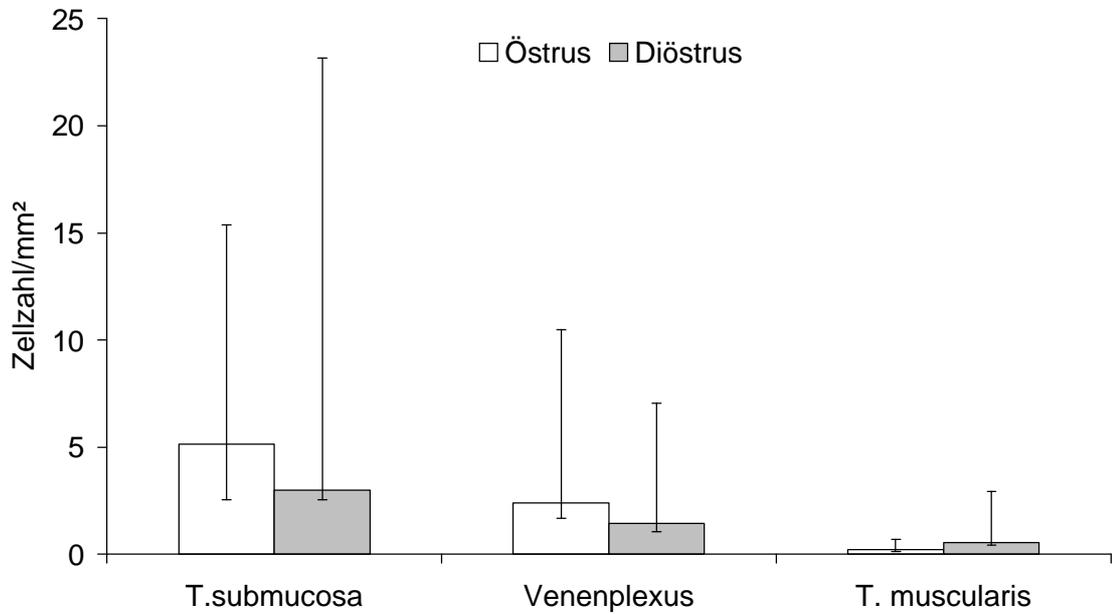


Abb. 4.2.14 Ergebnisse der histologischen Auswertung der Mastzellen in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus unterteilt in drei Gewebeschichten in Zellen pro mm², dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als nicht signifikant.

Tab. 4.2.11 Ergebnisse der histologischen Auswertung der Mastzellen in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial in Zellen pro mm², angegeben als geometrischer Mittelwert und Streufaktor (\bar{x}_g / SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Gewebeschichten erweisen sich als nicht signifikant.

	Diöstrus	Östrus
Region 1	1,10 / 9,2	2,86 / 4,2
Region 2	1,86 / 7,1	2,86 / 2,0
Region 3	0,97 / 4,7	1,92 / 2,6
Region 4	0,44 / 5,1	1,25 / 5,3
Region 5	0,79 / 7,2	2,5 / 3,6
Gesamt	0,93 / 6,5	2,18 / 3,3

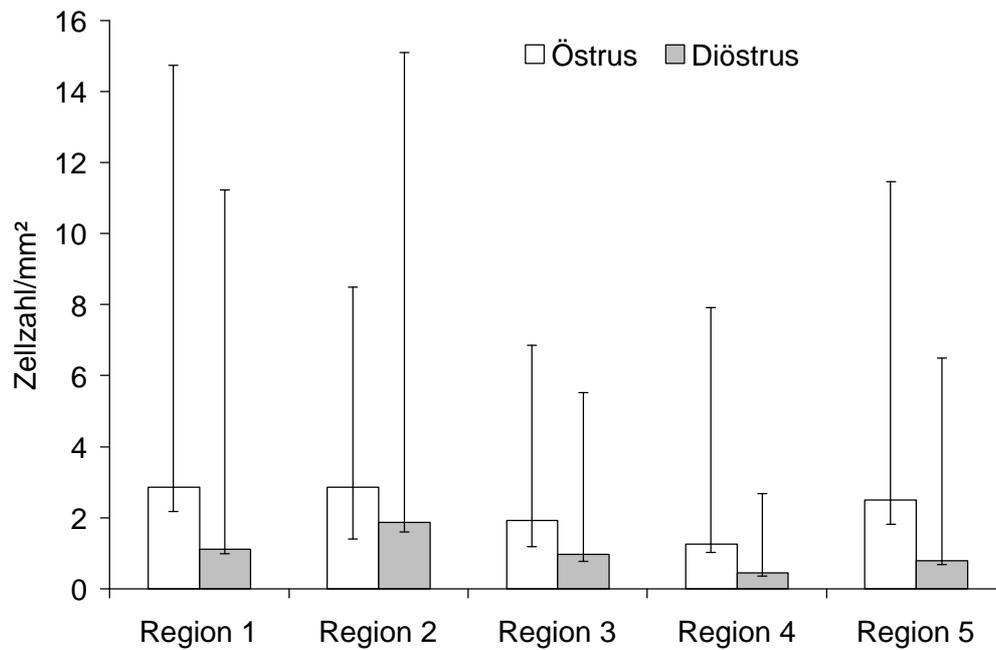


Abb. 4.2.15 Vergleichende Darstellung der Zahl der Mastzellen in der equinen Zervix im Östrus und Diöstrus, unterteilt in fünf Regionen von kaudal nach kranial, dargestellt als geometrischer Mittelwert (\bar{x}_g) und Streufaktor (SF). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen Östrus und Diöstrus innerhalb der einzelnen Regionen von kaudal nach kranial erweisen sich als nicht signifikant.

4.2.6 Zusammenfassung der Ergebnisse der histologischen Untersuchung

1. Das Zervikalepithel der Stute zeichnet sich durch eine Variabilität der Zellhöhe aus, die sich im apikalen Teil der Schleimhautfalten signifikant größer als an der Basis darstellt. Zum *Ostium uteri internum* hin haben die Zellen die Tendenz, an Höhe zu verlieren, was jedoch nur in den Faltentälern signifikant ist. Die freie Zellmembran weist einen deutlich erkennbaren Ziliensaum in allen histologischen Schnitten auf. Zyklische Unterschiede lassen sich nicht verifizieren.
2. Die tiefen Schichten der *Tela submucosa* verfügen über eine starke Vaskularisierung, welche signifikant höher als in den übrigen Gewebeschichten ist. Weder ein Einfluß des Zyklus, noch ein Einfluß der Region entlang der Longitudinalachse der Zervix auf die Gefäßdichte kann notiert werden.
3. Sowohl mit der Siriusred-Färbung als auch mit der Toluidinblau-Färbung gelingt eine gute Anfärbung der Granula in den eosinophilen Granulozyten und den Mastzellen.
Die *Tela submucosa* stellt sich bezüglich beider Zellpopulationen am zellreichsten heraus. Die signifikant höchste Zelldichte liegt im Bereich bis 100 µm unterhalb des Epithels. In der *Tunica muscularis* und dem Epithel dagegen, können beide Zellpopulationen nur singulär nachgewiesen werden. Ein Nachweis der Mastzellen im Epithel ist nicht möglich. Eosinophile Granulozyten und Mastzellen weisen entlang der Längsachse der Zervix eine weitestgehend homogene Verteilung auf, mit einer leicht abnehmenden Tendenz zum Uterus hin.
4. Im Östrus kann eine verstärkte Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen beobachtet werden, wobei vor allem die oberflächlicheren Gewebeschichten involviert sind. Dieser Unterschied erweist sich jedoch als nicht signifikant.

5. Diskussion

Einer ausbleibenden Reproduktionsleistung der Stute liegen häufig, neben Managementfehlern, pathologische Prozesse des Genitales zu Grunde. Über derartige Veränderungen des Uterus liegen in der Literatur zahlreiche Arbeiten vor. Die Bedeutung der Zervix im Zusammenhang der Fertilitätsbeeinflussung fand jedoch noch wenig Beachtung.

Ziel dieser Studie war es daher, mit Hilfe von mikrobiologischen Untersuchungen eine Aussage über den allgemeinen bakteriellen Status in den verschiedenen Abschnitten des Reproduktionstraktes zu treffen, um daraus die Effektivität der verschiedenen morphologischen und funktionellen Barrieren ableiten zu können. Ein besonderes Augenmerk richtete sich dabei auf die Zervix und ihre Bedeutung hinsichtlich der Infektionsabwehr und Inhibitionswirkung der Keimaszension.

Weiterhin wurden durch lichtmikroskopische Untersuchungen mit Hilfe von Spezialfärbungen, detaillierte Informationen über den histologischen Aufbau der equinen Zervix, sowohl entlang der Longitudinal- als auch entlang der Horizontalachse gewonnen. Die Ergebnisse der Untersuchung sollen als Grundlage zur Erkennung und zum Verständnis der Pathohistologie dieses Organs dienen. Schwerpunkte lagen hierbei auf der Beurteilung des Zervikalepithels, der Gefäßstrukturen und der Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten und Mastzellen. Diesen beiden Zellpopulationen werden in neueren Untersuchungen des kaudalen Genitaltraktes eine spezifische Funktion innerhalb des Bindegewebsstoffwechsels und der lokalen Abwehr zugeschrieben.

5.1 Diskussion der mikrobiologischen Ergebnisse

5.1.1 Vergleich und Einordnung der Methode

Die Literatur der vergangenen Jahrzehnte weist ein Fülle von Angaben über die Keimflora des Reproduktionstraktes der Stute auf. Die nähere Analyse dieser Publikationen ergibt jedoch unterschiedliche Resultate, welche sich daraus erklären lassen, dass die zu Grunde liegenden Fragestellungen unterschiedlicher Natur waren. Ein Hauptproblem stellte dar, dass in den Probandenkollektiven keine ausreichende Unterscheidung zwischen infertilen und fertilen Stuten stattfand (Merkt und von Lepel, 1970; Ricketts, 1981; Tillmann et al., 1982). Dieses Defizit wurde bereits von Merkt et al. (1987), Hinrichs et al. (1988) und Schubert (1994) erkannt, wobei sie eine strenge Selektion unter klinischen Gesichtspunkten durchführten.

Daneben ist aber auch der Entnahmeort der bakteriologischen Proben in der Literatur sehr divergierend angegeben. In der überwiegenden Zahl der Fälle erfolgte die Probenentnahme aus dem zerviko-uterinen Abschnitt, wodurch kein differenzierter Rückschluss auf die bakterielle Besiedlung der jeweiligen Region möglich ist (Merkt et al., 1987; Schubert, 1994). Keine Beachtung fand die Zervix bei den Untersuchungen von Hinrichs et al. (1988). Diese Lokalisation ist in der eigenen Studie von besonderer Bedeutung.

Neben der Selektion gynäkologisch unauffälliger Stuten und der differenzierten Probenentnahme aus vier morphologisch-funktionell relevanten Regionen, war in der eigenen Untersuchung die komplexe Betrachtung aller isolierter Keimspezies, insbesondere der apathogenen Spezies, von großer Wichtigkeit. Mit Ausnahme von Ricketts (1981) gehen jedoch alle genannten Autoren nur auf eine kleine Gruppe von fakultativ pathogenen und obligat pathogenen Keimen ein, zu denen im Allgemeinen die β -haemolysierenden Streptokokken, *E.coli*, *E. coli* var. *haemolytica*, Klebsiellen, *Staph. aureus*, Pseudomonaden und einige Myceten gehören.

Diese aus der Literatur abzuleitenden Mängel hinsichtlich der eigenen Problemstellung führten dazu, dass vor Beginn der Untersuchung strenge

Prämissen erstellt wurden, um einen Überblick über die Keimflora im Genitaltrakt klinisch gesunder Stuten zu gewinnen und eine Beziehung der Bakterienarten zwischen den verschiedenen anatomischen Abschnitten herstellen zu können. Für die eigene Untersuchung wurden deshalb 20 lebende Stuten sowie 10 Stuten unmittelbar nach der Schlachtung ausgewählt, die sich als klinisch unauffällig und frei von Erkrankungen der Genitalorgane herausgestellt hatten. Zur Festlegung dieses Status diente bei den lebenden Tieren die rektale, sonographische und adspektorische vaginale Untersuchung, sowie die Beurteilung einer exfoliativen Endometriumszytologie. Bei den Schlachthofpräparaten erfolgte die Einstufung als geschlechtsgesund nach einer eingehenden makroskopischen Kontrolle des Reproduktionstraktes.

Sterile Tupferproben wurden aus den Lokalisationen Vestibulum, Vagina, Zervix und Uterus entnommen. Zur uterinen Probenentnahme diente ein geschlossenes Kathetersystem nach *Knudsen*, welches ein gedecktes Einführen des Tupferträgers und somit eine Vermeidung einer Kontamination ermöglichte. Eine vergleichbare Technik kam sonst nur bei Hinrichs et al. (1988) zum Einsatz.

5.1.2 Vergleich der *in vivo* und *post mortem* gewonnenen mikrobiologischen Ergebnisse

Neben Untersuchungen an lebenden Tieren liegen in der Literatur auch Studien vor, die auf Ergebnisse von post mortalen Präparaten basieren. Diese Arbeiten hatten das Ziel, die Keimflora der Reproduktionsorgane von gesunden Stuten zu ermitteln (Scott et al., 1971). Um die Vergleichbarkeit dieser Ergebnisse mit *in vivo* gewonnenen Werten zu überprüfen, wurden in der vorliegenden Untersuchung zwei Versuchsgruppen (*in vivo* und *post mortem*) gebildet. Die Probenentnahme bei den Schlachthofpräparaten erfolgte nach Längseröffnung der Genitalorgane unter sterilen Kautelen, um eine Kontamination des Tupferträgers bei der Passage des Genitalkanals zu vermeiden.

Es zeigte sich, dass bezüglich des Keimnachweises, der Ausprägung der mikrobiellen Besiedlung und der Analyse der Keimspezies im Detail nur wenige Übereinstimmungen zwischen der *in vivo* und *post mortem* isolierten Keimflora ermittelt werden konnten. Hinsichtlich eines positiven oder negativen bakteriellen Befundes manifestierten sich diese Unterschiede übereinstimmend mit den Angaben in der Literatur, vor allem in den kaudalen Regionen des Genitaltraktes. In einer Studie von Scott et al. (1971) an toten Stuten lag bei 95 % der Vaginalproben ein bakterielles Wachstum vor, während Hinrichs et al. (1988) an lebend beprobten Tieren an dieser Lokalisation nur in 42 % der Fälle ein mikrobielles Wachstum nachweisen konnte. Intrauterin war dagegen nur noch eine minimale Differenz von 33 % (Scott et al., 1971) zu 31 % (Hinrichs et al., 1988) zu verzeichnen. Diese Abweichung der Ergebnisse zwischen den beiden Versuchsgruppen kann in der eigenen Studie bestätigt werden, wobei *post mortem* die Vaginalproben in 90 %, *in vivo* dagegen nur in 30 % positiv ausfielen. Im Uterus lag die Nachweisinzidenz eines bakteriellen Wachstums übereinstimmend sowohl bei den toten als auch bei den lebenden Probanden bei jeweils 10 %. Deutlich wird schon an dieser Stelle, dass mikrobiologische Ergebnisse, die auf Untersuchungen von Stuten *post mortem* basieren, nur bedingt geeignet sind, um Rückschlüsse auf die *in vivo* existente Keimflora zuzulassen, was die eigenen Resultate deutlich bestätigen.

Auf Grund ihrer klinischen Relevanz schloss sich eine separate Auswertung der fakultativ pathogenen Erreger an, bei der sich ebenso auffällige Unterschiede zwischen den lebenden Stuten und den Tieren *post mortem* herausstellten. Besonders an den Lokalisationen Vagina und Zervix manifestierte sich eine starke Differenz der Werte, der Uterus dagegen offenbarte hinsichtlich der beiden Probandengruppen keine Unterschiede. Vergleiche mit der Literatur ergaben sich als nur partiell möglich, da dort keine einheitliche Differenzierung in apathogene und fakultativ pathogene Erreger erfolgt. Die exemplarische Betrachtung der β -hämolyisierenden Streptokokken, stellvertretend für die bedingt pathogenen Mikroorganismen des Pferdes, erwies sich jedoch zum Vergleich geeignet. Ermittelten Scott et al. (1971) an 100 Stuten nach der Schlachtung intravaginal in 88 % Fällen ein Wachstum dieses Keims, war dies bei Leidl et al. (1976) und

Schubert (1994) an lebenden Probanden nur in 20,4 % respektive 37,8 % möglich. Die Werte der eigenen Untersuchung fielen an dieser Lokalisation mit 50 % bei den post mortalen Entnahmen und 15 % bei den Stuten *in vivo* etwas geringer aus, verdeutlichen jedoch die Divergenz der beiden Gruppen. Übereinstimmend mit den Angaben in der Literatur, ergaben sich im Kompartiment Uterus nur geringfügige Unterschiede zwischen den Stuten *in vivo* und *post mortem* (Scott et al., 1971; Leidl et al., 1976; Schubert, 1994).

Diese Diskrepanz der Ergebnisse der beiden Gruppen spiegelt sich auch in der Intensität des mikrobiellen Wachstums, gemessen an der Isolatzahl und der Koloniezahl wider, was in dieser Studie erstmals bei der Stute Beachtung fand. Dagegen zeigte die Gegenüberstellung der beiden Probandengruppen hinsichtlich der Keimspezieszahl an den verschiedenen Lokalisationen nur geringe Unterschiede.

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es *post mortem* sehr schnell, kaudal beginnend, zu einer Verschiebung der Keimflora im Genitaltrakt kommt. Dabei lässt sich zum einen eine Erregerkontamination von Regionen ermitteln, die sich vorher als keimfrei erwiesen. Zum anderen kann eine Erhöhung der Bakteriendichte verzeichnet werden, die vermutlich auf Grund des kurzen Zeitintervalls zwischen Schlachtung und Probenentnahme von 20 Minuten eher auf einer Keimaszension als auf eine Keimreplikation zurückzuführen ist.

Untermauert wird diese These durch die Analyse der vorherrschenden Keimart an den verschiedenen Lokalisationen. Übereinstimmend mit Angaben in der Literatur ließen die Proben der Stuten nach der Schlachtung eine deutliche Dominanz von fakultativ pathogenen Keimarten, insbesondere der *Enterobacteriaceae*, erkennen. So repräsentierte *E. coli* bei diesen Tieren in der Vagina die häufigste (bei 80 % zu isolieren) und im Vestibulum und Zervix die zweithäufigste Spezies (bei 80 % beziehungsweise 40 % zu isolieren), wohingegen *E. coli* bei den lebenden Stuten nur eine untergeordnete Rolle spielte. Ähnlich hohe Werte ermittelten Scott et al. (1971) mit einer Detektionsrate von 81 % in der Vagina, 26 % in der Zervix und 12 % im Uterus von toten Tieren. Bei *in-vivo*-Studien dagegen ging die Nachweisinzidenz für *E. coli* nie über 11 % hinaus (Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1987; Hinrichs et al., 1988; Schubert, 1994).

Es kann daraus geschlossen werden, dass mikrobiologische Ergebnisse, die aus dem Genitaltrakt von Stuten *post mortem* gewonnen werden, nicht als Modell für die *in vivo* existente Keimflora geeignet sind. Insbesondere bei einer detaillierten Betrachtung im Rahmen von wissenschaftlichen Studien sollte beachtet werden, dass eine Relaxation der morphologischen Barrieren Vulva, Hymenalring und Zervix eine Erregeraszension und vor allem Kontamination mit Fäkalkeimen möglich machen. Letzteres erklärt den relativ hohen Anteil an *Enterobacteriaceae* in dieser Gruppe. Es sollte weiterhin bedacht werden, dass Pferde zum Entbluten mit den Hintergliedmaßen in eine erhöhte Position verbracht werden.

5.1.3 Unterschiede der Keimquantität im Verlauf des equinen Genitaltraktes

Auf Grund der geringen Aussagekraft *post mortem* entnommener Proben finden in der Fortsetzung der Diskussion nur noch die *in vivo* gewonnenen Werte Berücksichtigung.

Die Betrachtung der mikrobiologischen Resultate an den verschiedenen Lokalisationen anhand der fakultativ pathogenen Spezies dokumentierte eine progressive Reduktion der Keimbesiedlung von kaudal zum Uterus hin. Diese Aussage geht konform mit Feststellungen anderer Autoren (Leidl et al., 1976; Merkt et al., 1987; Schubert, 1994). Die größte Differenz war dabei am Übergang vom Vestibulum zur Vagina zu konstatieren. Hier verringerte sich in der eigenen Studie der Anteil der Stuten mit fakultativer Keimbesiedlung von 75 % auf 30 %. Deutliche Unterschiede notierten auch Leidl et al. (1976) mit 51,3 % bakteriologisch positiven Proben im Vestibulum und einer Reduktion auf 24,8 % in der Vagina, wobei jedoch nur fakultativ pathogene Spezies erfasst wurden. Bei Merkt et al. (1987) und Schubert (1994) wurde eine Abnahme von 56 % auf 11 % respektive 75,7 % auf 40,5 % am Übergang vom Vestibulum zur Vagina beschrieben. Im Vergleich dazu wiesen Stuten mit mangelhaftem Vulva- und Hymenalringschluss deutlich höhere Nachweisraten fakultativ pathogener Erreger sowohl intravaginal als auch in kranial anschließenden Kompartimenten auf, wie Schubert (1994) an 58 zur Vulva- und Vestibulumplastik anstehenden Stuten

ermitteln konnte. Diese Daten heben die große Bedeutung des intakten Hymenalarings als mikrobiologische Barriere hervor.

Unterstützt wird diese Aussage durch die Messung der Intensität der mikrobiellen Keimmanifestation im Verlauf des Genitaltraktes. Konnten aus Proben des Vestibulums noch 71 Isolate mit 10% hochgradiger bakterieller Ausprägung festgestellt werden, waren es in der Vagina nur noch 15 Isolate mit 7 % hochgradigem Keimgehalt. Deutlich geringer stellten sich die Unterschiede zu den anderen Lokalisationen dar.

Auch hinsichtlich der Diversität der Bakterienspezies ließ sich vergleichend im Vestibulum ein breites Keimspektrum ermitteln ($n = 14$ Spezies), während es sich in der Vagina deutlich einengte ($n = 9$ Spezies), aber zu Zervix und Uterus kaum noch Differenzen lieferte. Die Literatur enthält bezüglich dieser Ansatzpunkte beim Pferd keine Vergleichswerte.

Die mikrobiologischen Resultate bestätigen damit, dass der Hymenalarng die wichtigste mikrobiologische Barriere hinsichtlich der Keimquantität im Reproduktionstrakt der Stute darstellt.

5.1.4 Vergleich des Anteils fakultativer Keimspezies zur Gesamtspezieszahl

Neue Aspekte hinsichtlich der Effektivität der verschiedenen Verschluss- und Schutzmechanismen im Reproduktionstrakt lieferte die komparative Betrachtung des Anteils fakultativ pathogener Keimspezies zur Gesamtzahl der Bakterienarten an den verschiedenen Lokalisationen. Eine deutliche Verschiebung des Verhältnisses zu Gunsten der apathogenen Mikroorganismen kristallisierte sich entlang der caudo-kranialen Achse heraus. Lag der Anteil der bedingt pathogenen Keime in der *in-vivo*-Studie im Vestibulum noch bei 29 %, so betrug deren Anteil im Uterus nur noch 11 %. Der deutlichste Unterschied zeigte sich hierbei am Übergang von Vagina zur Zervix, wo sich der Anteil der fakultativ pathogenen Keime von 27 % auf 15 % reduzierte. Dies legt den hypothetischen Schluss nahe, dass die Zervix im Rahmen der Abwehrmechanismen des Genitaltraktes eine selektive mikrobiologische Barriere darstellt.

Diese Hypothese erklärt, warum die an das Pferd optimal angepassten β -hämolyisierenden Streptokokken in Vestibulum und Vagina zu den dominierenden Keimarten zählen, währenddessen es sich in der Zervix und dem Uterus ausschließlich um apathogene Arten, wie α - und γ -hämolyisierende Streptokokken, handelt. Für die Klärung des Mechanismus dieser Keimselektion sind mehrere Ansätze denkbar. So wird allgemein postuliert, dass sich Veränderungen des umgebenden Schleimhautmilieus in der lokalen Schleimhautflora widerspiegeln. Wehrend et al. (2003) konnten bei 50 Rindern im Diöstrus einen signifikant niedrigeren pH-Wert im *Canalis cervicalis* als in Vagina und Uterus nachweisen, welcher eine inhibitorische Wirkung auf bestimmte Erregerarten ausüben kann. Bakteriostatische Bestandteile des Zervikalmukus, wie das Lysozym und Laktoferrin, werden neben lokaler IgA-Sekretion ebenfalls diskutiert (Egger-Kruse, 1997). Über derartige Informationen bezüglich der equinen Zervix liegen noch keine Angaben vor.

5.1.5 Vergleich der zervikalen und uterinen Keimflora

Für die Diagnostik ist es bedeutend, dass nur in 10 % der Fälle die zervikale Keimflora der *in vivo* beprobten Stuten auch die uterine Situation reflektiert. Werte von Newcombe (1978), der eine Übereinstimmung der Keimflora des *Ostium externum* und des Uteruslumens von 46,2 % ermittelte, konnten nicht bestätigt werden. Daraus ergibt sich, dass im Rahmen der gynäkologischen Befunderhebung auf eine strikt uterine Probenentnahme zu achten ist, um eine antibiotische Behandlung, entsprechend der Leitsätze zum Einsatz von Antiinfektiva, keimspezifisch auszurichten (BTK und ArgeVET, 2000). Eine Voraussetzung für die exakte Entnahme der Tupferprobe aus dem Uterus ist die Verwendung eines geschlossenen Kathetersystems, das ein gedecktes Einführen des Trägers gewährleistet und eine Kontamination in kaudalen Abschnitten des Genitaltraktes ausschließt.

5.2 Diskussion der histologischen Ergebnisse

Für die histologische Auswertung standen Gewebeproben von zehn geschlechtsgesunden Stuten zur Verfügung, die aus fünf verschiedenen Regionen entlang der Längsachse der Zervix gewonnen wurden. Da die morphologische Grundlage der zervikalen Barrierefunktion beim Pferd bisher nicht genauer untersucht ist und in der Literatur nur wenige Angaben zur Gewebestruktur der equinen Zervix vorliegen, wurden im ersten Teil der Untersuchung das Epithel und die vaskulären Komponenten morphometrisch, unter Berücksichtigung lokaler Unterschiede, erfasst. Zur weiteren Charakterisierung erfolgte mit Hilfe selektiver lichtmikroskopischer Färbetechniken eine besondere Untersuchung der Verteilung gewebeständiger eosinophiler Granulozyten und Mastzellen. Spezielle Beachtung fanden dabei die regionalen Unterschiede sowohl entlang der zervikalen Längsachse als auch entlang der horizontalen Achse. Neuere Untersuchungen konnten eine spezifische Verteilung dieser Zellpopulationen im Bindegewebe des Genitaltrakt verschiedener Spezies nachweisen, wobei deren Bedeutung bisher nicht geklärt ist (Luque et al., 1997; Reibiger und Spanel-Borowski, 2000; Wehrend et al., 2002).

5.2.1 Das Zervikalepithel der Stute

Übereinstimmend mit den Angaben in der Literatur stellt sich das Zervikalepithel als einschichtig, aus hochprismatischen Zellen bestehend, heraus, welches allerdings gelegentlich mehrreihige Formen annimmt (Röber, 1914; Leiser, 1990). Die von diesen Autoren beschriebene partielle Mehrschichtigkeit des Epithels kann jedoch nie beobachtet werden, da ein Kontakt der Epithelzellen zur Basalmembran immer zu erkennen ist. Lediglich bei Schnitten, die eine relativ hohe Gewebsdicke aufweisen, hat es den Anschein, dass durch Übereinanderprojektion mehrerer Gewebeschichten dieser Kontakt verloren geht. Die bereits makroskopisch sichtbaren Primärfalten verzweigen sich in Sekundär- und Tertiärfalten. Im Bereich der Faltenkämme weisen die Epithelzellen eine

überwiegend schlanke, hohe Zellform auf. Die Zellen im Faltenantal zeigen dagegen eine signifikant niedrigere Höhe, eine zumeist plumpe, rundliche Gestalt mit zum Teil vakuolig aufgetriebenen Zellkörpern und hellem Zytoplasma. Diese Unterschiede in der Zellmorphologie an den verschiedenen Lokalisationen des Epithels lassen, ähnlich den Beschreibungen Wrobels (1971) des Zervikalepithels des Rindes, unterschiedliche Funktionen der einzelnen Zelltypen annehmen. Die partiell vakuolig aufgetriebene Form der Zellen im Faltenantal und das helle Zytoplasma legen die Vermutung nahe, dass im basalen Teil der Schleimhautfalten die Mukusproduktion stattfindet. Die seltener aufzufindenden kleinen, rundlichen Zellen, die das Zervikallumen nicht erreichen, können den von Wrobel (1971) beim Rind beschriebenen juvenilen Basalzellen entsprechen, welche Regenerationsfunktion übernehmen. Regionale Unterschiede entlang der Längsachse ergeben sich hinsichtlich der Zellhöhe, wobei die Epithelzellen die Tendenz haben, zum *Ostium uteri internum* hin von durchschnittlich 18,5 auf 16,5 µm an Höhe zu verlieren.

Die Beobachtungen Seiferles (1933), nach der das Zervikalepithel des Pferdes an einigen Stellen einen „flimmerähnlichen Belag“ aufweist, können anhand der eigenen Ergebnisse bestätigt und erweitert werden: Das Schleimhautepithel der equinen Zervix lässt, analog zum Rind, bei einem Großteil der Zellen regelmäßig, deutlich ausgeprägte Kinozilien erkennen, die sowohl im Bereich der Schleimhautfaltenkämme als auch –täler anzutreffen sind. Solche Zellfortsätze sind beim Pferd bisher nicht in der Literatur beschrieben und dienen vermutlich der Unterstützung des nach kaudal gerichteten Sekretflusses.

5.2.2 Die vaskulären Strukturen der equinen Zervix

Basal des Zervikalepithels schließt sich eine breite *Tela submucosa* an, die eine ausgeprägte Gefäßversorgung besitzt. Übereinstimmend mit den Angaben in der Literatur ist eine starke Ausprägung der vaskulären Strukturen vor allem in den tiefen Schichten der *Tela submucosa*, zirka 100 µm unterhalb des Epithels, zu verifizieren (Schmalz, 1911; Röber, 1914; Priedkalns, 1987; Leiser, 1990). Die

hohe Zahl an längs verlaufenden Venen und Venolen, die in der Tiefe der *Tela submucosa* eine signifikant höhere Zahl als in den anderen Gewebeschichten aufweist, rechtfertigt die Bezeichnung als Venenplexus. Entlang der Logitudinalachse der Zervix lassen sich bezüglich der Gefäßzahl keine Unterschiede verifizieren. Die Funktion des Venenplexus, der sonst nur in der Zervix des Hundes beschrieben wird, ist unklar (Priedkalns, 1987; Leiser, 1990). Denkbar wäre, dass eine solch ausgedehnte Vaskularisierung eine starke Durchblutung des Organs ermöglicht, um so mittels zellulärer und humoraler Komponenten eine rasche Reaktion auf Noxen zu gewährleisten. Hypothetisch kann ebenso in Betracht gezogen werden, dass dieser Venenplexus als ein Schwellkörper fungiert und so den Verschlussmechanismus des Zervikalkanals unterstützt. Für diese These spricht insbesondere das Fehlen sonstiger spezieller Verschlussvorrichtungen beim Pferd, wie etwa beim Rind in Form der *Plicae circulares* oder beim Schwein der *Pulvini cervicales* (Seiferle, 1933). Zusätzlich weist die Zervix des Pferdes mit 5 bis 7,5 cm, im Vergleich zum Rind mit 10 bis 15 cm, nur eine sehr geringe Länge auf (Getty, 1975, Leiser, 1999). Eine ähnlich geringe Ausdehnung in der Längsachse der Zervix liegt auch beim Hund vor, so dass in beiden Fällen ein zusätzlicher Verschlussmechanismus als sinnvoll erachtet werden könnte (Leiser, 1999).

5.2.3 Die eosinophilen Granulozyten der equinen Zervix

Um die funktionelle Histologie der equinen Zervix weiter differenzieren zu können, muss neben dem zum Zervikallumen abgegrenzten Epithel und den vaskulären Komponenten, auch den gewebeständigen Abwehrzellen Beachtung geschenkt werden.

Zur selektiven Darstellung der eosinophilen Granulozyten im Gewebe sind in der Literatur verschiedene Färbemethoden beschrieben, die auf der Anfärbbarkeit der Granula beruhen. Siriusred ist als lichtmikroskopische Färbetechnik bei der Ratte und dem Rind etabliert und konnte auch in der vorliegenden Untersuchung erfolgreich eingesetzt werden (Luque et al., 1998; Reibiger und Spanel-Borowski,

2000). Die im Durchmesser ein bis zwei μm großen Granula stellen sich in einem leuchtenden Rot dar. Anhand der typischen Zellmorphologie und Vergleichen mit der Hämatoxilin-Eosin-Färbung zeigt sich, dass diese Färbetechnik sehr gut geeignet ist, die eosinophilen Granulozyten beim Pferd zu differenzieren. Eine Alternative stellt die Immunhistologie dar, die jedoch weitaus kosten- und zeitintensiver ist.

Eine Infiltration des Zervikalgewebes mit eosinophilen Granulozyten lässt sich bei allen untersuchten Stuten feststellen. Diese Zellpopulation ist zwar durchschnittlich nur mit einer geringen Zahl pro mm^2 aber doch regelmäßig vertreten. Die Einzeltiere weisen starke individuelle Unterschiede auf, welches sich in einem hohen Streufaktor widerspiegelt. Die Aufgabe der eosinophilen Granulozyten wird im allgemeinen neben der Abwehr von parasitären Infektionen und Beteiligung an allergischen Erkrankungen in der Immunmodulation und Regulation von akuten Entzündungsreaktionen gesehen. Diese regulierende Funktion wird über die Freisetzung von Mediatoren zur Leukozytenrekrutierung und über eine Interaktion mit den Mastzellen des Bindegewebes vermittelt. So verfügen die eosinophilen Granulozyten über die Fähigkeit, aus den Mastzellen stammende Entzündungsmediatoren, allen voran Histamin, durch Phagozytose enzymatisch oder andere lokal wirksame Substanzen zu deaktivieren und deren Wiederaufnahme in die Mastzelle zu inhibieren (Jain, 1993).

In der Literatur liegen fast keine Studien über die Verteilung eosinophiler Granulozyten in der Zervix von ingraviden Tieren vor. Nur Wrobel (1971) postuliert anhand Untersuchungen des Rindes, dass diese Zellen bei Tieren, bei denen keine Gravidität vorliegt, nicht nachzuweisen sind. Auch Luque et al. (1989) gelingt es nicht, bei ingraviden Ratten diese Zellpopulation zu ermitteln. Anders verhält sich die Situation bei Tieren *ante-* und *intra partum*. Bei der Ratte und dem Rind zeigt sich eine massive Infiltration des Zervikalgewebes mit eosinophilen Granulozyten (Luque et al. 1998, Wehrend, 2002).

Als die signifikant zellreichste Schicht stellen sich in der eigenen Untersuchung die Bereiche der *Tela submucosa* bis 100 μm unterhalb des Epithels heraus. In dieser

Schicht sind bereits bei Röber (1914) an Studien der equinen Zervix Zellanhäufungen beschrieben, die jedoch nicht weiter differenziert werden. Hohe Zellzahlen zeigen sich ebenfalls im Bereich des Venenplexus in der Tiefe *der Tela submucosa*, wo die eosinophilen Granulozyten vor allem unmittelbar perivaskulär und intravaskulär angetroffen werden. Eine ähnliche Situation dokumentieren Luque et al. (1989) bei der Ratte *intra partum*, die hieraus eine aktuelle Rekrutierung der Zellen aus dem Gefäßsystem ableiten. Übereinstimmend mit den Tierarten Ratte, Maus und Rind stellt sich also auch beim Pferd die *Tela submucosa* als die Gewebeschicht mit der höchsten Dichte an eosinophilen Granulozyten dar (Luque et al. 1989; Robertson et al., 2000; Wehrend et al., 2002). Im Epithel und der *Tunica muscularis* dagegen gelingt es, nur geringe Zellzahlen zu ermitteln.

Im Gegensatz zu den ausgeprägten Zellzahlunterschieden innerhalb der horizontal verlaufenden Gewebeschichten, ergeben sich innerhalb der Longitudinalachse der Zervix kaum Differenzen zwischen den ermittelten Werten. Lediglich der kaudalste Abschnitt der Zervix, der in die Vagina protruiert, sticht durch geringgradig höhere Zellzahlen hervor. Bei allen untersuchten Proben konnte sowohl in Folge des Fehlens makroskopischer Entzündungsanzeichen als auch auf Grund der mikrobiologischen Untersuchung eine bakterielle Infektion ausgeschlossen werden, so dass die Zellinfiltration nicht auf einen entzündlichen Prozess zurückgeführt werden kann.

Diese Befunde legen den Schluss nahe, dass die eosinophilen Granulozyten in der equinen Zervix, im Gegensatz zur Ratte und dem Rind, Bestandteil der physiologisch ansässigen zellulären Komponenten im zervikalen Bindegewebe darstellen und ihnen in dieser exponierten Lage eine besondere Funktion zukommt.

Anlässlich der hohen individuellen Schwankungen der Zellzahl pro Einzeltier wurde noch einmal eine genaue Analyse des Patientengutes vorgenommen. Hierbei zeigte sich, dass sich abhängig vom Zyklusstand Unterschiede in der Zellzahl ergeben. Bereits in der Literatur berichten einige Autoren von einem

Einfluss des Zyklus auf die Zahl der eosinophilen Granulozyten im Genitaltrakt verschiedener Tiere. Im vorliegenden Material wurde nur anhand makroskopischer Ovarbefunde eine Zyklusbeurteilung vorgenommen. Es zeigt sich jedoch auch hier im Östrus eine deutliche Erhöhung der Zahl an eosinophilen Granulozyten, die sich vor allem in den oberflächlichen Gewebeschichten manifestiert. Dieser Unterschied erweist sich zwar als nicht signifikant, es ist aber zu vermuten, dass dieses Ziel durch eine Erhöhung der Probandenzahl in Folgestudien, unter Berücksichtigung des hormonellen Status, realisiert werden kann. Vergleichbare Daten in der Literatur stehen nicht zur Verfügung. Katila (1988) verzeichnet jedoch, analog zur Zervix, in den oberflächlichen Gewebeschichten des Endometriums der Stute, parallel zur fortschreitenden Follikelentwicklung, eine zunehmende Zahl an eosinophilen Granulozyten. Im Zervikalgewebe der Ratte stellten Luque et al. (1996 und 1998) fest, dass es unter dem Einfluss von Estradiol -17 β *intra partum* zu einer Invasion mit Eosinophilen kommt. Östrogene scheinen also die Migration der eosinophilen Granulozyten zu beeinflussen. Vermittelt wird dieser Einfluss vermutlich über Östrogenrezeptoren dieser Zellen, die beim Mensch und der Ratte bereits nachgewiesen wurden (Beeson und Bass, 1977).

Die Funktion der eosinophilen Granulozyten in der Lokalisation Zervix ist bisher nicht geklärt. Im Reproduktionstrakt kann bei verschiedenen Tierarten ein Influx von eosinophilen Granulozyten unter der Geburt gezeigt werden, wobei ein positiver Effekt von peripheren Östrogenen auf die Zellzahl vermutet wird. Als mögliche Funktion in der Zervix steht deshalb die Beteiligung an Um- und Abbauprozessen des Bindegewebes zur Diskussion. So konnte bei der Ratte, der Maus und beim Rind *intra partum* eine massive Infiltration mit eosinophilen Granulozyten beobachtet werden, welche zeitgleich zum Anstieg der Kollagenolyse in der Zervix auftrat (Luque und Montes, 1989; Luque et al., 1997; Robertson et al., 2000; Wehrend, 2002). Umbauprozesse auf histologischer Ebene, wenngleich auch in einem deutlich geringeren Maß, laufen in der Zervix auch während der verschiedenen Zyklusphasen ab. Die biologische Funktion dieser Umbauvorgänge liegt in den unterschiedlichen Anforderungen an die Zervix

begründet. Während des Östrus muss eine Passage des Spermas durch den relaxierten Zervikalkanal gewährleistet sein, im Diöstrus dagegen ein potenziell vorhandener Konzeptus durch einen festen Schluss der Zervix geschützt werden. So werden die Kollagenbündel im Östrus durch größere Zwischenräume getrennt und das Trockengewicht der Zervix reduziert sich (Harkness und Harkness, 1959). Makroskopisch stellen sich diese Veränderungen beim Pferd so dar, dass die Zervix im Östrus durch eine Ödematisierung an Durchmesser zunimmt, auf den Vaginalboden absinkt und eine abgeflachte Form aufweist (Andrews und McKenzie, 1941). Sonographisch zeigt die Zervix zu diesem Zeitpunkt eine homogene Hypoechogenität (Day et al., 1995).

Neben der Beeinflussung der Gewebearchitektur wird als weitere Funktion der eosinophilen Granulozyten eine Beteiligung an der zellulären Abwehr und Modulation von Entzündungsreaktionen diskutiert. Angesichts ihrer exponierten Lage im Bereich der *Tela submucosa* ist eine schnelle Reaktion auf Noxen von außen ermöglicht. Die Zellen besitzen in Folge ihrer chemischen Ausstattung eine geringere Effektivität in der Zerstörung von Bakterien im Vergleich zu neutrophilen Granulozyten, aber dennoch sprechen viele Indizien für diese These. So gelang es Saltiel et al. (1987) sowohl in der Zervix als auch im Uterus des Pferdes eine Abnahme der eosinophilen Granulozyten korrelierend zur Bakterienzahl *post partum* nachzuweisen. Für diesen Ansatz spricht ebenso, dass in der eigenen Studie in den kaudalen Abschnitten der Zervix, in denen eine höhere Exposition mit antigenetischem Material vorliegt, mehr Zellen dieses Typs ermittelt wurden. Auch im Östrus, während der Öffnungsphase der Zervix, liegt eine erhöhte Gefahr der Keimaszension vor, weswegen die uterinen Abwehrmechanismen bei der Stute während dieses Zyklusstadiums stärker ausgeprägt sind. Dies scheint auch auf die Zervix übertragbar.

Während die aktive phagozytotische Funktion der eosinophilen Granulozyten in dieser Lokalisation sicher erst an zweiter Stelle steht, ist ihre immunmodulatorische Funktion und die Regulation von akuten Entzündungsreaktionen in den Vordergrund zu stellen. Diese regulierende Funktion wird über die Freisetzung von Mediatoren zur Leukozytenrekrutierung

und über eine Interaktion mit den Mastzellen des Bindegewebes vermittelt (Jain, 1993).

5.2.4 Die Mastzellen der equinen Zervix

Mastzellen wurden in der vorliegenden Arbeit mit Toluidinblau selektiv angefärbt. Toluidinblau ist eine etablierte Färbemethode für die Tierarten Rind, Schwein und Pferd und ermöglicht bei allen Tieren der eigenen Studie eine deutliche metachromatische Anfärbung der Mastzellgranula, die auf ihren Gehalt an sulfatierten Glykosaminoglycanen, Heparin, Chondroitin- und Dermatansulfat zurückzuführen ist (Jain, 1993; Vodenicharov et al., 1995; Galeotti et al., 1997; Welle et al., 1997). Vorteil dieser Färbetechnik gegenüber der auf den Tryptase- oder Chymasenachweis basierenden Immunhistologie ist, dass nicht alle Subpopulationen der Mastzelle eine Aktivität dieser Enzyme aufweisen und so bei letztgenannter Methode die Zellzahl fälschlicherweise zu gering geschätzt werden kann. Bei histologischen Studien des Endometriums der Stute wurden bereits Mastzellpopulationen beschrieben, die weder Tryptase noch Chymase aufweisen (Welle et al., 1997). Untersuchungen humaner Endometriumsproben dagegen zeigten bei der Spezies Mensch eine höhere Sensivität der Immunhistologie (Jeziorska et al., 1995). Ausgeschlossen werden kann dennoch auch bei der hier verwendeten Färbemethode nicht, dass durch eine vollständige Entspeicherung der Granula Zellen nicht erfasst wurden.

Die Mastzellen als typische Bestandteile des Bindegewebes spielen rein quantitativ gegenüber den eosinophilen Granulozyten eine übergeordnete Rolle und sind mit einer größeren Regelmäßigkeit zu detektieren. So kann für die Mastzellen in der equinen Zervix eine Gesamtdichte von 0,86 Zellen pro mm² (SF 5,0) ermittelt werden, für die eosinophilen Granulozyten dagegen nur eine Dichte von 0,37 Zellen pro mm² (SF 4,4). Übereinstimmend mit Angaben in der Literatur, stellt sich auch bei der Stute die *Tela submucosa* als die signifikant zellreichste Schicht heraus, wobei die oberflächlichen Gewebebereiche dem Areal des tiefer gelegenen Venenplexus überlegen sind. Wrobel (1971) belegte anhand von

Studien beim Rind, dass sich die meisten Mastzellen im bindegewebigen Stroma der Primärfalten aufhalten. Entsprechend zur Zervix ist auch im Uterus von Rindern und Schweinen die höchste Zelldichte direkt subepithelial und in der Nähe von Blutgefäßen zu ermitteln, wobei die bei der Sau quantifizierten Werte in der Größenordnung denen der equinen Zervix entsprechen (Galeotti et al., 1997; Kaeoket et al., 2001). Diese Nähe zu den Blutgefäßen, die auch in den eigenen Untersuchungen beobachtet wird, resultiert vermutlich daraus, dass die Mastzellen auf hämatologischem Weg ihren Bestimmungsort erreichen. Intravasal konnten dennoch keine Mastzellen dargestellt werden, was auf eine mangelnde Anfärbarkeit der juvenilen Stadien oder die nur kurze Verweildauer dieser Zellen im Blut zurückgeführt werden kann. Die *Tunica muscularis* der Stute weist, analog zu Beobachtungen beim Rind (Wrobel, 1971), eine signifikant geringere Mastzellaktivität auf. Keine Mastzellen sind hingegen im Epithel nachzuweisen. Während die unterschiedlichen horizontal verlaufenden Gewebeschichten starke Zellzahlunterschiede zeigen, sind die Mastzellen entlang der Longitudinalachse der Zervix weitestgehend homogen verteilt. Eine Ausnahme bilden die beiden am weitesten kaudal zur Vagina hin angrenzenden Sektionen der Zervix, die geringfügig höhere Werte aufweisen.

Unterschiede zu Angaben beim Rind ergeben sich bei der differenzierten Betrachtung der verschiedenen Zyklusstadien. Während Wrobel (1971) maximale Werte der Mastzellen im Diöstrus ermittelt, so sind bei der Stute kaum Zyklusunterschiede zu verifizieren, mit jedoch geringgradig höheren Werten im Östrus. Wrobel (1971) vermutet als Grund für die fehlende Anfärbarkeit der Mastzellen im Östrus eine Entspeicherung der Granula. Somit ist eine Vergleichbarkeit der Daten nur schwer möglich. Eine Anfärbarkeit der equinen Mastzellen ist dagegen zu jedem Zyklusstadium möglich, wenngleich auch bei einigen Tieren Unterschiede in der Farbintensität und Dichte der Granula bestehen. Dies lässt auf eine höhere Sensivität der eigenen Methode schließen. Ein zyklischer Einfluss, vergleichbar mit dem der Stute, ergibt sich im Uterus des Schweins (Kaeoket et al., 2001). Auch hier nehmen die Mastzellen im Östrus Maximalwerte an.

Die leicht erhöhte Infiltration mit Mastzellen im Östrus konzentrierte sich vor allem auf die subepithelialen Schichten. Es handelt sich dabei zum einen vermutlich um eine absolute Zellzahlerhöhung durch eine Rekrutierung aus dem Blut, zum anderen aber auch um eine Umverteilung innerhalb des Zervikalgewebes. Die Beobachtung der Zellzahlabnahme in der *Tunica muscularis* während des Östrus lässt auf eine Mobilisierung von Mastzellen aus dieser Schicht und eine Akkumulation in oberflächlicheren Gewebelagen schließen.

Mastzellen produzieren ein breites Spektrum an multifunktionellen Zytokinen, mit denen sie viele physiologische, immunologische und pathologische Prozesse beeinflussen können. Zu diesen Zytokinen gehören neben zahlreichen Substanzen, die die Blutgefäßweite und -permeabilität, den Muskeltonus der glatten Muskulatur und die Blutgerinnung beeinflussen, auch der ECF-A (Eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis) und Arachidonsäuremetaboliten, die zu einer Chemotaxis von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten in das betroffene Gewebe führen (Jain, 1993, Bradding et al., 1995; He et al., 1997). Es überrascht also nicht, dass in der vorliegenden Studie parallel zur Akkumulation von Mastzellen in den subepithelialen Gewebeschichten auch ein Influx von eosinophilen Granulozyten beobachtet werden kann. Zusätzlich zur Zellrekrutierung führt die Mastzellaktivierung über Substanzen wie Histamin, *Slow-reacting substance of anaphylaxis* und Serotonin, zu einer verstärkten Durchblutung und Permeation von Flüssigkeit in das infiltrierte Areal. Nach Bindung von Antikörpern an die Oberflächenrezeptoren der Mastzelle und Degranulation wird so eine erhöhte Reaktionsbereitschaft des Gewebes auf potenziell infektiöse Agenzien erreicht (Jain, 1993; Bradding et al., 1995).

Als eine wichtige Aufgabe der Mastzellen in der equinen Zervix ist somit die immunologische Abwehr zu sehen. Unterstützt wird diese Hypothese von der eigenen Beobachtung der Zellagglomeration in der Region des *Ostium externum*, wengleich auch die Zellzahlen entlang der caudo-kranialen Achse keine statistisch signifikanten Differenzen aufweisen. Wie die vorangegangenen mikrobiologischen Untersuchungen gezeigt haben, ist die Keimexposition an dieser Stelle, am Übergang zur Vagina, deutlich höher als im Bereich des Uterus.

Auch in Studien am Rind konnte belegt werden, dass bei juvenilen Tieren, bei denen es noch zu keiner Antigenexposition im Genitaltrakt gekommen ist, die Mastzellzahlen deutlich unter denen adulter Tiere lagen (Wrobel, 1971; Galeotti et al., 1997). Ob jedoch die Mastzellen oder die eosinophilen Granulozyten für die selektive Elimination der fakultativen Keimspezies, die im ersten Teil der Studie ermittelt wurde, verantwortlich sind, bleibt unklar. Weitergehende Untersuchungen anderer Zellpopulationen sind notwendig, um ein vollständiges Bild der lokalen zellulären Abwehr in der equinen Zervix zu erhalten.

Neben der immunmodulatorischen Funktion, sind Mastzellen auf Grund ihrer chemischen Ausstattung ebenso befähigt, über eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Ödembildung, aber auch durch Auflockerung des Kollagenfasernetzwerkes und verstärkte Synthese der Bindegewebmatrix, die Gewebetextur zu beeinflussen (Jeziorska et al., 1995). Letzteres wird über die intrazellulären Enzyme und Fibroblastenstimulation vermittelt (Cairns et al., 1997). Zyklischen Veränderungen, die bei der equinen Zervix mit periodischer Alternation von Ödematisierung der *Tunica mucosa*, Zunahme des Durchmessers und Formveränderung einhergehen, können so durchaus mit der wechselnden Mastzellzahl und –aktivierung innerhalb des Zyklus in Verbindung gebracht werden. Die Beziehung von Mastzellzahldichte, Ödematisierung und Gewebeumbau wurde bereits bei Studien des humanen Endometriums beschrieben (Jeziorska et al., 1995). Auch beim Hamster kann unter dem Einfluss des LH-Peaks eine Degranulation und Freisetzung von Histamin der Mastzellen im Ovar beobachtet werden (Krishna et al., 1985). Neben einer Aktivierung der Mastzellen auf endokrinologischem Weg werden in neuerer Literatur synapsenartige Verbindungen der Mastzellen zu Nervenfasern diskutiert, wobei es nach einer Membrandepolarisation zu einer Degranulation der Zellen kommt (Reibiger und Spänel-Borowski, 2000). Die Mastzellen stellen somit ein Bindeglied zwischen dem vegetativen Nervensystem und dem Bindegewebsstoffwechsel dar. Adrenerge und peptiderge Nervenfasern wurden von Bae et al. (2001) bereits in der equinen Zervix parallel zu den Blutgefäßen verlaufend immunhistologisch differenziert. Der Nachweis einer Verbindung beider Komponenten in der Zervix,

wie es in der Haut und im Gastrointestinaltrakt bereits geschehen ist, steht jedoch noch aus (Mc Kay et al., 1994; Botchkarev et al., 1997).

5.2.5 Zusammenfassende Schlußbetrachtung

Die vorliegende Arbeit bietet einen Einblick in Funktion und Aufbau der equinen Zervix, zeigt jedoch auch die Komplexität des zervikalen Verschlusssystems, welches weiterer Untersuchungen bedarf, um alle Vorgänge ineinander greifender Mechanismen in Zyklusabhängigkeit verstehen zu können. Insbesondere sollte die Verteilung der eosinophilen Granulozyten und Mastzellen, vorwiegend in den subepithelialen Gewebeschichten der Zervix, deren funktionelle Bedeutung im Bereich der immunologischen Abwehr und zyklusgesteuerten Alteration der Gewebetextur anzusiedeln ist, beachtet werden. Es ergibt sich daraus, dass eine verstärkte Infiltration dieser Zellen in andere Gewebeschichten, speziell der *Tunica muscularis* oder des Epithels, als pathologisch zu beurteilen ist.

Neben den zahlreichen Klassifizierungskriterien der Histologie und Zytologie des equinen Uterus, ist mit dieser Arbeit zukünftig eine Basis für die Beurteilung der Zervix gegeben. Eine praktische Umsetzung kann bei der Auswertung von exfoliativen Zytologien der Zervix zur Aufdeckung entzündlicher Prozesse erreicht werden. Weitergehende Untersuchungen an inflammatorisch veränderten Organen können zusätzliche Erkenntnisse über die Pathohistologie der Zervix, insbesondere auf zellulärer Ebene bringen.

6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit dient der histomorphologischen Erfassung der equinen Zervix unter funktionellen Aspekten. Die strukturelle Charakterisierung der Zervix wurde als Grundlage für das Verständnis der physiologischen Abläufe und der Pathohistologie dieses Organs erarbeitet.

In einem vorgeschalteten Schritt wurde mit Hilfe mikrobiologischer Studien der allgemeine bakterielle Status in den unterschiedlichen Abschnitten des Reproduktionstraktes der Stute verifiziert, um Rückschlüsse auf die Effektivität verschiedener Verschluss- und Schutzvorrichtungen, insbesondere der Zervix, zuzulassen.

Für die mikrobiologischen Untersuchungen standen 30 klinisch unauffällige und genital gesunde Stuten zur Verfügung, wobei es sich um 20 lebende Stuten aus dem Patientengut der Klinik (Gruppe 1) und zehn Stuten unmittelbar nach der Schlachtung (Gruppe 2) handelte, deren Zervices nachfolgend für die histologische Untersuchung verwendet wurden. Unter Berücksichtigung der in der Literatur beschriebenen anatomischen Barrieren erfolgte die Tupferprobenentnahme bei jeder Stute aus den Lokalisationen Vestibulum, Vagina, Zervix und Uterus.

Hinsichtlich des Keimnachweises, der Ausprägung der mikrobiellen Besiedlung, der Keimspezieszahl und der Analyse der verschiedenen Keimspezies, bestand nur wenig Übereinstimmung zwischen der *in vivo* und *post mortem* isolierten Keimflora. Ältere Literaturangaben zur bakteriellen Besiedlung, die auf der Grundlage von *post mortem* gewonnenen Tupferproben basieren, eignen sich daher nicht als Modell für die *in vivo* existente Keimflora.

Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der bakteriologisch positiven Befunde, der Intensität der bakteriellen Manifestation und der Erregerartenzahl im Verlauf des weiblichen Genitaltraktes von kaudal zum Uterus hin ($p < 0,05$). Die stärkste quantitative Reduktion ließ sich hierbei am Übergang vom Vestibulum zur Vagina konstatieren. Diese mikrobiologischen Resultate bestätigen damit, dass der

Hymenalring im Reproduktionstrakt die wichtigste mikrobiologische Barriere hinsichtlich der Keimquantität darstellt.

Bemerkenswert ist jedoch das errechnete Zahlenverhältnis der fakultativ pathogenen zu den apathogenen Keimarten, wobei die fakultativen Keimarten entlang der caudo-kranialen Achse des Reproduktionsapparates proportional stärker abnimmt. Die deutlichste Verschiebung zu den apathogenen Spezies zeigte sich am Übergang von Vagina zur Zervix. Lag der Anteil fakultativ pathogener Keime intravaginal noch bei 23 %, so betrug deren Anteil in der Zervix nur noch 14 %. Hinsichtlich der selektiven Elimination der fakultativ pathogenen Mikroorganismen muss der Zervix also eine größere Bedeutung als dem Hymenalring zugesprochen werden. Bestätigt wird diese Hypothese durch die Analyse der regional vorherrschenden Keime, bei der die Proben des Vestibulums und der Vagina eine Dominanz fakultativ pathogener Erreger, insbesondere der β -hämolyisierenden Streptokokken ergaben, es sich in der Zervix und intrauterin hingegen überwiegend um apathogene Spezies handelt.

Für die histologischen Untersuchungen wurden aus fünf verschiedenen Regionen entlang der Longitudinalachse von zehn Zervices Gewebeproben entnommen. Zur selektiven Darstellung der Zellpopulationen und des Bindegewebes kam als Färbelösung Hämatoxilin-Eosin, Siriusred, Toluidinblau und Azan nach Heidenhain zum Einsatz.

Es zeigt sich, dass sich das Zervikalepithel der Stute durch eine Variabilität der Zellhöhe auszeichnet, wobei die größten Werte mit $19,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$ im apikalen Teil der Schleimhautfalten verzeichnet werden. Unterschiede in der Zellmorphologie lassen auf differente Funktionen schließen. Die freie Zellmembran weist, entgegen Angaben in der Literatur, einen deutlich erkennbaren Ziliensaum entlang des gesamten *Canalis cervicalis* auf.

Die tiefen Schichten der *Tela submucosa* verfügen über eine starke Vaskularisierung, welche signifikant höher als in den übrigen Gewebeschichten ist.

Die Gefäßzahl liegt hier bei $46,3 \pm 25,1$ Gefäßen pro mm^2 , im Vergleich zu $9,8 \pm 7,8$ Gefäßen pro mm^2 in der *Tunica muscularis*. Die Funktion dieses Venenplexus ist noch unklar. Angenommen wird eine Unterstützung der Verschlussfunktion des Zervikalkanals in Form eines Schwellkörpers.

Mit Hilfe der Siriusred-Färbung, die bis dato nicht beim Pferd etabliert ist, gelingt eine sehr gute Darstellung der equinen eosinophilen Granulozyten. Die Toluidinblau-Färbung weist in der vorliegenden Studie eine gute Sensivität in der Detektion von zervikalen Mastzellen auf.

Auffallend zellreich stellt sich die *Tela submucosa* bezüglich beider Zellpopulationen heraus. Die signifikant höchste Zelldichte liegt mit 2,4 (SF 6,8) eosinophilen Granulozyten und 2,0 (SF 7,2) Mastzellen pro mm^2 im Bereich bis 100 μm unterhalb des Epithels ($p \leq 0,001$). In der *Tunica muscularis* und dem *Epithelium mucosae* dagegen, können beide Zellpopulationen nur vereinzelt detektiert werden. Ein Nachweis der Mastzellen intraepithelial ist nicht möglich. Eosinophile Granulozyten und Mastzellen zeigen entlang der Längsachse der Zervix eine weitgehend homogene Verteilung, mit einer leicht abnehmenden Tendenz zum Uterus hin. Hohe individuelle Schwankungen spiegeln sich im Streufaktor wider.

Im Östrus kann eine verstärkte Infiltration des Gewebes mit eosinophilen Granulozyten beobachtet werden, wobei vor allem die oberflächlicheren Gewebeschichten involviert sind. In der *Tela submucosa* liegt die Zellzahl zu diesem Zeitpunkt bei 5,9 pro mm^2 (SF 5,3). Der Unterschied zum Diöstrus erweist sich jedoch als knapp nicht signifikant. Weitere Studien mit einer höheren Probandenzahl können bezüglich dieser Fragestellung Klarheit verschaffen.

Die funktionelle Bedeutung beider Zellpopulationen werden im Bereich der immunologischen Abwehr und zyklusgesteuerten Alteration der Gewebetextur gesehen, wobei eine Interaktion zwischen den eosinophilen Granulozyten und den Mastzellen vermutet wird.

7. Summary

Functional and morphological studies on the equine cervix in the stage of non-pregnancy

The aim of the present study is the histomorphological assessment of the equine cervix under functional aspects. The structural characterisation of the cervix was elaborated, providing a basis for the comprehension of the physiological processes and the pathohistology of this organ. Prior to this, the general bacterial status in different parts of the reproduction tract of the mare was verified with the help of microbiological studies in order to allow conclusions to be drawn about the effectiveness of different closing and protective devices, particularly the cervix.

30 clinically inconspicuous and genitally healthy mares were available for the microbiological examinations in total; 20 thereof were living mares from the patient group of the clinic (group 1), ten were available directly after slaughter (group 2) and their cervixes were used for histological examination. Taking into account the anatomical barriers described in literature, swab samples were taken from each mare from the following localisations: vestibulum, vagina, cervix and uterus.

There was only little correspondence regarding germ detection, extent of microbial colonisation, number of organism species and analysis of the different bacteria species between the isolated microbial flora *in vivo* and *post mortem*. Thus, data from older literature on bacterial colonization based on *post mortem* swab sampling is an unsuitable model for the *in vivo* bacterial flora.

A significant reduction in the positive bacteriological findings, the intensity of the bacterial manifestation and the number of pathogen species could be shown in the course of the female genital tract from caudal to the uterus ($p < 0.05$). The strongest quantitative reduction could be stated at the junction of the vestibulum to the vagina. Thus, these microbiological results confirm that the hymenal ring in the reproduction tract is the most important microbiological barrier in connection with the quantity of organisms.

However, the calculated ratio of numbers of facultative pathogenic to apathogenic bacteria species is remarkable, while the facultative bacteria species decrease proportionally stronger along the caudocranial axis of the reproduction apparatus. The most distinctive shift towards the apathogenic species could be found at the junction from the vagina to the cervix. While the share of facultative pathogenic organisms was 23 % in the vagina, its share in the cervix was only 14 %. Thus, the cervix must be ascribed a higher significance regarding the selective elimination of facultative pathogenic micro-organisms than the hymenal ring. This hypothesis is confirmed by the analysis of the regionally predominant organisms. The samples of the vestibulum and the vagina showed a dominance of facultative pathogenic germs, particularly the β -haemolysing streptococci, while the species in the cervix and the uterus were predominantly apathogenic.

For the histological examinations, tissue samples were taken from five different regions along the longitudinal axis of ten cervixes. For the selective detection of the cell populations and the connective tissue, the following staining solutions were used: haematoxylin-eosin, sirius red, toluidine blue and azane after Heidenhain.

It could be noticed that the cervical epithelium of the mare is characterised by a variability of the cell height. The highest values with $19,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$ could be detected in the apical part of the mucosal folds. Differences in cell morphology point towards different functions. The free cell membrane shows, in contrast to data given in literature, a distinctively recognisable ciliary edge along the entire *canalis cervicalis*.

The deep layers of the *tela submucosa* show a strong vascularization, which is significantly higher than in the other tissue layers. The vascular number is here $46,3 \pm 25,1$ vessels per mm^2 , compared with $9,8 \pm 7,8$ vessels per mm^2 in the *tunica muscularis*. The function of this venous plexus is yet unclear. It is supposed that it supports the closure function of the cervical canal in form of a cavernous body.

With the help of sirius red staining, which has not been established to date at the mare, a very well detection of the equine eosinophil granulocytes can be achieved. The toluidine blue staining shows a good sensitivity in the detection of the cervical mast cells in the present study. The *tela submucosa* is remarkably rich in cells with respect to both cell populations. The significantly highest cell density with 2,4 (SF 6,8) eosinophil granulocytes and 2.0 (SF 7,2) mast cells per mm² is present in the area until 100 µm below the epithelial tissue ($p \leq 0,001$). In contrast, both in the *tunica muscularis* and the *epithelium mucosae*, both cell populations can only be detected in singular cases. The detection of the mast cells in the epithelium is not possible. Eosinophil granulocytes and mast cells show along the longitudinal axis of the cervix a fairly homogenous distribution with a slightly decreasing tendency towards the uterus. High individual variations are reflected in the dispersion coefficient.

An increased infiltration of the tissue with eosinophil granulocytes can be observed in the oestrus; in this connection superficial tissue layers are particularly involved. In the *tela submucosa* the cell number is at that point of time 5,9 per mm² (SF 5,3). However, the difference to the dioestrus is only narrowly not significant. Future studies with a higher number of subjects can lead to clarity in these questions. The functional significance of both cell populations can be seen in the area of immunological defence and cycle-controlled alteration of the tissue texture; in this context an interaction between the eosinophil granulocytes and the mast cells is assumed.

8. Anhang

Angegeben sind Zusammensetzungen von Lösungen und Puffern, die selbst hergestellt wurden. Keine Berücksichtigung fanden kommerziell erworbene Lösungen und Puffer.

8.1 Lagerung und Fixierung des Gewebes

- Neutral gepuffertes Formol nach Lillie:

Formol (~40%) (Merck)	500,0 ml
NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O (Merck)	20,0 g
Na ₂ HPO ₄ (Merck)	32,5 g
A. dest	⇒ ad 5000,0 ml

Die Lösung hat den pH-Wert 7,0.

- Natriumphosphat-Puffer (0,1M; pH 7,2):

Lösung 1 (0,1 m):

NaH ₂ PO ₄ *H ₂ O (Merck)	13,8 g
A. dest.	⇒ ad 1000,0 ml

Lösung 2 (0,1 m):

Na ₂ HPO ₄ (Merck)	17,8 g
A. dest.	⇒ ad 1000,0 ml

Gebrauchslösung:

Lösung 1:	28,3 ml
Lösung 2:	71,7 ml

- Pikrinsäure-Formol-Eisessig (Bouin'sche Lösung):

Pikrinsäure (gesättigt) (Merck)	120 ml
Formalin (40 %) (Merck)	40 ml
Eisessig (Merck)	10 ml

8.2 Herstellung der Gewebeschnitte

- 3-Aminopropyltriethoxy-Silan 2% (APES):

APES (Merck)	10,0 ml
Aceton, reinst (Merck)	490,0 ml

8.3 Färbelösungen

Hämatoxilin-Eosin-Färbung

- Hämatoxilin nach Meyer:

Hämatoxilin (Merck)	1 g
A. bidest.	1000g

lösen unter schütteln

NaSO ₃ (Merck)	0,2 g
Kalialaun (Merck)	50,0 g
Cloralhydrat (Merck)	50,0 g
Zitronensäure (Merck)	1,0 g

2 bis 3 Tage stehen lassen, dann filtrieren

- Eosin:

Eosin G (Merck)	1 g
A. dest.	100ml
Eisessig (Merck)	1 Tropfen

Siriusred-Färbung (Bogomoletz, 1980)

- Sirius-Red-Lösung:

Sirius-Red F3B (DyStar)	500,0 mg
A. bidest.	45,0 ml
Ethanol (absolut) (Schmidt GmbH)	50,0 ml
NaOH 1% (Merk)	1,0 ml
NaCl	etwa 4,0 ml

Zugabe, bis es zur leichten Präzipitation kommt. Lagerung der Lösung über 24 Stunden, dann Filtrierung. Die Lösung bleibt bei Raumtemperatur zwei Monate verwendungsfähig.

Touidin-Blau-Färbung

- Puffer nach Soerensen:

Lösung 1:

KH_2PO_4 (Merck)	9,078 g
A. dest	⇒ ad 1000 ml

Lösung 2:

Na_2HPO_4 (Merck)	2,969 g
A. dest.	⇒ ad 250 ml

Gebrauchslösung:

Lösung 1:		1,2 ml
Lösung 2:	⇒	ad 200 ml

- Toluidinblau O-Färbelösung 0,1%:

Toluidin O (Chroma-Gesellschaft)		0,2 g
Puffer nach Soerensen		200 ml

Azan-Färbung nach Heidenhain

- Azokarminlösung:

Azokarmin G (Merck)		0,1 g
A. dest.		100 ml

Den Ansatz kurz aufkochen und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur durch einen nicht gehärteten Filter abfiltrieren.

Eisessig (Merck)		1 ml
------------------	--	------

- Alkoholische Anilinlösung:

Anilinöl (Merck)		1 ml
Ethanol 90% (Schmidt GmbH)	⇒	ad 1000 ml

- Anilinblau-Orange-Eisessig:

Stammlösung:

Anilinblau (Merck)		0,5 g
Orange G (Merck)		2,0 g
A. dest.		100,0 ml
Eisessig (Merck)		8,0 ml

Den Ansatz kurz aufkochen und nach Erkalten filtrieren.

Gebrauchslösung:

Stammlösung	100,0 ml
A. dest.	100,0-300,0 ml

- Essigsaurer Alkohol:

Eisessig (Merck)	1 ml
Ethanol 96% (Schmidt GmbH)	⇒ ad 100 ml

- Phosphorwolframsäure:

Phosphorwolframsäure (Merck)	10 g
A. dest.	100,0 ml

9. Literaturverzeichnis

- ALLEN, W.E., NEWCOMBE, J.R. (1979)
Aspects of genital infection and swabbing techniques in the mare
Vet. Rec., 104, 228-231
- ANDREWS, F.N., McKENZIE, F.F. (1941)
Estrus, ovulation, and related phenomena in the mare
Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull., 329
- BAE, S-E., CORCORAN, B.M., WATSON, E.D. (2001)
Immunohistochemical study of the distribution of adrenergic and
peptidergic innervation in the equine uterus and the cervix
J. Reprod. Fertil., 122, 275-282
- BEESON, P.B., BASS, D.A. (1977)
Major problems in internal medicine
W.B. Saunders Co., Philadelphia, 154-158
- BERWIND, T. (1954)
Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Fasersystem der Cervix
uteri der Frau
Arch. Gynäk., 184, 459-468
- BIENENSTOCK, J., McDERMOTT, M., BEFUS, D., O'NEILL, M. (1978)
A common mucosal immunologic system involving bronchus, breast and
bowel
Adv. Exp. Med. Biol., 103, 53-62
- BIRBECK, M., BREATHNACH, A.S., EVERALL, J.D. (1961)
An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear
cells (Langerhans cells) in vitiligo
J. Invest. Dermatol., 37, 51-64
- BLANCHARD, T.L. (1982)
Congenitally incompetent cervix in a mare
J. Am. Vet. Med. Assoc., 181, 266
- BOGOMOLETZ, W. (1980)
Avantages de la coloration par le rouge sirius de l'amyloïde et des
eosinophiles
Arch. Anat. Cytol. Pathol. 28, 252-253

- BOTCHKAREV, V.A., EICHMÜLLER, S., PETERS, E.M.J., PIETSCH, P., JOHANNSSON, O., MAURER, M., PAUS, R. (1997)
A simple immunofluorescence technique for simultaneous visualization of mast cells and nerve fibers reveals selectivity and hair cycle-dependent changes in mast cell- nerve fiber contacts in murine skin
Arch. Dermatol. Res., 289, 292-302
- BOWLING, A.T., MILLON, L., HUGHES, J.P. (1987)
An update of chromosomal abnormalities in mares
J. Reprod. Fertil. Suppl., 35, 149-155
- BRADDING, P., WALLS, A.F., CHURCH, M.K. (1995)
Mast cells and basophils: their role in initiating and maintaining inflammatory responses
In: Holgate, S.T. (Hrsg.): *Immunopharmacology of the respiratory system*, Academic Press, New York, 53
- BRYMAN, I., NORSTRÖM, A., LINDBLÖM, B. (1985)
Has cervical smooth muscle any physiological role in the human?
Acta Physiol. Hung., 65, 327-330
- BUDRAS, K.D., RÖCK, S. (1997)
Kap. 8: Becken mit Leistengegend sowie Harn- und Geschlechtsorgane
In: Budras, K.D.; Röck, S. (Hrsg.): *Atlas der Anatomie des Pferdes*, 3. Aufl., Schlütersche, 76
- BUNDESTIERÄRZTEKAMMER, ARBEITSGEMEINSCHAFT DER LEITENDEN VETERINÄRBEAMTEN (2000)
Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln
Beilage zum Deutschen Tierärzteblatt, 11, 2000
- BURGER, L.L., SHERWOOD, O.D. (1998)
Relaxin increases the accumulation of new epithelial and stromal cells in the rat cervix during the second half of pregnancy
Endocrinology, 139, 3984-3995
- BURGESSON, R.E. (1988)
New collagens, new concepts
Annu. Rev. Cell Biol., 4, 551-577
- BUSCH, W., KLUG, E. (1998)
Kap. 31: Fortpflanzungsstörungen bei der Stute und Krankheiten der weiblichen Geschlechtsorgane
In: Dietz, O., Huskamp, B. (Hrsg.): *Handbuch Pferdepraxis*, 2. Aufl., Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 567-600

- CAIRNS, J.A., WALLS, A.F. (1997)
Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts
J. Clin. Invest., 99, 1313-1321
- CONBOY, H.S. (1978)
Diagnosis and therapy of equine endometritis
Proc. Am. Assoc. Equine Pract., 165-171
- DANFORTH, D.N. (1947)
The fibrous nature of the human cervix and its relation to the isthmic segment in gravid and non-gravid uteri
Am. J. Obstet. Gynec., 53, 541
- DANFORTH, D.N., BUCKINGHAM, J.C. (1973)
Kap.19: The effects of pregnancy and labor on the amino acid composition of the human cervix
In: Blandau, Moghissi, (Hrsg.): The biology of the Cervix
Chicago, IL, University of Chicago Press, 351-355
- DANFORTH, D.N., BUCKINGHAM, J.C., RODDICK, J.W. (1960)
Connective tissue changes incident to cervical effacement
Am. J. Obstet. Gynecol., 80, 939-945
- DAY, F.T. (1957)
The veterinary clinician's approach to breeding problems in mares
Vet. Rec., 69, 1258
- DAY, W.E., EVANS, J.M., VOGELSANG, M.M, WESTHUSIN, M.E. (1995)
Characterization of the cervix in cycling mares using ultrasound
Biol. Reprod. Mono., 1, 519-526
- DÖCKE, F. (1994)
Kap. 16: Keimdrüsen
In: Döcke, F., (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie
3. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 399-508
- DOE, W.F. (1982)
Immunological aspects of the gut
In: Lachmann, P.J., Petersen, D.K. (Hrsg.): Clinical Aspects of Immunology
Blackwell Scientific, Oxford, UK, 985-1010
- 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

- EDWARDS, J.N., MORRIS, H.B. (1985)
Langerhans' cells and lymphocyte subsets in the female genital tract
Br. J. Obstetr. Gynaecol., 92, 974-982
- EGGERT-KRUSE, W. (1997)
Funktion der Cervix uteri für die Fertilität
Gynäkol., 30, 53-68
- EKMAN, G., MALSTRÖM, A., ULDBJERG, N., ULMSTEN, U. (1986)
Cervical collagen: An important regulator of cervical function in term labor
Obstet. Gynecol., 67, 633-636
- ELLWOOD, D.A., ANDERSON, A.B.M., MITCHELL, M.D., MURPHY, G.,
TURNBULL, A.C. (1981)
Kap. 5: Prostanoids, collagenase and cervical softening in the sheep.
In: Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M. (Hrsg.): The cervix in pregnancy and
labour
Churchill Livingstone, Oxford, 57-73
- ENERBACK, L., MELLBLOM, L. (1978)
5-hydroxytryptamine content of mast cells, mast cells numbers and body
growth
Exp. Cell Res., 112, 103-109
- FAWCETT, D.W. (1994)
5. Connective Tissue
In: Bloom, Fawcett (Hrsg.): A textbook of histology
12. Aufl., Chapman & Hall, S. 133-167
- FITZPATRICK, R.J., LIGGINS, G.C. (1980)
Effects of prostaglandins on the cervix of pregnant women and sheep
In : Naftolin, F., Stubblefield, P.G. (Hrsg.): Dilatation of the uterine cervix
Raven Press, New York, 287-300
- FOX, H. (1993)
Kap. 10: Immunocompetent cells in the cervix and vagina
In: Griffin, P.D., Johnson, P.M. (Hrsg.): Local immunity in reproductive
tract tissues, Oxford University Press, 177-186
- GALEOTTI, M., BELLUZZI, S., VOLPATTI, D., BERGONZONI, M.L., D'AGARO,
E.D., VOLPELLI, L.A. (1997)
Evaluation of mast cells in calf and heifer uteri
Theriogenology, 48, 1301-1311

- GINTHER, O.J. (1992)
Kap. 1: Reproductive anatomy
Kap. 6: Characteristics of the ovulatory season
In: Ginther, O.J. (Hrsg.): Reproductive Biologie of the MERE, Basic and Applied Aspects , 2. Aufl., Equiservices, 1-40 und 173-232
- GOLICHOWSKI, A. (1980)
Kap. 7: Cervical stromal interstitial polysaccharide metabolism in pregnancy
In: Naftolin, F., Stubblefield, P.G. (Hrsg.): Dilatation of the uterine cervix
Raven Press, New York, 99-112
- GONWA, T.A., PICKER, L.J., RAFF, H.V., GOYERT, S.M., SILVER, J., STOBO, J.D. (1983)
Antigen-presentating capabilities of human monoclonal monocytes correlates with their expression of HLA-DS, an Ia determinant distinct from HLA-DR
J. Immunol., 130, 706-711
- GOULD, P.R., BARTER, R.A., PAPADIMITRIOU, J.M. (1979)
An ultrastructural, cytochemical and autoradiographic study of the mucous membrane of the human cervical canal with references to subcolumnar basal cells
Am. J. Pathol., 95, 1-9
- HAFEZ, E.S.E., HAFEZ, B. (2000)
Kap. 6: Transport and Survival of Gametes
In: Hafez, E.S.E., Hafez, B. (Hrsg.): Reproduction in Farm Animals, 7. Aufl., Lippincott Williams & Wilkins, 82-95
- HARKNESS, M.L.R., HARKNESS, R.D. (1959)
Changes in the physical properties of the uterine cervix of the rat during pregnancy
J. Physiol., Lond., 148, 524-547
- HARRIS, E.D., KRANE, S.M. (1974)
Collagenases
New Engl. J. Med., 291, 557-563
- HAWK, H.W., TURNER, G.D., SYKES, J.F. (1960)
The effect of ovarian hormones on the uterine defence mechanism during the early stages of induced infection
Am. J. Vet. Res., 21, 644-648.

- 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. Immunol., 157, 6216-6225
- HERZOG, A. (1995)
Klinische Zytogenetik der Haustiere
JFL-Skript Vet
- HIBBS, M.S., MAINARDI, C.L., KANG, A.H. (1982)
Type-specific collagen degradation by eosinophils
Biochem. J., 207, 621-624
- HILLIER, K., WALLIS, R.M. (1981)
11. Prostaglandins, steroids and the human cervix
In: Ellwood, D.A., Anderson, A.B.M. (Hrsg.): The cervix in pregnancy and labour
Churchill Livingstone, Oxford, 144-162
- HINRICHS, K., CUMMINGS, M.R., SERTICH, P.L., KENNEY, R.M. (1988)
Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares
J. Am. Vet. Med. Assoc., 193, 72-75
- HOFFMANN, B. (1994)
Kap. 17: Gravidität, Geburt und Puerperium
In: Döcke, F., (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie
3. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 509-546
- HOHENHAUS, M.U. (1992)
Ovulationsdetermination bei Zuchtstuten unter Praxisbedingungen mit Hilfe klinischer, sonographischer und hormonanalytischer Untersuchungsmethoden
Vet. Med. Diss., Gießen
- HUNT, J. (1994)
Immunologically relevant cells in the uterus
Biol. Reprod., 50, 461-466
- ISAACSON, P., WRIGHT, D.H. (1984)
Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa associated lymphoid tissue
Cancer, 53, 2515-2524

- JAIN, N.C (1993)
Kap. 14: The eosinophils und Kap. 15: The Basophils and Mast Cells
in: Jain, N.C. (Hrsg.): Essentials of veterinary hematology
1. Aufl., Philadelphia Lea Febiger, 247-257 und 257-165
- JAIN, N.C. (1986)
Schaln's Veterinary Hematology
4. Auflage, Philadelphia, Lea Febiger, 731-755
- JANNSON, L., OGREN, S., LINDHAL, U. (1975)
Macromolecular properties and endgroup analyses of heparin isolated
from bovine liver capsule
Biochem. J., 145, 53-62
- JEFFREY, J.J., KOOB, T.J. (1991)
Kap. 9: Endocrine control of collagen degradation in the uterus
In : Naftolin, F., Stubblefield, P.G. (Hrsg.): Dilatation of the uterine cervix
Raven Press, New York, 199, 135-145
- JEZIORSKA, M., SALAMONSEN, A.L., WOOLLEY, D.E. (1995)
Mast cell and eosinophil distribution and activation in human endometrium
throughout the menstrual cycle
Biol. Reprod., 53, 312-320
- JUNQUEIRA, L.C.U., ZUGAIB, M., MONTES, G.S., TOLEDO, O.M.S., KRISZIAN,
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 dilation.
Am. J. Obstet. Gynecol., 138, 273-281
- KAEOKET, K., PERSSON, E., DALIN, A.M. (2001)
The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on
morphological changes and infiltration by cells of the immune system
Anim. Reprod. Sci., 65, 95-114
- KATILA, T. (1988)
Histology of the post partum equine uterus as determined by endometrial
biopsies
Acta Vet. Scand., 29, 173-180
- KELLY, R.W. (1994)
Pregnancy maintenance and parturition: the role of prostaglandin in
manipulating the immune and inflammatory response
Endocr. Rev., 15, 684-706

- KLEISSL, H.P., VAN DER REST, M., NAFTOLIN, F. (1978)
Collagen changes in the human cervix at parturition
Am. J. Obstet. Gynecol., 138, 748–753
- KRISHNA, A., TERRANOVA, P.F. (1985)
Alterations in mast cell degranulation and ovarian histamine in the
proestrus hamster
Biol. Reprod., 32, 1211-1217
- LEIDL, W., STOLLA, R., SCHELS, H., WOLPERT, E. (1976)
Keimbiesiedlung des Genitale beim Pferd aus klinischer Sicht
Prakt. Tierarzt, 4, 214-220
- LEISER, R. (1990)
Weibliche Geschlechtsorgane
In: Mosimann, W., Kohler, K. (Hrsg.): Zytologie, Histologie und
Mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere, 1. Aufl.,
Paul Parey, Berlin und Hamburg, 232-248
- LEISER, R. (1999)
Weibliche Geschlechtsorgane
In: Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (Hrsg), Lehrbuch der Anatomie
der Haussäugetiere Bd.II, Eingeweide, 8. Aufl.,
Paul Parey, Berlin und Hamburg, 393-434
- LEPPI, T.J., KINNISON, P.A. (1971)
The connective tissue ground substance in the mouse uterine cervix: an
electron microscopic histochemical study
Anat. Rec., 170, 97-118
- LEPPI, T.J., REPSH, L.A., FRUCHT, L.T., BARTZEN, P.J., HOLT, G.E. (1982)
Immunohistochemical localization of fibronectin in human and rat cervixes
J. Histochem. Cytochem., 30, 413-417
- LIEBICH, H.G. (1998)
Kap. 14: Die weiblichen Geschlechtsorgane
In: Liebich, H.G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere, 3.
Aufl., Schattauer, 284-302
- LIGGINS, G.C. (1978)
Ripening of the cervix
Semin. Perinatol., 2, 261-271
- LILLIE, R.D., FULLMER, H.M. (1976)
Histopathologic technic and practical histochemistry
The Blakiston Company, New York

- LÖWENSTEIN, W.R., SOCOLAR, S.J., HIGASHINO, S., KANNO, Y., DAVIDSON, N, (1965)
Intercellular communication: renal, urinary bladder, sensory and salivary gland cells
Science, 149, 295–298
- LUQUE, E.H., BASSANI, J.G., RAMOS, M., MAFFINI, A., CANAL, A., KASS, S., CALDINI, E.G., FERREIRA J.R., MUNOZ de TORO, M., MONTES, G.S. (1997)
Leukocyte Infiltration and collagenolysis in cervical tissue from intrapartum sheep
Zentralbl. Vet. med A., 44, 501-510
- 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., 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
- 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
- MACKLER, A.M., IEZZA, G., AKIN, M.R., McMILLAN, P., YELLON, S.M. (2000)
Macrophage trafficking in the uterus and cervix precedes parturition in the mouse
Biol. Reprod., 63, 697-703
- MAYR, A. (2002)
Grundlagen der allgemeinen medizinischen Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
In: Mayr, A (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions und Seuchenlehre, 7. Aufl.,
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1-62
- McDERMOTT, M.R., CLARK, D.A., BIENENSTOCK, J. (1980)
Influence of the estrous cycle on B immunoblast migration into genital and intestinal tissues
J. Immunol., 124, 2536-3539

- McKAY, D.M., BIENENSTOCK, J. (1994)
The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract
Immunol. Today, 15, 533-538
- McRAE, D.R. (1935)
Double os uteri in a mare
Vet. Rec., 15, 1100
- MERKT, H., WÖCKENER, A., HEILKENBRINKER, T., ZEMKE, M. (1987)
Mikrobielle Untersuchung in der Stutengynäkologie
Prakt. Tierarzt, 3, 5-12
- MEST, H.-J. (1994)
Kap. 23: Eicosanoide
In: Döcke, F., (Hrsg.): *Veterinärmedizinische Endokrinologie*
3. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 672-688
- MILKS, L.C., CONYERS, G.P., CRAMER, E.B. (1986)
The effect of neutrophil migration on epithelial permeability
J. Cell Biol., 103, 2729-2738
- MINAMOTO, T., ARAI, K., HIRAKAWA, S., NAGAI, Y. (1986)
Immunohistochemical studies on collagen types in the uterine cervix in
pregnant and nonpregnant states
Am. J. Obstet. Gynecol., 156, 138-144
- MORRIS, H.H.B., GATTER, K.C., STEIN, H., MASON, D.Y. (1983)
Langerhans' cells in human cervical epithelium: an immunohistological
study
Br. J. Obstet. Gynaecol., 90, 400-411
- MUROTA, S., ABE, M., OTSUKA, K. (1977)
Stimulatory effect of prostaglandins on the production of hexosamine
containing substances by cultured fibroblasts. (3) Induction of hyaluronic
acid synthetase by PGF 2 α
Prostagland., 14, 983-991
- MUSHAYANDEBVU, T., RAJABI, M. (1995)
Relaxin stimulates interstitial collagenase activity in cultures uterine
cervical cells from nonpregnant and pregnant but not immature guinea
pigs; estradiol-17 β restores relaxin's effect in immature cervical cells
Biol. Reprod., 53, 1030-1037
- NAKAYA, T. (1974)
Studies on acid mucopolysaccharides in the human cervix uteri
Nagoya Med. J., 18, 295-319

- NEWCOMBE, J.R. (1978)
Comparison of the bacterial flora of three sites in the genital tract of the mare
Vet. Rec., 102, 167-170
- OWINY, 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. Sci., 43, 36-43
- PARROT, D.M.V. (1976)
The gut as a lymphoid organ
Clin. Gastroenterol., 5, 211-228
- PENN, R.D. (1966)
Ionic communication between liver cells
J. Cell Biol., 29, 171-174
- POHL, R., WAGENSEIL, F., HÜHNERMUND, G., ROMER, H. (1977)
Die zytologische Untersuchung von Zervix-Tupferproben als diagnostisches Hilfsmittel bei der gynäkologischen Untersuchung und der zuchthygienischen Beurteilung von Stuten.
Tierärztl. Umsch., 32, 634-640
- PRIEDKALNS, J. (1987)
Female reproductive system
In: Dellmann, Brown (Hrsg.): Textbook of Veterinary Histology, 3. Aufl., Lea & Febiger, Philadelphia, 334-335
- RAJABI, M.R., DODGE, G.R., SOLOMON, S., POOLE, A.R. (1991)
Immunochemical and immunohistochemical evidence of estrogen-mediated collagenolyses as a mechanism of cervical dilatation in the guinea pig at parturition
Endocrinology, 128, 371-378
- 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., 59, 214-218
- REIBIGER, I., SPANEL-BOROWSKI, K. (2000)
Difference in localization of eosinophils and mast cells in the bovine ovary
J. Reprod. Fertil., 118, 243-249

- RICKETTS, W.W. (1981)
Bacteriological examinations of the mare's cervix: technique and interpretation of results
Vet. Rec., 108, 46-51
- RIERA, F.L., HINRICHS, K., HUNT, P.R., KENNEY, R.M. (1989)
Cervical hyperplasia with prolapse in a mare
J. Am. Vet. Med. Assoc., 195, 1393-1394
- RÖBER, C. (1914)
Anatomische und histologische Untersuchungen über die Cervix uteri von Equus caballus, Equus asinus und Ovis aries
Diss. med. vet., Leipzig
- ROBERTSON, S.A., MAU, V. J., YOUNG, I.G., MATTHAEI, K.I. (2000)
Uterine eosinophils and reproductive performance in interleukin 5-deficient mice
J. Reprod. Fertil., 120, 423-432
- ROMAGNOLI, S.E., MOMONT, H.W., HILBERT, B.J., METZ, A. (1987)
Multiple recurring uterocervical leiomyomas in two half-sibling Appaloosa fillies
J. Am. Vet. Med. Assoc., 191, 1449-1450
- RONCALLI, M., SIDERI, M., GIE, P., SERVIDA, E. (1988)
Immunophenotypic analysis of the transformation zone of human cervix
Lab. Investig., 58, 141-149
- RORIE, D.K., NEWTON, M. (1967)
Histology and chemical studies of the smooth muscle in the human cervix
Am. J. Obstet. Gynec., 99, 466-469
- RUOSLAHTI, E., ENGVALL, E., HAYMAN, E.D. (1981)
Fibronectin: current concepts of its structure and functions
Coll. Rel. Res., 1, 95-128
- SALTIEL, A., GUTIERREZ, A., DE BUEN-LIADO, N., SOSA, C. (1987)
Cervico-endometrial cytology and physiology aspects of the post partum mare
J. Reprod. Fertil. Suppl., 35, 305-309
- SANTSCHI, E., ADAMS, S.B., ROBERTSON, J.T. et al. (1995)
Ovariohysterectomy in six mares
Vet. Surg., 24, 165-171

- SATO, T., ITO, A., MORI, Y., YAMASHITA, K., HAYAKAWA, T., NAGASE, H., (1991)
Hormonal regulation of collagenolysis in uterine cervical fibroblasts
Biochem. J., 275, 645-650
- SCHLOTTHAUER, C.F., ZOLLMAN, P.E. (1956)
The occurrence of so-called „white heifer disease“ in a white Shetland Pony mare
J. Am. Vet. Med. Assoc., 129, 309-310
- SCHMALZ (1911)
Die weiblichen Geschlechtsorgane
In: Ellenbergers Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere; Bd.2, 233-239
- SCHMOLLICH, A. (1992)
Geschlechtssystem
In: Schmollich, A., Michel, G. (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere,
2. Aufl., Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 233-333
- SCHUBERT, S. (1994)
Mikrobiologische und zytologische Untersuchungen des Genitalkanals sowie Konzeptionsraten nach Insemination bei Stuten mit mangelhaftem Schamschluß vor und nach chirurgischer Korrektur durch eine Vulva- und Vestibulumplastik
Vet. Med. Diss., Hannover
- SCHUH, R. (1993)
Histomorphometrische Untersuchungen an der Cervix uteri bei Katze, Hund, Schaf, Rind und Pferd
Diss. med. vet., München
- SCOTT, P., DALEY, P., GIDLEY BAIRD, G., STURGESS, S., FROST, A.J., (1971)
The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of the mare
Vet. Rec., 88, 58-61
- SEIFERLE, E. (1933)
Über Art- und Altersmerkmale der weiblichen Geschlechtsorgane unserer Haussäugetiere Pferd, Rind, Kalb, Ziege, Kaninchen,
Z. Anat. Entwicklungsgesch. 101, 1-80

- SERTICH, P.L. (1992)
Kap. 46: Cervical problems in the mare
In: McKinnon, A.O., Voss, J.L. (Hrsg.): Equine Reproduction, 1. Aufl.,
Williams & Wilkins, A Waverly Company, 404-407
- SISSON, S. (1975)
Equine urogenital system
In: Getty, R. (Hrsg.): Sisson and Grossman's The Anatomy of the
domestic Animals, Philadelphia, W.B. Saunders, 542-549
- STAUSS, G. (1969)
Funktionsbedingte Unterschiede der Feinstruktur des kollagenen
Bindegewebes menschlicher Uteri,
Arch. Gynäk., 208, 147-177
- STEINMAN, R.M. (1981)
Dendritic cells
Transplantation, 31, 151-155
- SUN, F.F., CRITTENDEN, N.J., CZUK, C.I., TAYLOR, B.M., STOUT, B.K.,
JOHNSON, H.G. (1991)
Biochemical and functional differences between eosinophils from animal
species and man
J. Leukoc. Biol., 50, 140-150
- TAY, S.K., JENKINS, D., CAMPION, A., SINGER, A. (1987)
Subpopulations of Langerhans' cells in cervical neoplasia
Br. J. Obstet. Gynaecol., 94, 10-15
- TEOBALD, P.W., RATH, W., KÜHNLE, H., KUHN, W. (1982)
Histological and electron-microscopic examinations of the non-pregnant
cervix, the pregnant cervix and pregnant prostaglandin-treated cervix
Arch. Gynecol., 231, 241-245
- TILLMANN, H., MEINECKE, B., WEIß, R. (1982)
Genitalinfektionen beim Pferd
Tierärztl. Prax., 10, 91-114
- ULDBJERG, N., MALMSTRÖM, A. (1991)
The role of proteoglycans in cervical dilatation
Sem. Perinat., 15, 127-132
- ULDBJERG, N., ULMSTEN, U., EKMAN, G. (1983)
The ripening of the human uterine cervix in terms of connective tissue
biochemistry
Clin. Obstet. Gynecol., 26, 14-26

- VAERMAN, J.P. (1973)
In: Kwapinski, J.B.G. and Day, E.D. (Hrsg.): Research in
Immunochemistry and Immunobiology, Vol. 3.
University Park Press: Baltimore, London & Tokyo, 417
- VAERMAN, J.-P., FÉRIN. J. (1974)
Local immunological response in the vagina, cervix and endometrium
Karolinska Symposia on Research Methods in Reproductive
Endocrinology, 7th Symposium Immunological Approaches to Fertility
Control, 281-305
- VAN DER REST, M. (1980)
Kap. 5: Collagen and its metabolism
in : F. Naftolin und P.G. Stubblefield (Hrsg.): Dilatation of the uterine cervix
Raven Press, New York, 61-78
- VODENICHAROV, A., CIRNUCHANOV, P. (1995)
Morphological studies of the valves of the kidney vein in domestic swine
Anat. Histol. Embryol., 24, 155-158
- VOLKMANN, D.H., BERTSCHINGER, H.J., SCHULMAN, M.L. (1995)
The effect of prostaglandin E(2) on the cervices of dioestrus and
prepartum mares
Reprod. Dom. Anim., 30, 240-244
- WEHREND, A., HERFEN, K., LITZKE, L.-F., BOSTEDT, H. (2001)
Hysterektomie bei einer Jungstute mit einer Zervix duplex und
rezidivierender Endometritis
Pferdeheilk., 17, 141-144
- WEHREND, A., REIBIGER, I., LEISER, R., BOSTEDT, H., SPANEL-BOROWSKI,
K. (2002)
Puerperal vaginal and cervical involution in cows is associated with
changes in the distribution of eosinophils
35. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung, 14.-15.
Februar 2002, Leipzig
- WEHREND, A., THUMES, M. (2000)
Der klinische Fall: Verlängerte Graviditätsdauer bei einer Stute
Tierärztl. Prax., 28, 345-346 und 355-356
- WELLE, M.M., AUDIGE, L., BELZ, J.P. (1997)
The equine endometrial mast cell during the puerperal period: evaluation
of mast cell numbers and types in comparison to other inflammatory
changes
Vet. Pathol., 34, 23-30

- WIDDERS, P.R., STOKES, C.R., DAVID, J.S.E., BOURNE, F.J. (1985)
Immunohistological studies of the local immune system in the reproductive tract of the mare
Res. Vet. Scien. 38, 88-95
- WIQVIST, I., NORSTRÖM, A., WIQVIST, N. (1985)
Oxitocin and cervical connective tissue
Acta Physiol. Hung., 65, 323-326
- WIRA, C.R., HYDE, E., SANDO, C.P., SULLIVAN, D., SPENCER, S. (1980)
Cellular aspects of the rat uterine IgA response to estradiol and progesteron
J. Steroid Biochem., 12, 451-459
- WROBEL, K.-H. (1971)
Histologische, histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Cervix uteri des Rindes
Habilitationsschrift, Beiheft zum Zbl. Vet.Med., 15
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- YU, S.Y, TOZZI, C.A., BABIARZ, J., LEPPERT, P. (1994)
Collagen changes in rat cervix in pregnancy – Polarized light microscopic and electron microscopic studies
P. Soc. Exp. Biol. and Med., 209, 360 – 368
- ZARROW, M.X., YOCHIM, J. (1961)
Dilatation of the uterine cervix of the rat and accompanying changes during the estrous cycle, pregnancy and following treatment with estradiol, progesteron and relaxin,
Endocrinology, 69, 292-304
- WEHREND, A., TRASCH, K., FAILING, F., BOSTEDT, H. (2003)
Investigation of the regional differences in the pH value in the vagina, cervix and uterus of cows during interoestrus
Deutsche Tierarztl. Wochenschr., 110, 65-68

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. H. Bostedt für die Überlassung des interessanten Themas und die ständige Unterstützung und Beratung bei der Anfertigung der Arbeit. Weiterhin sei ihm nicht nur für seine wissenschaftliche, sondern gleichermaßen für seine fachlich-tierärztliche Betreuung meiner Fortbildung an der Klinik gedankt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Wehrend für die sorgfältige Anleitung, Motivation und Kritik, die den Fortgang dieser Arbeit ermöglicht und beschleunigt haben.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer und den Mitarbeitern des Instituts für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere in Giessen für die mikrobiologische Untersuchung der Tupferproben.

Für die nette samstägliche und sonntägliche Kooperation bei der Beschaffung der histologischen Proben auf dem Schlachthof in Gießen danke ich Herrn Harald Simon und seinen Mitarbeitern.

Herrn Dr. Failing und Herrn Heiter sei herzlich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung gedankt.

Mein besonderer Dank gilt der H. Wilhelm Schaumann Stiftung für die Unterstützung meines Dissertationsvorhabens. Die großzügige Förderung ermöglichte es mir, die vorliegende Studie in weitgehender finanzieller Unabhängigkeit durchzuführen, was mir die Konzentration auf meine wissenschaftliche Tätigkeit wesentlich erleichterte.

Zuletzt danke ich meiner Familie und allen Freunden, insbesondere Gerald Müller, die mir bei der Anfertigung des Manuskriptes mit ausdauernder und gewissenhafter Hilfe zur Seite gestanden haben.