



**RASTERELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UND
IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN
AM EILEITER VOM SCHWEIN
WÄHREND ZYKLUS UND TRÄCHTIGKEIT**

JUDITH MAYER

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

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

1. Auflage 2008

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

1st Edition 2008

© 2008 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem
Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik
der Universität Hohenheim
Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie der Haustiere
Univ.-Prof. Dr. W.M. Amselgruber

Eingereicht über das
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Physiologie
Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger

**Rasterelektronenmikroskopische und immunhistochemische
Untersuchungen am Eileiter vom Schwein
während Zyklus und Trächtigkeit**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Judith Mayer

aus
Auenwald

München 2008

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Stangassinger
Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Handler

Tag der Promotion: 18. Juli 2008

MEINER FAMILIE

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
2.1	Ontogenese	2
2.2	Makroskopische Anatomie	3
2.2.1	Morphologie des Ovidukts	3
2.2.2	Gefäßversorgung des Ovidukts	5
2.2.3	Nervenversorgung des Ovidukts	6
2.3	Mikroskopische Anatomie.....	7
2.4	Physiologie des Ovidukts	10
2.5	Extrahypophysäre Expression von Hypophysenhormonen und die Verteilung ihrer Rezeptoren	16
2.5.1	Allgemeines	16
2.5.2	Wachstumshormon (GH).....	18
2.5.3	Prolaktin (PRL)	23
3	Material und Methoden	26
3.1	Untersuchungsmaterial	26
3.2	Probenentnahme	26
3.3	Histologie	27
3.4	Rasterelektronenmikroskopie	32
3.5	Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaktion (RT-PCR).....	33
4	Ergebnisse	38
4.1	Rasterelektronenmikroskopie	38
4.1.1	Infundibulum	38
4.1.2	Ampulle	43
4.1.3	Isthmus	47
4.1.4	Uterotubaler Übergang (UTJ).....	48
4.2	Immunhistochemie und RT-PCR	52
4.2.1	Growth Hormon-Rezeptor (GH-R)	52
4.2.2	Growth Hormon (GH)	62

4.2.3	Prolaktin-Rezeptor (PRL-R).....	63
4.2.4	Prolaktin (PRL)	66
5	Diskussion	67
6	Zusammenfassung	76
7	Summary	78
8	Verzeichnisse	80
8.1	Literaturverzeichnis	80
8.2	Abkürzungsverzeichnis	99
8.3	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	101
9	Anhang	106
10	Danksagung	112

1 Einleitung

Der Eileiter des Schweins ist ein hoch spezialisiertes Organ, welches nicht nur dem Transport der ovulierten Eizellen, der Spermatozoen oder der sich entwickelnden Embryonen dient. Vielmehr erschafft und moduliert der aktive Eileiter ein dynamisches, flüssigkeitsgefülltes Milieu und stellt damit die optimale Umgebung für die endgültige Reifung der Gameten, die Befruchtung und die darauf folgende frühembryonale Entwicklung her.

Es ist bekannt, dass das Schleimhautepithel des Eileiters regionalen und zyklusabhängigen Veränderungen unterliegt. Diese können morphologisch, histochemisch und biochemisch nachgewiesen werden. Die meisten Untersuchungen beim Schwein und vielen anderen Spezies beschränken sich auf die Modifikationen innerhalb des Sexualzyklus. Über die Vorgänge im Eileiterepithel während des Verlaufs der Trächtigkeit liegen jedoch nur lückenhafte Erkenntnisse vor.

Die Expression verschiedener hypothalamischer und hypophysärer Hormone und ihrer Rezeptoren ist auch außerhalb der klassischen Syntheseorte nachgewiesen. Da über ihr Vorkommen und ihre Effekte innerhalb des Eileiters vom Schwein nur wenige Kenntnisse vorliegen, wurde ein Schwerpunkt der vorliegenden Studie auf den Nachweis von hypophysären, wachstums- und proliferationsfördernden Hormonen und der Verteilung ihrer Rezeptoren innerhalb des Eileiters gelegt. Die Untersuchungen dazu erfolgten mit Hilfe von immunhistochemischen Methoden und der RT-PCR auf mRNA und Proteinbasis.

Zusätzlich war es Ziel dieser Arbeit, mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie, ein umfassendes Bild der morphologischen Veränderungen der luminalen Oberfläche sowohl in den verschiedenen Abschnitten des Eileiters, wie auch im Zyklus- und Trächtigkeitsverlauf zu vermitteln.

2 Literaturübersicht

2.1 Ontogenese

Zum Zeitpunkt der Befruchtung wird das chromosomale Geschlecht des Tieres festgelegt. Am Anfang der Entwicklung sind normale Embryonen durch die indifferente Anlage der Geschlechtsorgane potentiell bisexuell (Rüsse, 1991). Der embryonale Genitalapparat besteht aus den jeweils paarigen Keimdrüsen, den Urnieren, der unpaaren Kloake, sowie den Urnieren-, bzw. Wolffschen Gängen und den Müllerschen Gängen (Zietzschmann und Krölling, 1955).

Beim Schwein beginnt die sexuelle Differenzierung am 21.-22. Graviditätstag, bei einer Scheitel-Steiß-Länge (SSL) von 10 mm, mit der Ausbildung der Keimleiste, aus welcher die Gonaden entstehen (Rüsse, 1991). Erreicht der Embryo eine SSL von 12,4 mm, beginnt an der ventralen Fläche der Urniere, lateral des Urnierengangs, die Formierung des Müllerschen Ganges. Hier kommt es zu einer trichterförmigen Einziehung, von der aus ein solider Zellstrang nach kaudal wächst. Zunächst verläuft dieser Strang parallel zum Wolffschen Gang, überkreuzt diesen jedoch weiter kaudal nach medial und trifft mit dem Zellstrang der Gegenseite zusammen. Beide Gänge münden blind an der Dorsalwand des *Sinus urogenitalis*. Diese Einmündungsstelle bleibt auch nach beginnender Kanalisation längere Zeit durch Epithel verschlossen (Rüsse, 1991). Die Kanalisation des Ganges beginnt kurz vor der sexuellen Differenzierung der Gonaden am kranialen Ende und schreitet im weiteren Verlauf der Entwicklung nach kaudal fort (Zietzschmann und Krölling, 1955; Rüsse, 1991). Der Durchbruch in den Sinus erfolgt erst zum Zeitpunkt der Geburt (Zietzschmann und Krölling, 1955).

In einem Entwicklungsalter von 5 bis 5 ½ Wochen, mit einer SSL von 20 mm, beginnt beim Schwein die Weiterentwicklung der indifferenten Anlage zum weiblichen Geschlechtsapparat (Zietzschmann und Krölling, 1955). Die undifferenzierten Gonaden entwickeln sich ohne die Expression des hodendeterminierenden Gens (SRY) zu den Ovarien. In Abwesenheit von Androgenen degenerieren die Wolffschen Gänge (Ford et al., 2001). Die Müllerschen Gänge werden ohne die Einwirkung von Anti-Müller-Hormon (AMH) zu den Ovidukten, zum Uterus, zur Zervix und zu Teilen der Vagina (Ford et al., 2001). Die Abgrenzungen zwischen diesen Abschnitten werden beim Schwein erstmals 2 ½ Monate *post conceptionem* sichtbar, nach der Verschmelzung der Müllerschen Gänge

und nach Bildung der Zervix (Zietzschmann und Krölling, 1955; Schnorr, 1996). Die Ovidukte entstehen aus den kranialen Abschnitten der primitiven Müllerschen Gänge (Price et al., 1969). Vom Uterus lassen sie sich schon bald durch den deutlichen Unterschied im Durchmesser abgrenzen, da dieser stark an Größe zunimmt (Zietzschmann und Krölling, 1955). Gleichzeitig kommt es an den Eileitern zur vermehrten Ausbildung von Windungen und auch hier zu einer leichten Zunahme des Durchmessers. Diese ist im kaudalen Abschnitt besonders ausgeprägt, wo sich der uterotubale Übergang ausbildet. Die Entwicklung von Epithel und Muskelschicht schreitet gleichzeitig weiter fort, Schleimhautfalten sowie Fimbrien werden ausgebildet und die Segmente – Infundibulum, Ampulle, Isthmus – werden erkennbar (Price et al., 1969).

Die Histogenese geht Hand in Hand mit den beschriebenen morphologischen Veränderungen. Die Muskelzellen des Ovidukts entstehen, wie auch die des Uterus aus mesenchymalen Zellen. Allerdings verläuft die Entwicklung der Eileitermuskulatur schneller als die des Uterus (Fujii et al., 1990). Die Zellen des einfachen primitiven Schleimhautepithels unterliegen einer hohen Mitoserate. Während der Eileiter an Länge und Durchmesser zunimmt, gewinnt das Schleimhautepithel an Höhe und eine leichte Kryptenbildung zeigt die Entwicklung der späteren Schleimhautfalten an. Infundibulum und Ampulle sind vor dem Isthmus zu erkennen, es bildet sich ein *Epithelium pseudostratificare*. Hier finden sich dann auch erstmals zilientragende Zellen.

Zum Zeitpunkt der Geburt sind die Fimbrien gut entwickelt und die Ampulle weist die charakteristischen Schleimhautfalten auf. Ausgekleidet wird der Eileiter von einem einschichtigen hochprismatischen Epithel mit zilientragenden und nicht-zilientragenden Zellen (Price et al., 1969).

2.2 Makroskopische Anatomie

2.2.1 Morphologie des Ovidukts

Der Eileiter stellt eine Verbindung zwischen dem Ovar und dem Uterushorn jeder Seite dar (Nalbandov, 1969). Er ist schlauchförmig, beim Schwein stark gewunden und ca. 15-30 cm lang (Becze et al., 1982).

Seine Aufhängung, die als laterale Falte des Mesovariums aus dem kranialen Abschnitt des breiten Mutterbandes (*Ligamentum latum*) hervorgeht, wird als Mesosalpinx bezeichnet (Dyce et al., 1991).

Der ovarnahe Abschnitt des Ovidukts wird seiner Gestalt entsprechend Eileitertrichter (Infundibulum) genannt (Becze et al., 1982). Seine Trichterform weist eine leichte Asymmetrie auf (Yaniz et al., 2006). Das Infundibulum umgibt das Ovar beim Schwein vollständig (Nalbandov, 1969). An seiner medialen Seite setzt das Mesosalpinx an, auf seiner lateralen Seite das *Ligamentum infundibulocornuale*. Die weite, zur Bauchhöhle hin offene, proximale Öffnung wird als *Ostium abdominale* bezeichnet. In diesem Bereich ist die Schleimhautfältelung spärlich. Sie besteht aus zahlreichen kleinen Strängen, die im distalen, engen Bereich des Eileitertrichters in komplexe, gewundene Längsfalten übergehen (Yaniz et al., 2006). Der Rand des Infundibulums ist mit Fimbrien besetzt (Becze et al., 1982).

An das Infundibulum schließt sich der Abschnitt der Ampulle an. Diese hat einen Durchmesser von 6-8 mm und stellt damit, nach dem Eileitertrichter, den weitesten Abschnitt des Ovidukts dar (Becze et al., 1982). Außerdem weist die Ampulle die stärkste Schleimhautfältelung auf, welche zudem beim Schwein besonders komplex gestaltet ist. Wellenförmige, aus dem Infundibulum zusammenlaufende Falten formieren prominente Primärfalten mit zahlreichen Vertiefungen in ihrer Oberfläche. Sekundäre sowie tertiäre Falten, die teilweise ineinander übergehen oder wieder verschwinden, kommen häufig vor. Verschmelzen die Sekundärfalten mit benachbarten Primärfalten bilden sich zahlreiche Taschen aus. Im distalen Bereich der Ampulle nimmt die Höhe der Primärfalten ab (Yaniz et al., 2006).

Der Übergang von der Ampulle zum Isthmus wird als ampulla-isthmus junction (AIJ) bezeichnet (Nalbandov, 1969). Die Eileiterschleimhaut in diesem Bereich weist Primärfalten mit zahlreichen Sekundärfalten auf, die ein ausgedehntes Netzwerk von Falten mit moderater Größe bilden. In den Bereichen zwischen den Primärfalten finden sich zahlreiche kleine, irregulär verlaufende Falten die, wie in der Ampulle, Vertiefungen und Taschen in der Schleimhaut begrenzen (Yaniz et al., 2006).

Der nächste sich angliedernde Teil des Eileiters wird Isthmus genannt. Er ist deutlich enger als die Ampulle, sein Durchmesser beträgt beim Schwein ca. 2-3 mm (Nalbandov, 1969). Hier findet man niedrige Primärfalten der luminalen Schleimhaut, die weitgehend gerade oder mit leichten Windungen verlaufen. Die sekundären Falten verschmelzen regelmäßig mit den benachbarten Primärfalten (Yaniz et al., 2006).

Der Isthmus mündet auf der Mesenterialseite in den kranialen Anteil des entsprechenden Uterushornes. Die Eintrittsstelle wird als utero-tubaler Übergang (utero-tubal junction, UTJ) bezeichnet (Rigby, 1965). Er ist beim Schwein durch prominente Schleimhautfalten gekennzeichnet, die einen Verschlussmechanismus darstellen (Fléchon und Hunter, 1981; Hunter et al., 1987). Es handelt es sich dabei um 6-12 primäre Längsfalten, die mit fingerartigen Fortsätzen enden und zum Uterus hin deuten. Während des Östrus sind diese besonders stark ausgeprägt. In den Bereichen zwischen den Falten im oberen Bereich der UTJ sind zahlreiche niedrige Taschen lokalisiert (Hook und Hafez, 1968; Hafez und Black, 1969; Yaniz et al., 2006). Ein Sphinkter an der UTJ ist beim Schwein nicht vorhanden (Hafez und Black, 1969).

2.2.2 Gefäßversorgung des Ovidukts

Arterien

Die arterielle Blutzufuhr des Eileiters wird von der *Arteria (A.) ovarica* übernommen (Del Campo und Ginther, 1973). Diese entspringt beim Schwein in Höhe des fünften Lendenwirbels (LW) paarig aus der Aorta (Wilkens und Münster, 1976). Die *A. ovarica* teilt sich ca. 60 mm vor dem Ovar in zwei prominente Äste auf. Diese haben einen relativ geraden Verlauf. Einer dieser Äste verzweigt sich wiederum in einen Gefäßast für das Ovar und mehrere für die Versorgung des *Ligamentum latum*, der *Bursa ovarica* und schließlich einen für die Versorgung des Ovidukts (Del Campo und Ginther, 1973). Letzterer wird als *Ramus tubarius* bezeichnet und verläuft im Mesosalpinx (Wilkens und Münster, 1976).

Venen

Der *Ramus tubarius* der *Vena (V.) ovarica* mündet zusammen mit zahlreichen anderen venösen Gefäßen von Ovar und Uterus in die *V. ovarica*. Nachdem sich diese Gefäße zu einem ca. 20-40 mm langen Stamm vereinigt haben, mündet dieser in die *Vena cava caudalis* (Del Campo und Ginther, 1973). Die Eintrittsstelle der *V. ovarica* in die *Vena cava caudalis* liegt auf Höhe des Ursprungs der *A. ovarica* aus der *Aorta abdominalis* (Oxenreider et al., 1965).

Lymphgefäße

Nach den Untersuchungen von Andersen (1927) findet man bei Schweinen einen subepithelialen und einen subserösen Plexus, wobei letzterer nur im Bereich des Isthmus und der UTJ deutlich ausgeprägt ist. Beide münden in einen zwischen Ring- und Längsmuskulatur gelegenen weiteren Plexus. Insgesamt ist die lymphatische Versorgung im distalen Abschnitt des Eileiters (Isthmus, UTJ) besser ausgeprägt und reicht bis in den angrenzenden Teil des jeweiligen Uterushorns mit hinein.

Schon Andersen (1927) berichtete über zyklusabhängige Veränderungen in der lymphatischen Versorgung. So weisen die Lymphgefäße von Isthmus und Ampulle in der Follikelphase einen um das Doppelte erweiterten Durchmesser auf. Spätere Untersuchungen am Lymphsystem des Isthmus bestätigen diese Befunde (Doboszynska et al., 1999). Im Gegensatz dazu zeigen die Lymphgefäße der UTJ und des angrenzenden Uterushorns ihre stärkste Entwicklung an den Tagen 8-14 im Zyklus, wenn die Gelbkörper ausgereift sind (Andersen, 1927).

Neuere Untersuchungen beschreiben einen paraovariellen lymphatischen Plexus, der von Lymphgefäßen aus dem Uterushorn (Gawronska et al., 1997) und dem Ovidukt (Doboszynska et al., 1999) gebildet wird, und im *Ligamentum latum* verläuft. Aus dem Ovidukt treten zwei bis drei klappentragende Lymphgefäße aus, die zu denen des Ovars ziehen und mit diesen in die *Lymphonodi (Lnn.) iliaci mediales* einmünden. Lediglich ein Gefäß zieht zu den *Lnn. lumbales aortici* (Baum und Grau, 1938; Vollmerhaus, 1976).

2.2.3 Nervenversorgung des Ovidukts

Wie die anderen Abschnitte des weiblichen Reproduktionstraktes wird der Eileiter durch sympathische und parasympathische Nervenbahnen des vegetativen Nervensystems versorgt.

Zusammen mit dem Ovar und dem kranialen Anteil des Uterushorns wird der Eileiter vom so genannten *Plexus (Pl.) ovaricus* innerviert. Dieser wird von sympathischen Nervenfasern gebildet, die dem Verlauf der *A. ovarica* folgend in Nervengeflechte ziehen, die aus dem *Pl. mesentericus caudalis* und dessen Ganglion entspringen. Die Ganglien des *Pl. ovaricus* und des *Pl. mesentericus caudalis* sind beim Schwein verschmolzen (Nickel et al., 1992). Die sympathischen Anteile der autonomen Nervenversorgung des Eileiters kommen außer vom *Pl. ovaricus* auch vom *Pl. hypogastricus*. Die meisten Fasern des

Nervus hypogastricus sind unmyelinisiert, was impliziert, dass sie postganglionären Ursprungs sind (Brudin, 1969). Die präganglionären sympathischen Fasern für den Eileiter und das Ovar entspringen aus den Lumbalsegmenten (L) 1-L3.

Untersuchungen über die sympathische Innervation des Ovidukts zeigen bei verschiedenen Spezies, dass die zirkuläre Muskelschicht des Isthmus sehr stark von adrenergen bzw. noradrenergen Nerven innerviert ist, welche es dem Organ erlauben im Sinne eines Sphinkters zu agieren (Brudin, 1969; Sporrang et al., 1982, Rodriguez-Martinez, 1984). Noch deutlicher konnte dies an der AIJ und an der UTJ nachgewiesen werden (Owman und Sjöberg, 1966; Rodriguez-Martinez et al., 1982b). Im Gegensatz dazu ist die *Tunica muscularis* der Ampulle und des Infundibulums wesentlich weniger stark adrenerg innerviert (Brudin, 1969; Rodriguez-Martinez et al., 1982b). Noradrenalin wirkt in Abhängigkeit von Eileiterabschnitt, Muskellage und vorherrschendem Steroidhormonspiegel entweder kontrahierend oder relaxierend (Croxatto, 2002; Kotwica et al., 2003). Zudem wird vermutet, dass die Katecholamine an der Regulation der sekretorischen Aktivität des Ovidukts beteiligt sind (Einspanier et al., 1999).

Die parasympathischen Kerne für das Ovidukt und das Ovar liegen in der *Medulla oblongata* und dem Sakralsegment (S) 2 des Rückenmarks (Nickel et al., 1992). Untersuchungen bei Kaninchen zeigten, dass innerhalb des Ovidukts im Bereich des Isthmus die höchste Dichte an cholinergen Fasern vorliegt (Kraus et al., 1991). Beim Rind wurde nachgewiesen, dass Acetylcholin in der folliculären und frühen lutealen Zyklusphase Kontraktionen von Ampulle und Isthmus stimuliert (Kotwica et al., 2003). Afferente Fasern werden über Spinalganglien vom Thorakalsegment (Th) 10-L3 in das Rückenmark geleitet (Nickel et al., 1992).

2.3 Mikroskopische Anatomie

Die äußerste Schicht des Eileiters ist die *Tunica serosa*, die aus dem einschichtigen Mesothel gebildet wird. Dieses besteht aus Epithelzellen mit einem abgeflachten bis kubischen Erscheinungsbild. Im Bereich von Ampulle und Isthmus kommen auch zylinderförmige Epithelzellen vor (Yaniz et al., 2007). Die *Tunica serosa* liegt auf einer dünnen Schicht von lockerem Bindegewebe, die von einigen Autoren als *Tela subserosa* bezeichnet wird (Junqueira und Carneiro, 1986; Liebich, 1999). In die *Tela subserosa* sind

neben größeren Gefäßen auch glatte Muskelfasern eingelagert (Blandau, 1978; Hees, 2000). Diese bilden einen kranial gelegenen Längszug sowie mehrere schräg verlaufende Muskelstränge, die Lageveränderungen des Eileiters, z.B. bei der Ovulation, möglich machen. In diesem Zeitraum stülpt sich der Eileitertrichter über das Ovar und führt leicht drehende Bewegungen aus (Hees, 2000). Des Weiteren liegen große Nervenbündel im Bereich der *Tela subserosa* (Nalbandov, 1969).

Die nächste Schicht wird *Tunica muscularis* genannt. Man kann innerhalb dieser Schicht innere, zirkulär und äußere, longitudinal verlaufende Muskellagen unterscheiden (Nalbandov, 1969). Die UTJ besitzt eine kräftige *Tunica muscularis*, bei der die zirkulär verlaufende Muskelschicht kräftiger ausgebildet ist (Hook und Hafez, 1968). Kranial weist der Bereich des Isthmus die am stärksten ausgeprägte *Tunica muscularis* auf. Diese wird zur Ampulle und zum Infundibulum hin erheblich dünner (Nilsson und Reinius, 1969; Blandau, 1978). Im proximalen Bereich des Ovidukts wird die Differenzierung der einzelnen Muskellagen immer schwieriger (Blandau, 1978). Sowohl im Bereich der Ampulle, wie auch im Isthmus, sind zwischen die einzelnen Muskelzellbündel reichlich Kollagenfasern eingelagert, im Isthmus sind die Muskelzellen jedoch dichter gepackt. Untersuchungen der Ultrastruktur der glatten Muskelzellen des Ovidukts zeigen, dass in der folliculären Phase wesentlich mehr Zellorganellen, wie glattes und raues endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparat und Vesikel vorhanden sind, als in der lutealen Phase. (Fujii et al., 1990). Wie im Kapitel „Makroskopische Anatomie“ bereits beschrieben, sind in die Muskelschichten Nerven, Lymph- und Blutgefäße eingelagert.

Die *Tunica mucosa* ist die lumenseitige Auskleidung des Eileiters. Sie wird untergliedert in die *Lamina propria mucosae* und die *Lamina epithelialis mucosae*.

Die *Lamina propria mucosae* ist die bindegewebige Grundlage der Schleimhautfalten (Nilsson und Reinius, 1969). Dies gilt sowohl für die einzelnen Abschnitte des Eileiters, wie auch für die UTJ, bei welcher die Bindegewebsschicht prominente Schleimhautfortsätze ausbildet (Hook und Hafez, 1968). Insbesondere in diesem Bereich ist sie sehr stark von einem Gefäßplexus vaskularisiert, welchem eventuell die Funktion eines erektilen Gewebes zugeschrieben werden kann (Wrobel et al., 1993). Die *Lamina propria mucosae* wird, vor allem im proximalen Teil des Eileiters häufig von Lymphozyten und Plasmazellen infiltriert (Jiwakanon et al., 2005).

Die *Lamina propria mucosae* ist im gesamten Eileiter von der *Lamina epithelialis mucosae*, dem Schleimhautepithel, überzogen (Nilsson und Reinius, 1969). Es handelt sich dabei um ein einschichtiges, hochprismatisches Epithel (Nalbandov, 1969). Dieses kann in

der Ampulle und dem Infundibulum insbesondere während des Östrus eine Mehrreihigkeit vortäuschen, da die Zellkerne auf unterschiedlichem Niveau lokalisiert sind (Smollich und Michel, 1992; Jiwakanon et al., 2005). In dem Schleimhautepithel sind zwei Zelltypen zu unterscheiden: zum einen zilientragende und zum anderen nicht-zilientragende oder auch sekretorische Zellen (Wu et al., 1976; Buhi et al., 1997; Abe und Hoshi, 2007). Die Oberfläche der zilientragenden Zellen ist mit Kinozilien besetzt, die in das Lumen des Eileiters hervortreten, die der sekretorischen Zellen mit Mikrovilli (Eriksen et al., 1994). Lichtmikroskopisch unterscheiden sich die beiden Zellarten auch in Bezug auf Kern und Zytoplasma. So färbt sich das Letztere bei den Zilienzellen blasser an und sie besitzen einen annähernd runden Kern, der in der Mitte der Zelle lokalisiert ist (Hook und Hafez, 1969, Eriksen et al., 1994). Dieser ist bei den sekretorischen Zellen schlank bis oval und in den unteren drei Vierteln der Zelle gelegen. Das Zytoplasma ist vor allem im apikalen Teil der Zelle dunkel angefärbt und enthält Granula (Hook und Hafez, 1969). Die sekretorischen Zellen produzieren und sezernieren eine Flüssigkeit, welche die Ernährung der Gameten und der frühen Embryonen sicherstellt (Hamner und Fox, 1969). Neben diesen beiden Zellarten werden außerdem noch so genannte Stiftchenzellen oder „peg cells“ beschrieben. Sie besitzen einen flachen, kompakten Kern und kaum Zytoplasma (Horstmann und Stegner, 1966; Stalheim et al., 1975). In der Literatur ist man sich soweit einig, dass es sich bei diesen Zellen um keine weitere Zellart an sich handelt. Sie werden heute als degenerierte (Bullón et al., 1980) bzw. kollabierte Epithelzellen (Junqueira und Carneiro, 1986) angesehen. Bei den auf der Basalmembran liegenden kleinen runden Zellen, die von verschiedenen Autoren als indifferente oder Basalzellen beschrieben werden, handelt es sich um intraepitheliale T-Lymphozyten (Comer et al., 1998).

Das Verhältnis von zilientragenden zu sekretorischen Zellen ist sowohl abhängig von der Lokalisation im Eileiter als auch vom Zyklusstand. So sind in der Region um die UTJ im Vergleich zu Isthmus, Ampulle und Infundibulum, weniger zilientragende Zellen zu sehen (Wu et al., 1976). Verschiedene Studien (Wu et al., 1976; Abe und Oikawa, 1992; Jiwakanon, 2005; Yaniz, 2006) zeigen, dass morphologische Veränderungen im Schleimhautepithel während des Zyklus im Bereich des Infundibulums und der Ampulle deutlicher sind als im Isthmus.

Während des Östrus findet man in den erstgenannten Abschnitten zu 80 % Zilienzellen (Buhi et al., 1997), die einen dichten Kinozilienbesatz aufweisen. Die Zellhöhe der sekretorischen Zellen entspricht im Allgemeinen der der Zilienzellen. Ihre Oberfläche ist im Metöstrus häufig gerundet und es können vereinzelt niedrige Zytoplasmaprotrusionen

vorliegen (Eriksen et al., 1994). Im selben Zeitraum dominieren im Bereich des Isthmus und der UTJ die sekretorischen Zellen (Abe und Oikawa, 1992). Nach Ergebnissen von Buhi et al. (1997) erlangen im Bereich der Ampulle und des Isthmus sowohl die Zilienzellen, wie auch die sekretorischen Zellen unter Östrogendominanz ihre maximale Zellhöhe. Ebenfalls durch Steroidhormone beeinflusst wird die Anzahl der sekretorischen Granula. Sie ist während Östrus und Metöstrus deutlich erhöht (Eriksen et al., 1994; Buhi et al., 1997).

Die Zilienzellen im Bereich der Ampulle, sind unter der Progesterondominanz niedriger und nehmen erst im Proöstrus wieder an Höhe zu (Buhi et al., 1997). Die sekretorischen Zellen weisen im Diöstrus zahlreiche Protrusionen auf, die deutlich über die Oberfläche der zilientragenden Zellen hervortreten. Oftmals sind diese Protrusionen lediglich über einen schmalen Zytoplasmastrang mit der Zelle verbunden. Sie enthalten Mitochondrien, raues endoplasmatisches Retikulum und Polyribosomen. Teilweise befindet sich auch der Zellkern innerhalb dieser Protrusionen. Es wird angenommen, dass diese Vorgänge im Rahmen der Zellmauser bzw. Zellerneuerung ablaufen (Eriksen et al., 1994; Walter und Bavdek, 1997). Die sekretorischen Zellen im Bereich des Isthmus und der UTJ sind im Diöstrus flacher und tragen weniger und kürzere Mikrovilli (Abe und Oikawa, 1992). Der Prozentsatz der zilientragenden Zellen in der Ampulle und dem Infundibulum geht während des Diöstrus zurück, der der sekretorischen Zellen steigt von ca. 20 % auf 50 % an. Im Isthmus sind im Verlauf des Zyklus keine prozentualen Veränderungen im Verhältnis der beiden Zellarten zueinander zu beobachten (Buhi et al., 1997).

Über Veränderungen des Eileiterepithels vom Schwein während der Trächtigkeit liegen nur wenige Studien vor. Nach Nayak et al. (1976) entspricht das Erscheinungsbild des Eileiterepithels während der Trächtigkeit dem der lutealen Phase des Zyklus. Die sekretorischen Zellen weisen prominente, apikale zytoplasmatische Protrusionen auf und auch ausgestoßene Zellkerne liegen frei im Eileiterlumen vor.

2.4 Physiologie des Ovidukts

Der Eileiter sorgt für die Aufnahme der ovulierten Eizellen, deren Transport zum Ort der Befruchtung und weiter in den Uterus. Außerdem leitet er die Spermien vom utero-tubalen Übergang durch den Isthmus ebenfalls zum Ort der Befruchtung (Blandau, 1969; Becze et

al., 1982). Eine damit verbundene wichtige Funktion des Ovidukts ist die Ernährung der Eizellen und Spermien durch die Eileiterflüssigkeit (Hamner und Fox, 1969). Diese stellt ein Milieu dar, in welchem die Gameten nicht nur überleben können, sondern die Kapazitation der Spermien sowie deren Akrosomenreaktion möglich werden (Ascher et al., 1986). Zudem tragen die Inhaltstoffe der Eileiterflüssigkeit dazu bei, dass die Befruchtung und die frühe embryonale Entwicklung stattfinden kann (Leese et al., 2001), da diese in den ersten 48-72 Stunden der Trächtigkeit im Ovidukt abläuft (Bazer et al., 2001). Der Eileiter stellt dafür die optimale Umgebung zur Verfügung, im Sinne von optimalen Temperatur- und pH-Werten, osmotischem Druck, Nährstoffen, Sauerstoffdruck, und anderen Faktoren (Buhi et al., 1997).

Die sekretorischen Zellen der Eileiterschleimhaut sezernieren aktiv Flüssigkeit in das Lumen des Eileiters (Abe, 1996), deren Inhaltstoffe regional und in Abhängigkeit vom Zyklusstand variieren (McCauley et al., 2003). Die zelluläre Aktivität ist im Infundibulum und der Ampulle zu jedem Zeitpunkt zwei- bis dreimal größer als im Isthmus (Buhi et al., 1997). Durch die Einwirkung von Östrogenen kommt es zu einer vermehrten Synthese und Sekretion von oviduktspezifischen Proteinen (McCauley et al., 2003). Diese, in sekretorischen Granula produzierten Glykoproteine (Buhi et al., 1997), spielen eine wichtige Rolle beim Spermien- und Eizellentransport, bei der Spermienkapazitation, der Fertilisation, der frühembryonalen Zellteilung, bei der Verzögerung der Digestion der *Zona pellucida* und bei der Unterdrückung des maternalen Immunsystems. Allerdings sind noch nicht alle Funktionen vollständig bekannt (Buhi et al., 1990). Neben diesen oviduktspezifischen Proteinen sind in der Eileiterflüssigkeit weitere Proteine enthalten, die als Transsudat dem Serum entstammen. Es handelt sich vor allem um Enzyme und Proteine wie Albumin, Transferrin und verschiedene Immunglobuline, die jedoch in niedrigerer Konzentration als im Serum vorliegen (Buhi et al., 1997).

Wichtig sind außerdem die energieliefernden Verbindungen, die den Gameten und den Embryos vom Ovidukt zur Verfügung gestellt werden. Hierzu zählen Glukose, Fruktose, Laktat, Pyruvat, Glukose-G-Phosphat, Fruktose-1,6-diphosphat und Verbindungen aus der Glykolyse und dem Zitratzyklus (Becze et al., 1982). Daneben sind noch verschiedene ein- und zweiwertige Ionen in der Eileiterflüssigkeit enthalten (Borland et al., 1977). Aminosäuren sind essentieller Bestandteil der Eileiterflüssigkeit. Sie unterstützen die Entwicklungsfähigkeit der Gameten, bzw. Embryos und tragen so dazu bei, dass Befruchtung und frühembryonale Entwicklung möglich werden (Nancarrow und Hill, 1995; Boatman, 1997).

Durch Sekretion des Epithels und durch Transsudation aus dem Serum kommt es zur Anreicherung von Wachstumsfaktoren in der Eileiterflüssigkeit. Dabei handelt es sich vor allem um epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor α (TGF α) sowie insulin-like growth factor-I und -II (IGF-I und -II) (Buhi et al., 1997).

Auf die speziellen, damit zusammenhängenden Funktionen des Eileiters wird im Folgenden anhand der ascendenten und deszendenten Funktionsrichtung näher eingegangen (Becze et al., 1982).

Aszendente Funktionsrichtung:

Durch Begattung oder künstliche Besamung werden beim Schwein mehrere Millionen von Spermatozoen im Uterus deponiert (Blandau, 1969). Lediglich Tausende von Spermien aus der ersten, spermienreichen Fraktion des Ejakulates sind anschließend im Bereich des kaudalen Isthmus nachweisbar (Suarez et al., 1997; Rodriguez-Martinez et al., 2005). Zu einem großen Teil wird ihre Zahl durch den Rückfluss des Ejakulats über die Zervix minimiert (Hunter, 1975). Die zweite Fraktion des Ejakulats enthält große Mengen an Spermadhäsin PSP-I/-II, welches chemotaktisch auf Leukozyten wirkt und so die Phagozytose der Spermien fördert (Rodriguez-Martinez et al., 2005).

Ein echtes Hindernis für die Passage der Spermien in Richtung Eileiter bildet der utero-tubale Übergang mit seinen polypenartigen Fortsätzen, die ins Lumen ragen (Blandau, 1969). Er wirkt wie eine mechanische Klappe, die den Übertritt von Flüssigkeit aus dem Uterus in den Eileiter verhindert (Blandau, 1969) sowie den Eintritt der befruchteten Eizellen in den Uterus kontrolliert (Hafez und Black, 1969). Zudem wird dadurch der Spermientransport in den Eileiter limitiert (Fléchon and Hunter, 1981) und die Voraussetzung für die phagozytotischen Aktivitäten geschaffen.

Der kaudale Isthmus bildet ein funktionelles Spermienreservoir, in welchem die Spermatozoen, die den utero-tubalen Übergang passieren konnten, festgehalten und gespeichert werden (Hunter et al., 1980; Fléchon und Hunter, 1981). Sie bleiben beim Schwein für ca. 24 Stunden in diesem Bereich und verlassen ihn dann nach und nach im Laufe der folgenden 48 Stunden (Blandau, 1969). Das Reservoir entsteht durch die Fähigkeit der Epithelzellen unkapazitierte und noch nicht hyperaktivierte Spermatozoen zu binden, indem spezifische Kohlenhydrat-Proteininteraktionen zwischen Zilien und Spermien stattfinden (Fléchon und Hunter, 1981; Fazeli et al., 1999; Perez et al., 2006).

Präovulatorisch werden im Isthmus Mukopolysaccharide gebildet (Rodriguez-Martinez et al., 2001) und im Östrus sezerniert das Eileiterepithel zusätzlich große Mengen von

viskösen Glykoproteinen, die sich im engen Lumen des kaudalen Isthmus anreichern und beim Schwein einen Sekretpfropf bilden. Dies verhindert den Übertritt von Flüssigkeit aus der Ampulle oder dem Uterus in den Bereich des Spermienreservoirs und damit die vorzeitige Steigerung des Metabolismus und der Motilität der Spermien. Zusätzlich fördert das muköse Sekret die Entfernung von Resten des Seminalplasmas von der Spermienoberfläche und dirigiert die Spermatozoen in Richtung des Epithels. Ihre Beweglichkeit wird durch das hochvisköse Sekret reduziert (Hunter, 2002). Ein weiterer Faktor, der dazu beiträgt, dass sich das Reservoir in diesem Bereich etabliert, ist ein Temperaturunterschied. Im Isthmus ist die Temperatur im periovulatorischen Zeitraum um 0,75 °C geringer als in der Ampulle. Nach der Ovulation kann dieser Unterschied nicht mehr nachgewiesen werden (Hunter und Nichol, 1986).

In diesem funktionellen Spermienreservoir finden die Spermienkapazitation und die Hyperaktivierung statt (Rodriguez-Martinez et al., 2001). Die bei der Kapazitation ablaufenden Veränderungen am Akrosom ermöglichen es den Spermien, in die Eizellen einzudringen und an deren *Zona pellucida* zu binden (Bazer et al., 2001). Es handelt sich dabei um einen komplexen Vorgang, bei welchem starke Modifikationen an der Plasmamembran der Spermien ablaufen. Das betrifft die Struktur und Konzentration von Proteinen, Steroiden und Phospholipiden (Yanagimachi, 1990). Der Vorgang dauert ca. 1-2 Stunden (Becze et al., 1982). Lipidbindende Komponenten wie das Albumin aus der Eileiterflüssigkeit extrahieren Cholesterin aus der Spermienmembran (Davis et al., 1980; Visconti et al., 1999). Sie wird so durchlässiger und extrazelluläres Ca^{2+} kann einströmen (Visconti und Kopf, 1998). Dieses ist notwendig für die Hyperaktivierung und um den Prozess der Kapazitation zu vervollständigen (Suarez, 1996). Zusätzliche Veränderungen an der Lipidstruktur der Plasmamembran werden beim Schwein durch das in der Eileiterflüssigkeit enthaltene Bicarbonat verursacht (Gadella und Harrison, 2000; Rodriguez-Martinez et al., 2001). Diese für die Kapazitation notwendigen Vorgänge reduzieren durch die Destabilisierung der Plasmamembran die Lebensdauer der Spermatozoen und führen zum Zelltod, falls es nicht zur Befruchtung kommt (Harrison, 1996). Untersuchungen von Schweinen im präovulatorischen Zeitraum indizieren, dass die Speicherung der Spermien im Eileiteristhmus die Kapazitation verzögern kann (Rodriguez-Martinez et al., 2001). Bei dieser Unterdrückung der Kapazitation handelt es sich um eine notwendige Speicherstrategie während des langen präovulatorischen Intervalls (Hunter und Rodriguez-Martinez, 2004). Durch die Adhäsion wird die Lebensfähigkeit verlängert, der Ca^{2+} -Einstrom unterdrückt und Destabilisierungsvorgänge verlangsamt (Petrunkina et al.,

2001). Das Ovidukt spielt also eine zentrale Rolle in der Koordination der endgültigen Reifung der Spermien und dem Zusammentreffen der männlichen und weiblichen Gameten (Hunter und Rodriguez-Martinez, 2004).

Um den Zeitpunkt der Ovulation setzt sich der kontrollierte Aufstieg der Spermien durch den Isthmus in Richtung AIJ fort (Bazer et al., 2001; Rodriguez-Martinez et al., 2001). Für das Ablösen vom Epithel werden verschiedene Ursachen diskutiert. Vermutlich sind die vollständige Kapazitation und Hyperaktivierung entscheidende Faktoren (Suarez et al., 1991). Systemische und lokale ovarielle Einflüsse, v.a. der Wechsel von der östrogen dominierten präovulatorischen Phase zur steigenden Sekretion von Progesteron nach der Ovulation und vermutlich auch das in der Follikelflüssigkeit enthaltene Progesteron spielen dabei eine zentrale Rolle. Es wirkt auf die Isthmusschleimhaut ein und führt dort zu einer Schwächung der Bindungsreaktionen (Hunter et al., 1999; Hunter und Rodriguez-Martinez, 2004; Hunter, 2008). Hinzu kommen noch Kontraktionen der *Tunica muscularis* (Suarez et al., 1991). Entlang des Isthmus in Richtung Ampulle besteht ein Spermigradient (Hunter, 2005). So gelangen von den mehreren tausend im kaudalen Isthmus enthaltenen Spermien nur zwischen 10-100 in die Ampulle, um einer Polyspermie entgegenzuwirken (Bazer et al., 2001). Transportiert werden sie durch den Isthmus hauptsächlich durch dessen Muskelkontraktionen (Blandau, 1969), die durch Oxytocin aus der Neurohypophyse und Prostaglandinen aus dem Ejakulat hervorgerufen werden (Schnorr, 1996).

Bevor die Spermien an den Ort der Befruchtung im distalen Teil der Ampulle gelangen können, müssen sie zuerst durch die AIJ. An dieser Stelle kommt es im Östrus zu einer Verengung des Übergangs von der Ampulle zum Isthmus. Dieser funktionelle Sphinkter tritt unter starker Östrogendominanz auf und ist effektiv genug, die Eizellen zurückzuhalten, die Spermien aber hindurch zu lassen. Dieses Phänomen wird auch als „tube-locking“ bezeichnet (Blandau, 1969; Becze et al., 1982).

Deszendente Funktionsrichtung:

Zum Zeitpunkt der Ovulation zeigt das Infundibulum eine starke Motilität (Nalbandov, 1969). Die Rolle der Fimbrien bei der Aufnahme der ovulierten Eizellen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Eine „Vakuumtheorie“ (Westmann, 1952; Austin, 1963) die besagt, dass im Eileiterlumen ein negativer Druck herrscht, der die ovulierten Eizellen in den Eileiter saugt, konnte bisher nicht nachgewiesen werden. Bereits ältere Studien stellen die Vermutung auf, dass es durch den Zilienschlag der Zellen der Fimbrienschleimhaut zu

einem Flüssigkeitsstrom kommt, der die Eizellen in den Eileiter spült (Blandau, 1969). Neuere Studien bestätigen, dass es durch den gerichteten Zilienschlag zu einem Flüssigkeitsstrom kommt, zeigen jedoch auch, dass dieser alleine nicht ausreichend ist, um die Eizellen aufzunehmen und weiter zu transportieren. Diese Vorgänge sind abhängig vom Zilienschlag und der Adhäsion des Eizellen-Kumuluskomplex an den Spitzen der Zilien des Infundibulums (Blandau, 1978; Norwood et al., 1978; Talbot et al., 1999).

Eizellen, die vom Infundibulum aufgenommen wurden, werden anschließend innerhalb weniger Minuten durch die Eileiterampulle bis vor den Bereich der AIJ transportiert (Blandau, 1969). Heftige rhythmische Kontraktionen der Ampulle tragen dazu bei, dass die Eizellen an diese Stelle gelangen (Rodriguez-Martinez et al., 1982a). Es wurde beobachtet, dass der Zilienschlag der Zilienzellen an der AIJ dazu führt, die Eizellen in Rotation zu halten. Dadurch wird gewährleistet, dass sie den in der Eileiterschleimhaut enthaltenen Nährstoffen gleichmäßig zugänglich gemacht werden (Blandau, 1969). Während des Transports der Eizellen zum Ort der Befruchtung, werden diese von den sie umgebenden Kumuluszellen befreit. Die Kumuluszellen bleiben zum Teil durch Adhäsion an den Zilien hängen (Talbot et al., 1999). Zusätzlich trägt vermutlich auch die aus defekten Spermien freigesetzte Hyaluronidase dazu bei, dass die Eizellen von den Kumuluszellen gelöst werden und die *Zona pellucida* der Eileiterflüssigkeit zugänglich gemacht wird (Rodriguez-Martinez et al., 2001). Darin enthaltene oviduktspezifische Glykoproteine spielen eine wichtige Rolle, indem sie an die Plasmamembran der Eizellen binden. Durch die Adhäsion an die *Zona pellucida* reduzieren sie die Bindungsmöglichkeiten für Spermien und tragen damit zur Verhinderung der Polyspermie bei (McCauley et al., 2003). In der postovulatorischen Phase laufen im Isthmus hochfrequente und kräftige Kontraktionen ab, die das Lumen verengen und in Verbindung mit der geringen muskulären Aktivität der Ampulle dazu beitragen, die Eizellen an dieser Stelle zurückzuhalten (Rodriguez-Martinez et al., 1982a), wo sie bereits von den kapazitierten Spermien erwartet werden. Durch die Verschmelzung der haploiden Gameten entstehen die diploiden Zygoten, die nach Umkehr der Tubenperistaltik und Öffnung des Sphinkters, uteruswärts transportiert werden (Becze et al., 1982). In der Literatur werden zahlreiche Hormone für die Kontrolle des Gameten- und Eizellentransports diskutiert (Boling und Blandau, 1971). Neben den Steroidhormonen wird auch hypophysären Hormonen wie LH (Ziecik et al., 2005) und Oxytocin (Janković et al., 2001) eine Rolle zugesprochen.

Der Transport der Eizellen durch das Ovidukt dauert beim Schwein im Mittel 90-108 Stunden (Oxenreider und Day, 1965). Die befruchteten Eizellen werden in der Regel im 4-Zell-Stadium in den Uterus abgegeben (Bazer et al., 2001).

2.5 Extrahypophysäre Expression von Hypophysenhormonen und die Verteilung ihrer Rezeptoren

2.5.1 Allgemeines

In der Vergangenheit wurde die Expression verschiedener Hypophysenhormone immer wieder außerhalb der klassischen Syntheseorte nachgewiesen. Ebenso finden sich ihre Rezeptoren häufig außerhalb der Hauptwirkungsorte.

Es ist bekannt, dass die vielfältigen Vorgänge im weiblichen Genitaltrakt der Kontrolle zahlreicher, unter anderem auch hypophysärer Hormone unterliegen. Somit werden auch die komplexen Funktionen des Eileiters, z.B. in Bezug auf Motilität und Sekretionsleistung, von hypophysären Hormonen mit beeinflusst.

Luteinisierendes Hormon (LH) und Follikel-stimulierendes Hormon (FSH)

Die in der Adenohypophyse gebildeten, glandotropen Hormone LH und FSH sind hypophysäre Gonadotropine, welche klassischerweise die Funktion der Gonaden regulieren (Bamberg, 1987; Ulloa-Aguirre und Timossi, 1998). Beim weiblichen Tier bewirkt FSH die Ausbildung von zahlreichen Follikeln im Ovar (Bamberg, 1987). LH fördert die Produktion von Androgenen durch die Thekazellen der Follikel. Dieses stellt das Substrat für die Östrogenproduktion in den Granulosazellen der Follikel dar, welche unter der FSH-Einwirkung LH-Rezeptoren ausbilden (Lévy et al., 2000; Shemesh, 2001). Bis zu diesem Zeitpunkt wirken FSH und LH synergistisch auf Follikelreifung, Erhöhung der Granulosazellaktivität und Inhibinproduktion (Lévy et al., 2000). Anschließend an die FSH-Einwirkung löst LH die Ovulation aus (Bamberg, 1987) und hält die Produktion von Progesteron durch das *Corpus luteum* aufrecht (Shemesh, 2001).

Innerhalb des weiblichen Reproduktionstrakts sind Rezeptoren für die Gonadotropine auch außerhalb dieser „traditionellen“ Wirkungsorte nachgewiesen: Sie finden sich im Endometrium (Reshef et al., 1990), im Myometrium (Ziecik et al., 2001), in den uterinen Gefäßen, in der Zervix und im Ovidukt (Shemesh, 2001). Das Vorkommen von LH-

Rezeptoren im Eileiter des Schweins ist in der Mukosa, der Muskularis und den Blutgefäßen nachgewiesen. Ihre Synthese wird durch Östrogene gefördert (Gawronska et al., 1999). So können LH-Rezeptoren vermehrt in der folliculären und frühen lutealen Zyklusphase nachgewiesen werden (Derecka et al., 1995). LH führt, besonders im periovulatorischen Zeitraum, zu einer Relaxation des Eileiters (Gawronska et al., 1999). Des Weiteren konnten nachgewiesen werden, dass LH über seine Rezeptoren in der Schleimhaut des Ovidukts die Produktion von oviduktspezifischen Glykoproteinen stimuliert (Sun et al., 1997). Gonadotropine sind somit in der Lage den Transport, die Reifung und Befruchtung der Eizellen und die frühembryonale Entwicklung zu beeinflussen (Zheng et al., 1996).

Für das Gonadotropin-Releasing Hormon (GnRH) konnte eine extrahypothalamische Expression und Rezeptoren in verschiedenen Geweben des Reproduktionstrakts wie Ovar, Endometrium und auch in den Trophoblasten gefunden werden (Raga et al., 1998, Shemesh, 2001, Ramakrishnappa et al., 2005). Im Eileiter sind sowohl die Expression von GnRH wie auch das Vorkommen GnRH-Rezeptoren nachgewiesen, was auf eine autokrine/parakrine Wirkungsweise deuten lässt (Sengupta und Sridaran, 2008).

Oxytocin

Die Synthese des Hormons findet im Perikarion von großen neurosekretorischen, sog. magnozellulären Zellen, statt. Diese sind vorwiegend im *Nucleus (Ncl.) supraopticus* und *Ncl. paraventricularis* des Hypothalamus lokalisiert. Von hier aus erstreckt sich das Axon jeder einzelnen Zelle bis in die Neurohypophyse und bildet dort 2000-10.000 Verzweigungen aus, in denen zahlreiche neurosekretorische Granula gespeichert werden. Diese werden nach Stimulation durch Aktionspotentiale über Exozytose freigesetzt. Oxytocin kann so in die fenestrierten Kapillaren des Hypophysenhinterlappens diffundieren und damit in den Körperkreislauf gelangen (Seitz, 1965; Leng et al., 1998).

Der Uterus ist ein klassisches Zielorgan von Oxytocin. Es ist eine der potentesten uterotonischen Substanzen und essentiell für den physiologischen Geburtsablauf. Im Östrus reguliert Oxytocin nach erfolgtem Deckakt zudem den Spermientransport im Uterus. Ein weiteres traditionelles Aufgabengebiet von Oxytocin ist die Milchejektion (Gimpl und Fahrenholz, 2001; Blanks und Thornton, 2003). Aber auch im Eileiter finden sich Oxytocin-Rezeptoren (Wallace et al., 1991). Diese sind im Bereich von Isthmus und Ampulle lokalisiert und ihre Stimulation führt dosisabhängig zur Kontraktion oder

Relaxation der glatten Muskulatur, was vermutlich einen Einfluss auf den Transport der Gameten hat (Janković et al., 2001).

Beispiele wie diese zeigen, dass die Effekte der hypophysären Hormone oftmals über die bisher bekannten Wirkungen hinausgehen.

2.5.2 Wachstumshormon (GH)

Neben der Bezeichnung Wachstumshormon, findet man in der Literatur auch die Begriffe Somatomedin oder somatotropes Hormon (STH) sowie im internationalen Sprachgebrauch den Begriff Growth Hormon (GH).

GH ist ein einkettiges Proteohormon, dessen Hauptform ein Molekulargewicht von 22.000 Dalton besitzt (Li und Dixon, 1971). Beim Schwein besteht es aus 190 Aminosäuren (Chene et al., 1989). Seine dreidimensionale Struktur wird aus vier alpha-Helices gebildet, die Regionen von nichtspiraligen Polypeptiden verbinden. Das Molekül wird durch zwei Disulfidbrücken in Schleifen gelegt. Die Helixstrukturen sind für die Interaktionen zwischen Hormon und Rezeptor verantwortlich (Abdel-Meguid et al., 1987). GH ist eng verwandt mit Prolaktin und dem plazentaren Laktogen und bildet zusammen mit diesen eine Gruppe von Hormonen mit wachstumsfördernden und laktogenen Wirkungen (Bewley und Li, 1984; Freeman et al., 2000). Im Gegensatz zu anderen Proteohormonen besitzt GH eine starke Speziespezifität.

Der Haupteffekt von GH ist die Förderung des postnatalen Wachstums durch Einwirkung auf Zellmetabolismus und -differenzierung. Zudem ist es beteiligt an der Regulation des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels, sowie des Stickstoff- und Mineralstoffmetabolismus. GH hat anabole Wirkungen, indem es die Proteinsynthese und die Zunahme der Muskelmasse fördert. Weitere Effekte sind die Stimulation des Immunsystems und die Beeinflussung des Verhaltens (Kopchick und Andry, 2000). GH spielt zudem eine wichtige Rolle bei der sexuellen Differenzierung und Reifung und ist auf Ebene der Gonaden an der Steroidgenese, Gametogenese und Ovulation beteiligt (Hull and Harvey, 2001).

GH wird in den azidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) gebildet und seine Freisetzung wird durch übergeordnete Hormone aus dem Hypothalamus gesteuert. Dabei übernimmt das Somatoliberin oder Growth Hormon Releasing Hormone (GRH) die stimulierende und das Somatostatin oder Growth Hormone Release Inhibiting Hormone

(GHIH) die hemmende Funktion. Die Sekretion dieser beiden Steuerungshormone wird durch Neuropeptide und Neurotransmitter geregelt (Buonomo und Baile, 1990) und führt zu einer pulsatilen Freisetzung von GH aus dem HVL (Klindt und Stone, 1984). Die Ausschüttung folgt einem diurnalen Rhythmus mit der höchsten Frequenz in der Nacht bzw. während des Schlafes (Willoughby et al., 1976). Einflüsse wie Alter, Geschlecht, Entwicklungsstadium, Stress und Trainingszustand sind Faktoren, welche die Sekretion von GH beeinflussen (Ford et al., 2001).

Über den Blutkreislauf gelangt GH zu seinen Zielzellen. Im Plasma findet man verschiedene Formen des Hormons, die mehrere Varianten des oben beschriebenen Monomers beinhalten, sowie deren Homo- und Heteropolymere, Fragmente und Komplexe (Baumann, 1991). Das Wachstumshormon kann außerdem in der Blutbahn sowohl frei, wie auch an spezifische Bindungsproteine, so genannte growth hormone-binding proteins (GHBPs), gebunden vorliegen (Abb. 1). Diese sind identisch mit der extrazellulären Domäne des GH-Rezeptors (Goffin und Kelly, 1997). Sie erhöhen die Halbwertszeit von GH und regulieren seine Bindung an die Rezeptoren im Gewebe (Baumann und Mercado, 1993).

Die Rezeptoren für GH (GH-R) gehören zu der großen Gruppe der Klasse 1-Zytokinrezeptoren (Kopchick und Andry, 2000). Es sind einkettige Proteine, die in eine extrazelluläre, einen transmembrane und eine zytoplasmatische Domäne unterteilt werden (Goffin und Kelly, 1997). Der extrazelluläre Anteil (Abb. 1) kann wiederum in zwei Subdomänen unterteilt werden, die von einer kurzen Gelenkregion verbunden werden (Frank, 2002). Anhand von humanem GH wurde nachgewiesen, dass dieses zwei Rezeptorbindungsstellen besitzt, durch die es an zwei GH-Rezeptoren gleichzeitig bindet. Diese Dimerisierung ist essentiell für die Übertragung der GH-Wirkung (Cunningham et al., 1991; Fuh et al., 1992).

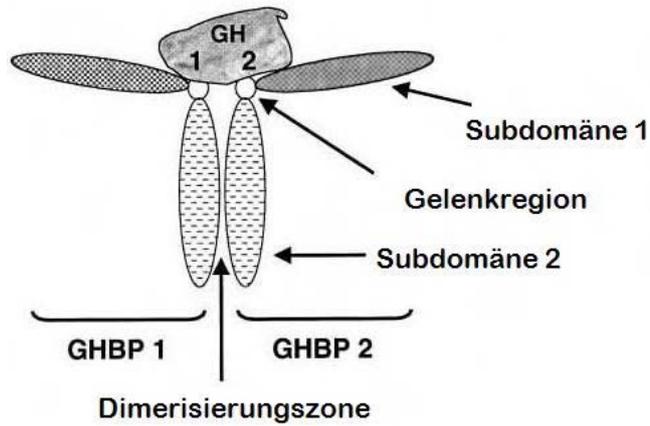


Abb. 1: Ein GH-Molekül bindet an zwei GHBPs an deren Subdomäne 1 und Gelenkregion. Durch Interaktionen der beiden Subdomänen 2 wird der Komplex stabilisiert. Die GHBPs entsprechen der extrazellulären Domäne des GH-R (modifiziert nach Frank, 2002).

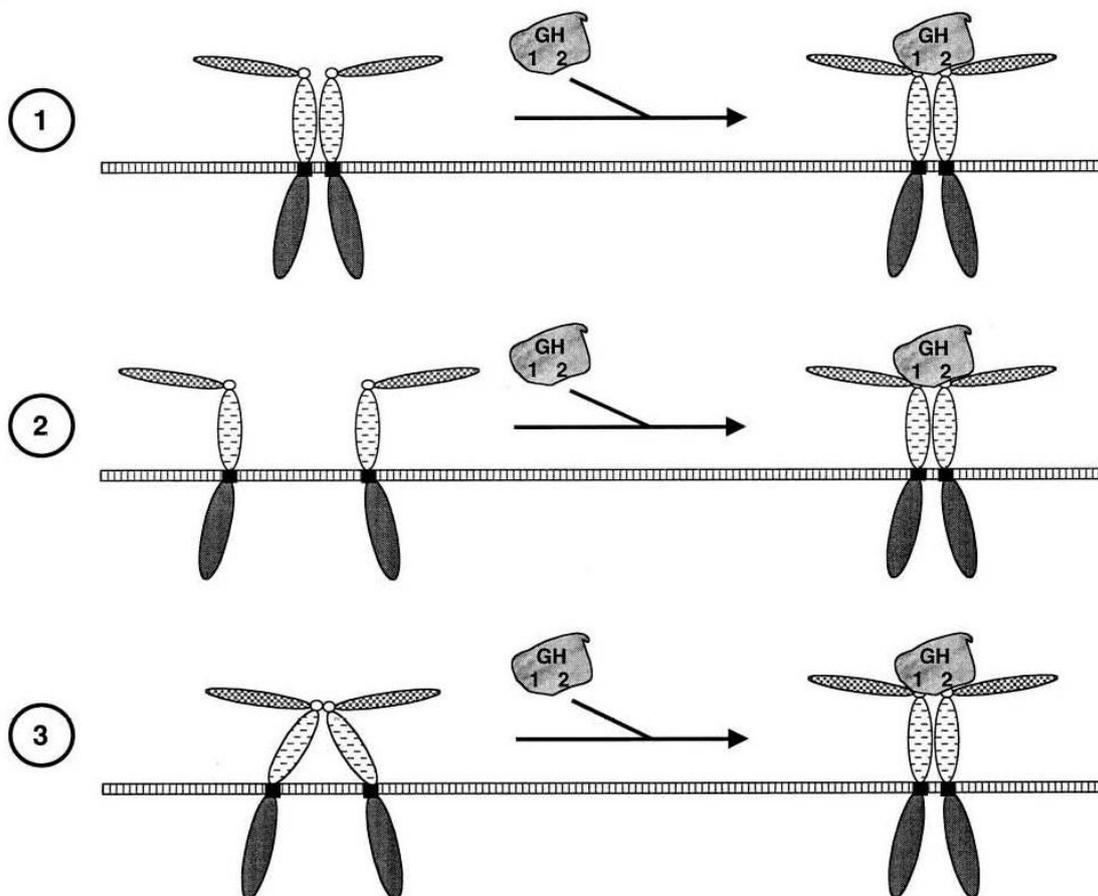


Abb. 2: Modelle für den Bindungsvorgang von GH an GH-R (modifiziert nach Frank, 2002):
 1) Der Rezeptor liegt bereits als Homodimer vor.
 2) Durch die Bindung von GH kommt es zur Dimerisierung.
 3) Durch die Bindung von GH kommt es am lose dimerisierten Rezeptorkomplex zur Konformationsänderung.

Für den Vorgang der Bindung werden verschiedene mögliche Modelle diskutiert (Abb. 2): 1. Der Rezeptor liegt bereits vor der Bindung von GH als Homodimer vor; 2. erst die Bindung von GH führt zur Dimerisierung des Rezeptors; 3. die Bindung von GH löst an dem locker dimerisierten Rezeptor andere strukturelle Veränderungen aus. Am wahrscheinlichsten ist das zweite Modell, da es die Dosisabhängigkeit von GH erklärt (Abb. 3). Bei sehr hohen GH-Konzentrationen werden biologische und biochemische Reaktionen abgeschwächt, da GH an die verfügbaren Rezeptoren bindet, es aber nur zu unproduktiven monomeren Interaktionen kommt (Frank, 2002).

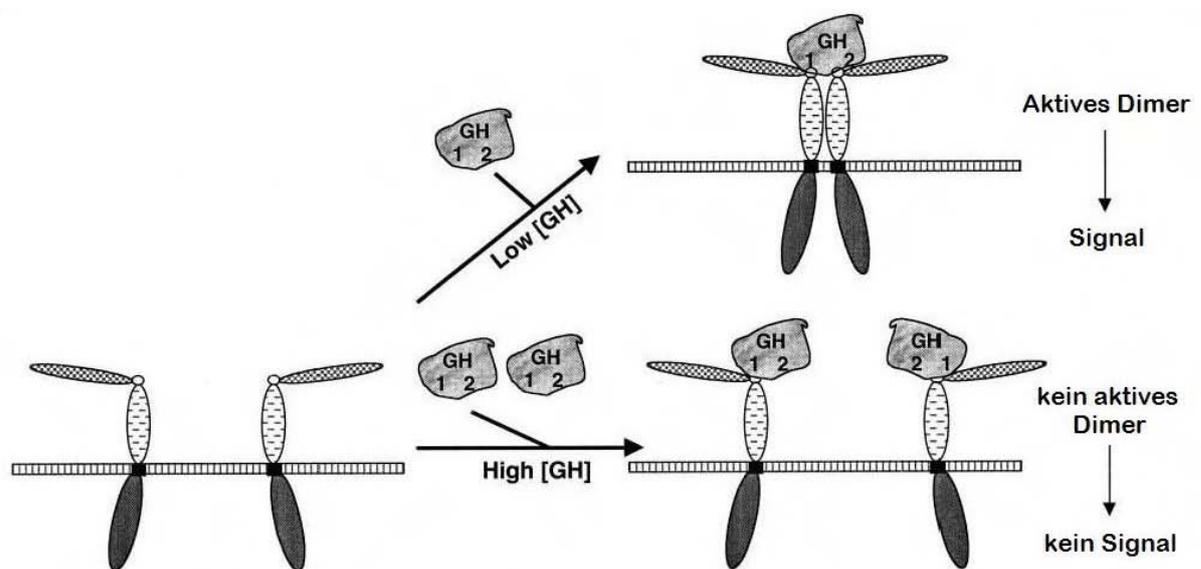


Abb. 3: Modell für die Dosisabhängigkeit der Wirkung von GH. Bei sehr hohen Konzentrationen bilden sich unproduktive monomere Interaktionen (modifiziert nach Frank, 2002).

GH-R wurde in den verschiedensten Geweben nachgewiesen, so z.B. in der Leber, der Muskulatur, den Knochen, im Herz, in den Nieren, im Bindegewebe, im Fettgewebe, in den Lymphozyten und in embryonalen Stammzellen (Roupas und Herington, 1989; Kopchick und Andry, 2000). Ovarialfollikelzellen (Quesnel, 1999), Eizellen und Kumuluszellen (Marchal et al., 2003) weisen GH-R auf. Befruchtete Eizellen tragen GH-R bereits vor der Implantation. In diesen sind die Rezeptoren sowohl im Kern wie auch im Zytoplasma und der Plasmamembran lokalisiert. Ihnen wird eine Rolle im Kohlenhydratstoffwechsel und bei Lipidtransportprozessen zugesprochen (Pantaleon et al., 1997, Kölle et al., 2001). Auch im Uterus (Endometrium, Drüsen, Myometrium, Stroma)

verschiedener Spezies (Hull und Harvey, 2001) und im Ovidukt von Ratte (Lobie et al., 1990) und Rind (Kirby et al., 1996) wurde die Expression von GH-R nachgewiesen.

Neben der direkten Wirkung auf GH-R werden die wachstumsfördernden Effekte und zahlreiche Stoffwechselwirkungen von GH zu großem Teil über so genannte Insulin-like growth factors (IGF I u. II) vermittelt. Diese werden unter Einwirkung von GH wiederum rezeptorvermittelt vorwiegend in der Leber synthetisiert und in die Blutbahn freigesetzt. Dort liegen sie an spezifische Bindungsproteine gebunden vor. Man nennt diese auch insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) (Ford et al., 2001). Die Expression von IGF-I wurde unter anderem auch in den sekretorischen Zellen des Eileiters beim Rind (Schmidt et al., 1994) nachgewiesen, sowie in der Eileiterflüssigkeit vom Schwein (Wiseman et al., 1992). Makarevich und Sirotkin (1997) bestätigten, dass der Eileiter dazu in der Lage ist, IGF-I zu synthetisieren und wiesen eine Stimulation der Synthese durch GH nach.

Außerhalb des HVL, dem Hauptsyntheseort für GH, ist seine Genexpression in zahlreichen extrahypophysären Bildungsstätten nachgewiesen. In diesen Geweben wird dem Hormon eine autokrine/parakrine Wirkung zugesprochen. Im weiblichen Genitaltrakt können Epithelzellen der Milchdrüse (Mol et al., 1995) und die Plazenta (Hennen et al., 1988) GH exprimieren. Die Funktion von plazentarem GH liegt darin, den Fetus vor Hypoglykämie zu schützen. Diese stellt den stimulierenden Reiz für die Produktion von plazentarem GH dar und führt zu einem Anstieg von Glukose im maternalen Blut (Hull und Harvey, 2002). Des Weiteren produzieren die Drüsenzellen des Endometriums GH von der lutealen Phase des Zyklus an über die gesamte Trächtigkeit, wobei es eventuell eine Rolle bei der Implantation spielt (Sbracia et al., 2004). In befruchteten Eizellen gelingt der Nachweis von GH mRNA ab dem Morulastadium und in Blastozysten, in welchen es Zellproliferation und -differenzierung stimuliert, sowie den Metabolismus des Embryos moduliert (Pantaleon et al., 1997; Joudrey et al., 2003; Kölle et al., 2003). Ob auch der Eileiter dazu in der Lage ist, GH zu synthetisieren ist bisher nicht bekannt.

2.5.3 Prolaktin (PRL)

Aufgrund seiner Wirkungen findet man unterschiedliche Bezeichnungen für Prolaktin. Es werden die Begriffe Luteotrop(h)in, luteotropes Hormon (LTH), Galaktin, Laktationshormon, Laktogen und Mammotropin verwendet.

Es handelt sich um ein einkettiges Polypeptidhormon mit drei intermolekularen Disulfidbrücken zwischen sechs Cysteinmolekülen. Beim Schwein besteht es aus 199 Aminosäuren (Li, 1976). Seine Hauptform besitzt ein Molekulargewicht von ca. 23000 Dalton. Daneben entstehen durch alternatives Splicing der mRNA oder proteolytische Teilungen Varianten des Hormons mit niedrigerem, durch Dimerisierung und Polymerisierung, Phosphorylierung oder Glykosilierung Formen mit höherem Molekulargewicht. Letztere zeigen in der Regel eine herabgesetzte biologische Aktivität (Freeman et al., 2000).

Die Biosynthese von Prolaktin findet in erster Linie in den so genannten laktotropen oder mammotropen Zellen der *Pars distalis* des HVL statt. Das Erscheinungsbild dieser Zellen verändert sich in Abhängigkeit ihres Funktionszustandes und reicht von polyedrisch bis zu rund oder oval geformten Zellen. Auch funktionell weisen diese Zellen eine Heterogenität auf. So gibt es eine intermediäre Zellart, die sog. mammosomatotropen Zellen, die in der Lage sind, sowohl Prolaktin als auch GH zu sezernieren. Unter dem Einfluss von Östrogen differenzieren sich diese Zellen zu laktotropen Zellen (Freeman et al., 2000).

Auch außerhalb der klassischen Produktionsstätte im HVL lässt sich Prolaktin in den verschiedensten Geweben nachweisen. Innerhalb des weiblichen Reproduktionstrakts findet man die Expression des Hormon in der Plazenta (Forsyth, 1994), im Myometrium (Gellersen et al., 1991) und in den Follikelzellen des Ovars (Phelps et al., 2003). Auch die Follikelflüssigkeit enthält Prolaktin (Lebedeva et al., 1998). Weiterhin gelingt der Nachweis aus dem Epithel der Milchdrüse (Nolin und Witorsch, 1976) und der Milch selbst (Grosvenor et al., 1993).

Außer von Östrogenen wird die Synthese von Prolaktin durch vasoaktives intestinales Peptid (VIP), Oxytocin, Tyreotropin Releasing Hormon (TRH), Ca^{2+} -Ionen sowie zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) gefördert und durch Dopaminagonisten gehemmt (Ben-Jonathan, 1994), wobei das Ansprechen der laktotropen Zellen auf diese Substanzen je nach Lage im HVL variieren kann (Boockfor und Frawley, 1987).

Prolaktin wird episodisch freigesetzt und unterliegt einem *circadianen* Rhythmus mit seinem Höhepunkt in der Nacht (Lincoln et al., 1978). Licht und Tageslänge sind wichtige

Regulatoren der Prolaktinsekretion. Der bekannteste physiologische Stimulus ist der Saugreiz von Jungtieren, welcher einen klassischen neuroendokrinen Reflex auslöst. Ein erhöhter Prolaktinspiegel im Blut lässt sich auch um den Zeitpunkt der Ovulation feststellen, woraus sich ein Zusammenhang mit dem weiblichen Zyklus ableiten lässt. Des Weiteren werden auch Faktoren aus der Umgebung diskutiert, welche auf die Prolaktinsekretion Einfluss nehmen, wie z.B. Geräusche auf Ultraschallebene oder Gerüche die von Jungtieren ausgehen, sowie Stress (Freeman et al., 2000).

Für Prolaktin existieren unterschiedliche Rezeptortypen. Diese beinhalten unter anderem eine kurze und eine lange Form, beides membranständige Rezeptoren (Kelly et al., 1991). Die Bindungsstellen für Prolaktin und GH werden unter der GH/Prolaktin-Rezeptor-Klasse zusammengefasst und sind der Klasse 1-Zytokinrezeptor-Familie untergeordnet (Bazan, 1989). Zwar weisen sie nur eine begrenzte Übereinstimmung der gesamten Aminosäuresequenz auf (~30 %), doch ihre Tertiärstrukturen sind sehr ähnlich. Es ist davon auszugehen, dass die Prolaktin-Rezeptoren (PRL-R) ebenfalls durch Dimerisierung aktiviert werden. Daher gelten auch hier die bei GH (Abb. 1-3) beschriebenen Modelle (Goffin und Kelly, 1997). Zusätzlich zu den membrangebunden Rezeptorformen wurden auch lösliche Prolaktin-Bindungsproteine (PRLBP) nachgewiesen. Diese finden sich in der Milch (Postel-Vinay et al., 1991) und im Serum. Sie sind identisch mit der extrazellulären Domäne des membranständigen Rezeptors (Kline und Clevenger, 2001).

Neben den bekanntesten Wirkungsorten für Prolaktin, der Milchdrüse (Camarillo et al., 2001) und dem Ovar (Poindexter et al., 1979), insbesondere am *Corpus luteum* (Telleria et al., 1997), sind PRL-R in zahlreichen peripheren Organen lokalisiert. Innerhalb des weiblichen Genitaltraktes finden sie sich im Uterus, insbesondere in den glatten Muskelzellen des Myometriums, sowie in den epithelialen Zellen der Schleimhaut und den Uterindrüsen (Jones et al., 1998; Yamashita et al., 1999). Zudem wurden sie in Kumuluszellen, Oozyten, Zygoten, 2-4-Zell-Stadien, Morulae und Blastozysten nachgewiesen (Kiapekou et al., 2005).

Die am besten erforschten Effekte von Prolaktin beinhalten die Einflüsse auf Wachstum und Entwicklung der Milchdrüse (Mammogenese), auf die Milchsynthese (Laktogenese) und die Milchsekretion (Galaktopoese). Prolaktin nimmt zudem Einfluss auf das Reproduktionsverhalten, so steuert es zum Beispiel das Brutpflegeverhalten (Bridges, 1994; Freeman et al., 2000). Im Reproduktionsgeschehen hat Prolaktin jedoch noch weitere Funktionen. So ist bekannt, dass es bei Nagern nach erfolgtem Deckakt luteotropisch (Morishige und Rothchild, 1974), bei der Ratte aber auch, in Abhängigkeit

von Zyklusstadium und erfolgtem Deckakt, luteolytisch wirken kann (Wuttke und Meites, 1971). Bei der Hündin ist Prolaktin entscheidend für die Erhaltung des *Corpus Luteum* während der Trächtigkeit. Bei den nicht graviden Hündinnen bedingt der Prolaktinanstieg ab dem späten Diöstrus die Scheinträchtigkeit. Fukuda et al. (1989) beobachteten *in vitro* einen positiven Effekt von Prolaktin auf die Kapazitation und Motilität von Spermien, sowie auf deren Fähigkeit an die *Zona pellucida* der Eizellen zu binden. Des Weiteren wird Prolaktin eine wichtige Rolle in der Regulation von Wachstum und Entwicklung der Embryonen vor der Implantation zugeschrieben (Kiapekou et al., 2005).

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchungsmaterial

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Eileiter von 24 Schweinen untersucht. Es handelte sich um Tiere der deutschen Landrasse, die alle von der Versuchstation für Tierhaltung, Tierzucht und Kleintierzucht „Unterer Lindenhof“ der Universität Hohenheim zur Verfügung gestellt wurden. Die Probenentnahme fand im Rahmen des üblichen Schlachtprozesses statt. Alle Schweine waren klinisch gesund und wiesen insbesondere an den Geschlechtsorganen keine pathologischen Veränderungen auf.

Die Proben wurden in acht verschiedenen, definierten Zyklus- und Trächtigkeitsstadien entnommen (Tab. 1). Die in der Literatur beschriebenen charakteristischen Ovar- und Uterusbefunde wurden zur Überprüfung des Zyklusstandes herangezogen (Leiser et al., 1988).

Als Tag 0 wurde der Tag, an welchem erstmals der Duldungsreflex auftritt, definiert (Schnurrbusch, 2006). Davon ausgehend wurden Proben an folgenden Zyklustagen entnommen: Östrus = Zyklustag 0, Metöstrus = Zyklustage 2-3, Diöstrus = Zyklustage 10-13 und Präöstrus = Zyklustag 18.

3.2 Probenentnahme

Die Probenentnahme fand unmittelbar nach der Entblutung der Schweine statt. Die Bauchhöhle wurde in der *Linea alba* eröffnet und die Eierstöcke und Eileiter zusammen mit der Gebärmutter entnommen. Beide Eileiter wurden anschließend von den Uterushornspitzen und den Ovarien abgesetzt und das Mesosalpinx auf der ganzen Länge entfernt. Es wurde jeweils ein Eileiter für die immunhistochemischen sowie rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen aufbereitet und der andere für den Nachweis der mRNA.

Tab. 1: Signalement und Reproduktionsstatus der beprobten Tiere

Zyklusstand/ Trächtigkeitstag	Anzahl	Alter (Monate/Jahre)	Gewicht (kg)
Östrus	3	7 Mo. - 4 J.	124 - 230
Metöstrus	3	5 Mo. - 2 J.	212 - 217
Diöstrus	3	7 Mo. - 5 J.	136 - 235
Proöstrus	3	1 - 2,5 J.	184 - 225
2-3 Tage p. insem.*	3	1 - 4 J.	175 - 221
trabend, Tag 14	3	2 - 3 J.	>200
trabend, Tag 22-25	3	9 Mo. - 1,5 J.	166 - 188
trabend, Tag 65-71	3	10 Mo. - 4 J.	170 - 225

* p.insem. = post inseminationem

3.3 Histologie

Fixierung und Probenaufbereitung

Für die Lichtmikroskopie bzw. Immunhistochemie wurden Proben aus Infundibulum, Ampulle, Isthmus und UTJ entnommen. Infundibulum und UTJ konnten durch longitudinales Eröffnen und Aufspannen auf Korkplättchen mit Hilfe von Igelstacheln für die Untersuchungen präpariert werden. Aus Ampulle und Isthmus wurden durch transversale Schnitte ringförmige Proben entnommen.

Die sofortige Immersionsfixation dieser Gewebeproben erfolgte über 24 Stunden in Methanol/Eisessig 2:1 bzw. über 48 Stunden in Bouin'scher Lösung (Romeis, 1989). Daran schloss sich die Entwässerung der Proben über 26 Stunden mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe in einem Gewebeeinfiltrationsautomaten (TP 1020, Fa. Leica)

an. Mit Hilfe einer Paraffinausgießstation (EG 1160, Fa. Leica) wurden die Proben danach in Paraplast[®] (Sherwood Medical Co., USA) eingebettet. Mit einem elektrischen Rotationsmikrotom (MICROM, Fa. MICROM International GmbH) wurden von jedem dieser Paraffinblöcke drei 2 µm dünne Schnitte angefertigt und auf Superfrost[®]-Objekträger (Fa. Langenbrinck) aufgezogen. Diese wurden mit einer Hämatoxilin-Eosin-Übersichtsfärbung (Romeis, 1989) angefärbt, um so eine Beurteilung des gewonnenen Probenmaterials und die Auswahl der Blöcke für die weiterführenden Untersuchungen zu ermöglichen. Von den ausgewählten Blöcken wurden in gleicher Weise weitere Schnitte angefertigt. Einige dieser Schnitte wurden für eine im Rahmen der immunhistochemischen Färbungen notwendige Mikrowellen-behandlung auf Superfrost[®]adhäsiv-Objekträger (Fa. Langenbrink) aufgezogen.

Immunhistochemie

Auf den Methanol/Eisessig- bzw. Bouin-fixierten Paraffinschnitten wurden, unter Anwendung der Avidin-Biotin-Methode (Hsu et al., 1981), mit den in Tabelle 2 aufgeführten Primärantikörpern die entsprechenden Antigene nachgewiesen.

Die Methode basiert auf der hohen Affinität der Proteine Avidin bzw. Streptavidin für Biotin. Dabei reagiert der (Strept-)avidin-Biotin-Enzymkomplex mit dem biotinylierten Sekundärantikörper. Da Streptavidin im Gegensatz zu Avidin kein Glykoprotein ist und nicht mit Kohlenhydratrezeptoren reagiert, treten weniger unspezifische Bindungen auf.

Als Enzymmarker fungierte Meerrettichperoxidase, deren Aktivität mit einem geeigneten Chromogen sichtbar gemacht werden kann.

Es wurde nach dem im Institut für Anatomie und Physiologie der Haustiere der Universität Hohenheim etablierten Testprotokoll vorgegangen.

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Antikörper

Primär-Antikörper gegen	Immunogen	Host	Serum	Sekundär-AK biotinyliert	Hersteller
Growth Hormone (GH) monoklonal 1:50	porzines Wachstums-hormon AS 1-15	Maus	Kaninchen 1:10	Anti-Maus IgG, Kaninchen	*)
Growth Hormone-Rez. (GH-R) monoklonal 1:100	humaner Wachstums-hormonrez. H-300 AS 339-638	Kaninchen	Ziege 1:10	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA
Prolaktin (PRL) monoklonal 1:100	humanes Prolaktin SPM108	Maus	Kaninchen 1:10	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
Prolaktin-Rez (PRL-R) monoklonal 2µg/ml	humaner Prolaktinrez. Clone B6.2	Maus	Kaninchen 1:10	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
Beta-Tubulin IV (Tubulin- β IV) monoklonal 1:70	humanes Beta-tubulin IV ONS1A6	Maus	Kaninchen 1:10	Anti-Maus IgG, Kaninchen	BioGenex, San Ramon, USA

*) Freundlicherweise von Prof. Dr. R. Böhm, Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, zur Verfügung gestellt.

Das Entparaffinieren der histologischen Schnitte erfolgte durch Xylol. Anschließend wurde das Gewebe in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert. Bei den Tests für den Nachweis von Prolaktin folgte an diesem Punkt eine dreimalige Mikrowellenbehandlung des Gewebes über jeweils 5 Minuten in 10 mM Zitratpuffer (pH 6), um antigene Bindungsstellen freizulegen. Durch Zugabe von 10 %iger Hydrogenperoxidlösung wurde daraufhin die endogene Peroxidase-Aktivität gehemmt. Die 30-minütige Inkubation der Schnitte in 1:10 verdünnten Normalserum (Tab. 2) verhinderte die unspezifische Bindung der Antikörper durch hydrophobe Wechselwirkungen auf dem Gewebe. Anschließend

wurde der verdünnte Primärantikörper (Tab. 2) auf die Schnitte aufgetragen und bei 4 °C in einer Feuchtkammer (Shandon[®], Frankfurt a. M.) über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag folgten eine 30-minütige Inkubation mit dem entsprechenden biotinylierten Sekundärantikörper (Tab. 2) und dann die ebenfalls 30-minütige Inkubation mit dem Streptavidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplex (DAKO[®], Hamburg). Unter Lichtabschluß wurden die Gewebeschnitte schließlich für 10 Minuten in 3,3-Diaminobenzidin(DAB)-Lösung entwickelt und so die eingetretene Immunreaktion sichtbar gemacht. Zwischen den einzelnen Schritten wurden die Schnitte dreimal in Phosphate buffered saline (PBS)-Puffer (pH 7,4) gespült. Zum Schluss erfolgten die Gegenfärbung der Zellkerne mit Hämalaun (Romeis, 1989) und die Dehydrierung der Gewebeschnitte entlang einer aufsteigenden Alkoholreihe. Schließlich wurde das Gewebe mit Entellan[®] (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckt.

Als Positivkontrolle (K0) dienten jeweils Schnitte der folgenden Organe: Hypophyse (GH, PRL), Leber (GH-R), Ovar und Milchdrüse (PRL-R). Als Negativkontrolle wurde bei je einem Schnitt das Auftragen des Primärantikörpers (K1), des Sekundärantikörpers (K2) bzw. des Streptavidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplex (K3) ausgelassen.

Immunhistochemische Doppelfärbung

Um einen vorhandenen Unterschied in der Expression von GH-R in den sekretorischen Zellen oder den Zilienzellen nachzuweisen oder auszuschließen, wurden zwei immunhistochemische Färbeprozesse hintereinander durchgeführt.

- Erster Schritt:
- Primärantikörper gegen GH-R
 - Biotinylierter Sekundärantikörper
 - Streptavidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplex
 - Vector VIP[®] als erstes Chromogen (violett)
- Zweiter Schritt:
- Primärantikörper gegen Tubulin-β IV
 - Alkalische Phosphatase konjugierter Sekundärantikörper
 - Vector[®] Black als zweites Chromogen (schwarz)

Der erste Färbvorgang für GH-R wurde wie für die oben beschriebene Einfachfärbung durchgeführt. Nach 10-minütiger Entwicklung in Vector VIP[®]-Lösung¹⁾ wurden die Gewebeschnitte in Pufferlösung gespült und wiederum 30 Minuten mit Normalserum inkubiert um die unspezifischen Bindungstellen zu blocken. Es folgte darauf das Auftragen des zweiten, verdünnten Primärantikörpers, welcher bei 4 °C über Nacht inkubiert wurde. Nach der 30-minütigen Inkubation mit dem zweiten alkalische-Phosphatase-konjugierten Sekundärantikörper diente die Inkubation für 15 Minuten mit der Vector Black[®]-Färbelösung²⁾ zum Sichtbarmachen der zweiten immunhistochemischen Reaktion. Zwischen den einzelnen Schritten wurde stets mit PBS-Pufferlösung gespült. Abschließend folgten die Dehydrierung des Gewebes in einer aufsteigenden Alkoholreihe und das Eindecken der Schnitte mit Entellan[®] (Fa. Merck, Darmstadt).

Erläuterungen:

- ¹⁾ Vector-VIP[®]: 5 ml PBS-Puffer (pH 7,4) mit je 3 Tropfen von Reagenz 1, 2, 3 und Hydrogen Peroxid Lösung (Vector VIP[®]-Substrate, Fa. Vector Laboratories, USA) mischen.
- ²⁾ Vector[®]-Black: 5 ml Tris-HCL-Puffer (pH 9,5; Romeis, 1989) mit je 2 Tropfen von Reagenz 1, 2 und 3 (Vector[®] Black Alkaline Phosphatase Kit II, Fa. Vector Laboratories, USA) mischen.

Auswertung

Für die lichtmikroskopische Auswertung wurde ein Mikroskop des Typs Laborlux S (Fa. Leitz, Wetzlar) verwendet. Die Auswertung der immunhistochemischen Tests sowie die Dokumentation der Ergebnisse erfolgte an einem Lichtmikroskop Typ DMRBE (Fa. Leica, Bensheim) über eine Videokamera (ProgRes 3012, Fa. Kontron Elektronik bzw. DFC-420C, Fa. Leica, Bensheim) und das angeschlossene „Image Processing and Analysis“ (IPA)-Programm.

Die immunhistochemischen Untersuchungen wurden semiquantitativ ausgewertet. Hierzu wurde die Färbeintensität (SI) bestimmt und wie folgt eingeteilt (Remmele und Stegner, 1987):

- 0= keine positiven Zellen
- 1= schwache Färbereaktion
- 2= starke Färbereaktion
- 3= sehr starke Färbereaktion

Die Klassifizierung für den Prozentsatz positiver Zellen (PP) (Remmele und Stegner, 1987) wurde folgendermaßen modifiziert:

0=	keine positiven Zellen
1=	1-10 positive Zellen
2=	11-30 positive Zellen
3=	31-60 positive Zellen
4=	61-80 positive Zellen
5=	>80 positive Zellen

3.4 Rasterelektronenmikroskopie

Fixierung und Probenaufbereitung

Für die Rasterelektronenmikroskopie wurde der Eileiter der Länge nach eröffnet und Proben aus Infundibulum, Ampulle und Isthmus auf Kork aufgespannt und für 24 Stunden in 2,5 prozentiger Glutardialdehyd-Lösung (GAH) fixiert. Anschließend wurde das Gewebe in PBS-Puffer (pH 7,4) gespült und in einer aufsteigenden Alkoholreihe bis in 100 prozentiges Ethanol entwässert.

Daran schloss sich die Trocknung der Proben im Critical-Point-Dryer (Typ CPD 030, Fa. Bal-Tec, Witten) an. Dabei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem der Alkohol in welchem sich die Proben befinden, durch Kohlendioxid (CO₂) bei 72 bar verdrängt wird. Die so aufbereiteten Proben wurden mittels Leit-C-Kleber (Fa. Neubauer, Münster) auf spezielle Probenteller (Fa. Agar Scientific Ltd., Essex) geklebt und über Nacht luftgetrocknet. Danach wurden die Proben unter möglichst reiner Argonatmosphäre mit einem Goldfilm beschichtet. Dazu wurde ein Sputter Coater (Typ SCD 050, Fa. Bal-Tec, Witten) verwendet. Die Beschichtung erfolgte jeweils zweimal gerade und zweimal schräg für 100 Sekunden bei einem Sputterstrom von 40 µA. Der Arbeitsabstand zwischen Target (Kathode) und Präparatetisch (Anode) betrug dabei 5,5 cm.

Auswertung und Dokumentation

Die deskriptive Auswertung der Proben erfolgte an einem Rasterelektronenmikroskop (Typ DSM 940 A, Fa. Zeiss, Oberkochen) mit angeschlossenem PC zur digitalen Bearbeitung. Untersucht wurden die Veränderungen des Eileiterepithels im Verlauf des Zyklus und der Trächtigkeit in Abhängigkeit von der Lokalisation im Eileiter

(Infundibulum, Ampulle, Isthmus). Darüber hinaus wurde die Oberflächenstruktur der UTJ dokumentiert.

3.5 Reverse Transkriptase-Polymerase Chain Reaktion (RT-PCR)

Probenaufbereitung

Für die RT-PCR-Untersuchungen fand die Entnahme von Gewebeproben aus den oben genannten Abschnitten des Eileiters statt. Um eine Kontamination der jeweiligen Proben zu vermeiden, wurden diese unter sterilen Bedingungen entnommen und dazu für jeden Abschnitt des Eileiters neue sterile Skalpellklingen verwendet. Die Proben wurden sofort in RNAlater[®] (Fa. Ambion Ltd., UK) enthaltende Probengefäße überführt. Die Aufbewahrung erfolgte bei -20 °C, dem ein Kühlen der Proben für 24 Stunden bei 4 °C vorausgegangen war. Zur weiteren Verwendung wurden die tiefgekühlten Proben jeweils aufgetaut, etwa 30 mg Gewebe entnommen, mittels steriler Skalpellklingen zerkleinert und das Material in sterile 0,5 ml-Reaktionsgefäße verbracht.

Isolierung von Gesamt-RNA

Um die RNA aus dem Gewebe zu isolieren, wurden die Proben, gemäß dem Protokoll zum Testkit (Invisorb RNA Kit II, Fa. InViTek, Berlin), zunächst für 20 Minuten in jeweils 500 µl Lysepuffer inkubiert. Darauf folgte die Zugabe von 30 µl Adsorbin pro Probengefäß und ein fünfminütiges Kühlstellen auf Eis. Nach der Zentrifugation wurden die jeweiligen Überstände in neue, sterile 0,5 ml-Reaktionsgefäße überführt und mit 500 µl wassergesättigtes Phenol, 50 µl Buffer A (Fa. InViTek, Berlin) und 100 µl Chloroform vermischt. Nach nochmaligem Kühlen des Materials auf Eis folgten eine erneute Zentrifugation und das Abpipettieren der oberen wässrigen Phase in ein steriles 0,5 ml-Reaktionsgefäß. Um die störenden organischen Lösungsmittelreste leichter entfernen zu können, wurde ein weiterer Kit (SV Total RNA Isolation System, Fa. Promega Co., Madison, USA) verwendet. In diesem Fall wurden die jeweiligen Überstände mit 200 µl 95 %-igem Ethanol versetzt, die Mischung auf Trennsäulen übertragen und anschließend zentrifugiert. Es folgte nun die Zugabe von jeweils 600 µl Waschlösung (SV RNA Wash Solution, Fa. Promega Co., Madison, USA) und die erneute Zentrifugation. Anschließend wurden 50 µl einer DNase-Inkubationsmischung (Fa. Promega Co., Madison, USA)

zugesetzt, um eine Kontamination mit DNA zu entfernen. Diese enthielt pro Probe 40,0 µl DNase Puffer, 5,0 µl 0,09 M MnCl₂ und 5,0 µl DNase I. Die Mischung wurde direkt auf die Filtermembran in den jeweiligen Trennsäulen pipettiert und 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Um die Reaktion zu stoppen, erfolgte die Zugabe von je 200 µl DNase Stopp-Lösung und das zweimalige Waschen der Proben mit je 600 µl bzw. 250 µl RNA-Waschlösung. Zwischen diesen Schritten wurden die Proben wiederholt zentrifugiert. Nach dem Umsetzen der jeweiligen Trennsäulen auf ein neues, steriles Eppendorfröhrchen, erfolgte zum Abschluss das Spülen der Membranen mit jeweils 100 µl nucleasefreiem Wasser. Die durch Zentrifugation gewonnenen Flüssigkeiten wurden mit einem Photometer (Ultrospec 3000, Fa. Pharmacia Biotech, Cambridge, UK) auf ihren Gehalt an gereinigter RNA untersucht. Hierzu wurde die optische Dichte (OD) bei 260 nm und 280 nm bestimmt und mit Hilfe folgender Gleichung anschließend die Konzentration berechnet:

$$1 \text{ OD}_{260\text{nm}} = 40 \mu\text{g RNA}$$

Das Verhältnis $\text{OD}_{260\text{nm}}/\text{OD}_{280\text{nm}}$ wurde als Maß für die Reinheit des Isolats verwendet, da ein Absorptionsverhältnis von 2,0 für reine RNA bekannt ist.

Die Aufbewahrung der gewonnenen RNA-Proben erfolgte bei -20 °C bzw. -70 °C.

Reverse Transkriptase (RT)

Für die Durchführung der PCR wurden die RNA-Isolate zunächst mittels eines Kits (1st Strand Synthesis System, Fa. Abgene, Surrey, UK) in eine komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben. Hierzu wurden 1,5 µg Gesamt-RNA und 376 ng random-decamer-Primer (Fa. Abgene, Surrey, UK) in einem Endvolumen von 11,1 µl in sterilem Wasser gelöst und für 5 Minuten bei 70 °C inkubiert, um die RNA-Sekundärstrukturen vollständig aufzuheben. Anschließend folgte innerhalb von 15 Minuten ein langsames Abkühlen auf Raumtemperatur. Daraufhin wurde ein Master Mix bestehend aus 4,0 µl 5 x first-strand-Synthesepuffer, 0,4 µl ml 100 % Dimethylsulfoxide (DMSO) und 4,0 µl 5 mM dNTP-Mix zugesetzt. Nach der Zugabe von 0,5 µl Reverse Transkriptase (Reverse-iT™ RTase Blend, Fa. Abgene, Surrey, UK) schloss sich eine 50-minütige Inkubation bei 47 °C in einem Thermoblock an. Danach erfolgten für 5 Minuten bei 95 °C die Zerstörung der Reversen Transkriptase und die Abkühlung der Proben auf 5 °C bzw. die Lagerung auf Eis.

Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die PCR ist eine Methode zur Vervielfältigung von kürzesten, genau definierten Abschnitten eines DNA-Strangs zum Nachweis der Genexpression spezifischer Gene in verschiedenen Geweben.

Hierzu wurden zur Durchführung der PCR 105 ng der erhaltenen cDNA mit je 20 pmol Forward und Reverse Primer in einem Endvolumen von 4 µl in sterilem Wasser gelöst (s. Übersicht Tab. 3). Daran anschließend erfolgte die Zugabe von 45,75 µl Master Mix, bestehend aus 10,0 µl 5 x Reaktionspuffer (GoTaq™, Fa. Promega, Madison, USA), 1,0 µl 100 % DMSO, 0,5 µl 100 mM dNTP-Mix, 34,25 µl steriles Wasser. Dann wurden die Proben kurz gemischt, abzentrifugiert und in einen Thermocycler (Genius, Fa. Techne, Cambridge, UK) gestellt. Die Proben wurden für 3 Minuten bei 91 °C inkubiert, auf 54 °C herabgekühlt, anschließend kurz abzentrifugiert und mit 0,25 µl DNA-Polymerase (GoTaq™, Fa. Promega, Madison, USA) versetzt. Es folgte wieder ein kurzes Mischen, erneutes Abzentrifugieren und die Überschichtung mit 30 µl Mineralöl. Anschließend wurde folgendes Cycler-Programm gestartet: 35 Zyklen, Denaturierung bei 94 °C für 1 Minute, Annealing bei 61 °C für 1 Minute, Elongation bei 72 °C für 2 Minuten. Am Schluss erfolgte ein Elongationsschritt bei 72 °C für 7 Minuten und ein Abkühlen der Proben auf 5 °C.

Tab. 3: Übersicht über die verwendeten Primerpaare

Name	Primer	Sequenz	Größe	Gen-Bank
Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase	GAPDH-f* GAPDH-r*	f: 5'-AAG TGG ACA TTG TCG CCA TC-3' r: 5'-TCA CAA ACA TGG GGG CAT C-3'	318	AF017079
Wachstumshormon-Rezeptor	GH-R-f GH-R-r	f: 5'-GCC AAT GAC GTG TGT GAT GG-3' r: 5'-TCC CTG GTG TAA TGT CG-3'	292	X54429
Wachstumshormon	GH-2-f GH-2-r	f: 5'-TTC CCA GCC ATG CCC TTG TCC-3' r: 5'-CTT GAA GCA GGA GAG CAG CCC-3'	495	M22761
Prolaktin	PRL-f PRL-r	f: 5'-GGC AGA GGG TTG ATT ACC AA-3' r: 5'-TTC CGT GAC CAG GTG ATA CA-3'	165	X14068
Prolaktin-Rezeptor	PRL-R-f PRL-R-r	f: 5'-GAA CCA GAC CCT CCT GTG AA-3' r: 5'-TCA TCC ACC TCC AGG AAG TC-3'	581	AY308825

* f= forward, r= reverse

Das Primerpaar Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) wurde hier zur Kontrolle verwendet. Zum einen wurde damit überprüft, ob die RNA-Isolate frei von genomischer DNA waren, zum anderen diente es der Überprüfung der Funktion der durchgeführten PCR.

Gelelektrophorese

Die Auswertung der PCR-Endprodukte wurde mit Hilfe einer Gelelektrophorese durchgeführt. Diese analytische Methode ermöglicht sowohl die Separation und Identifizierung von DNA-Fragmenten als auch die Überprüfung der Qualität der isolierten Gesamt-RNA. Dabei wandern die zu trennenden, negativ geladenen DNA-/RNA-Moleküle unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes durch ein Gel, welches ein engmaschiges Netz bildet und so den Weitertransport der Moleküle behindert. Da lange Fragmente mehr behindert werden als kurze, trennen sich die unterschiedlichen Moleküle auf und können in Form von Banden nach Anfärbung sichtbar gemacht werden.

Zur Durchführung der Elektrophorese wurde bei GH, GH-R und PRL das Phast System (Fa. GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Schweden) mit einer angeschlossenen Entwicklereinheit eingesetzt. Bei dem verwendeten Gel handelte es sich um ein Polyacrylamidgel (PhastGelTM Homogeneous 20, Fa. GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Schweden). Zur Identifizierung der Fragmentgröße wurde ein DNA Marker für kleine Fragmente (X174 DNA-Hae III Digest, Finnzymes Oy, Espoo, Finnland) neben den zu untersuchenden Proben aufgetragen. Die Färbung der Gele erfolgte mit Hilfe von Silbernitrat nach der von Heukeshoven und Dernick (1985) etablierten Methode. Diese wurde gemäß den Anweisungen des Separation Technique File No. 132 (Fa. GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Schweden) modifiziert (Tab. 4).

Zum Nachweis der Expression von PRL-R wurde eine Agarosegel-Elektrophorese mit Hilfe des Agagel Mini Biometra[®]-Systems (Fa. Biomed Analytic GmbH, Göttingen) durchgeführt. Die Agarosegele (1,5%) wurden aus 1,5 g Agarose (NEEO-Ultra-Qualität, Fa. Roth, Karlsruhe) und 100 ml Tris-Acetat-EDTA-Puffer (Sambrook et al., 1989) durch Aufkochen in der Mikrowelle und dem Zusatz von 5 µl Ethidiumbromid hergestellt und in dem zugehörigen Gelträger ausgegossen. Die Separation erfolgte unter einer Spannung von 90 V, als Spannungsquelle diente der Microcomputer Elektrophorese Power Supply (Consort E443, von Kreuz Laborgeräte GBR, Reiskirchen). Zur Bestimmung der Fragmentgröße der untersuchten Proben wurde als Größenstandart ein 100 bp DNA Ladder

(Gene Ruler™, Fermentas Life Science GmbH, St. Leon-Rot) auf das Gel aufgetragen und mit den Proben laufen gelassen.

Tab. 4: Übersicht über die zur Silbernitrat-Färbung verwendeten Lösungen

Schritt	Lösung	Einwirkdauer	Temperatur
1	20 % Trichloressigsäure	5 min	20 °C
2	8,3 % Glutardialdehyd	6 min	40 °C
3	Aqua dest.	2 min	40 °C
4	Aqua dest.	2 min	40 °C
5	0,5 % Silbernitrat	10 min	30 °C
6	Aqua dest.	2,5 min	20 °C
7	Aqua dest.	0,5 min	20 °C
8	Aqua dest.	0,5 min	30 °C
9	Entwickler ¹⁾	0,5 min	30 °C
10	Entwickler ¹⁾	2,5 min	30 °C
11	5 % Essigsäure	5 min	30 °C
12	Preserver ²⁾	3 min	30 °C

1) Entwickler: 40 ml 12,5 %-iges Na₂CO₃ + 160 ml H₂O + 80 µl 37 %-iges Formaldehyd

2) Preserver: 5 ml Essigsäure + 12 ml Glycerol (87%) + 83 ml H₂O

Auswertung

Die Auswertung und Dokumentation der durch die Gelelektrophorese und Färbung mittels Phast System (Fa. GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Schweden) sichtbar gemachten Ergebnisse erfolgte mit einer an einen Computer angeschlossenen Kamera (DFC-420C, Fa. Leica, Bensheim) und einer angekoppelten Seitenlupe.

Die Fluoreszenz der Banden im Agarosegel wurde durch Beleuchten mit UV-Licht (Fluolink, Renner GmbH, Dannstadt) in einer Dunkelkammer sichtbar gemacht und mit einer an einen Computer angeschlossenen Kamera und der BioCapt Software dokumentiert.

4 Ergebnisse

4.1 Rasterelektronenmikroskopie

4.1.1 Infundibulum

Veränderungen im Zyklus

Am Tag 0 besteht das Schleimhautepithel überwiegend aus Zilienzellen. Jede dieser Zellen ist so dicht mit Zilien bedeckt, dass die Zellgrenzen verborgen bleiben. Nur vereinzelt sind die abgeflachten, mit kurzen Mikrovilli besetzten sekretorischen Zellen in der Tiefe des Zellverbandes zu erkennen. Das gleiche Erscheinungsbild ist auch im Metöstrus zu beobachten. In der lutealen Phase des Ovarialzyklus (Tag 10-13) haben viele sekretorische Zellen bereits deutlich an Größe zugenommen. Ihre, von zahlreichen Mikrovilli bedeckte Oberfläche wölbt sich in das Lumen des Eileiters hervor. Die Zilienbüschel der Zilienzellen wirken jetzt lichter und es sind häufig Lücken im Zilienverband zu erkennen (Abb.4).

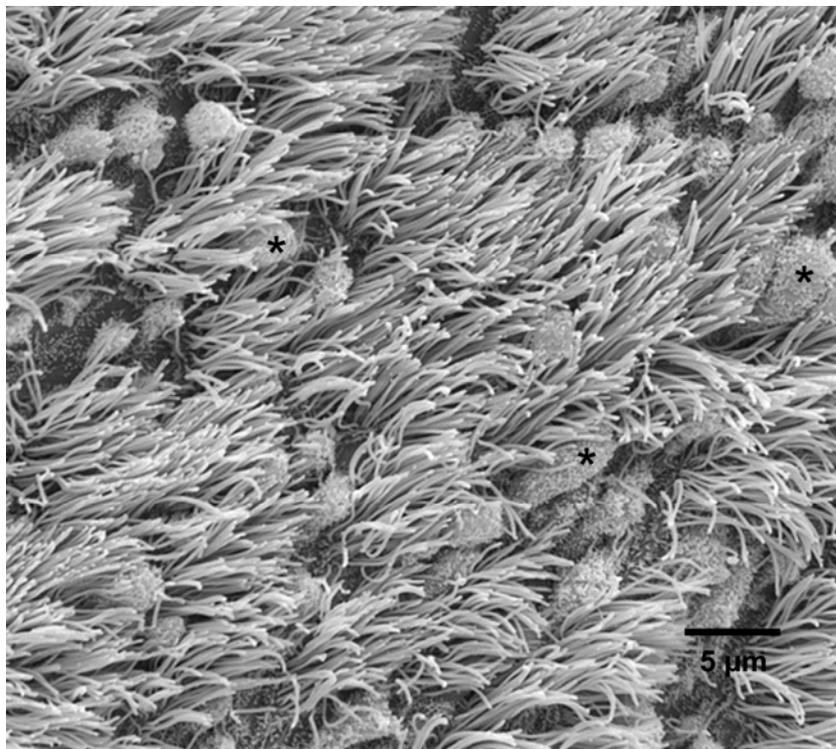


Abb. 4: Infundibulum, Zyklus, Tag 10. Die Oberfläche der sekretorischen Zellen (*) ist überwiegend vorgewölbt und der Zilienverband hat sich gelichtet.

Am 18. Tag des Ovarialzyklus, im frühen Proöstrus des Schweins, sind die sekretorischen Zellen die dominierende Zellart. Charakteristisch für diesen Zyklustag ist, dass sich das apikale Drittel der Zellen deutlich in das Lumen hervorwölbt (Abb. 5). Diese Protrusionen weisen zum Teil Unterschiede in Form und Größe auf. Einige sind lang gestreckt und haben von ihrer Basis bis zu ihrer Spitze einen nahezu gleichmäßigen Durchmesser von ca. 2-3 μm , andere besitzen apikal eine birnenförmige Auftreibung von bis zu 5 μm (Abb. 6). Dazwischen sind immer wieder kürzere, plumpe Protrusionen zu erkennen. Auf ihrer Oberfläche sind zahlreiche Mikrovilli lokalisiert, die ebenfalls ein unterschiedliches Erscheinungsbild zeigen. Es reicht von kurzen gedrungenen bis hin zu länglichen schmalen Fortsätzen (Abb. 6). Die Zilien der zilientragenden Zellen treten zwischen den ausladenden Protrusionen der sekretorischen Zellen in den Hintergrund und werden teilweise ganz von ihnen verborgen (Abb.5).

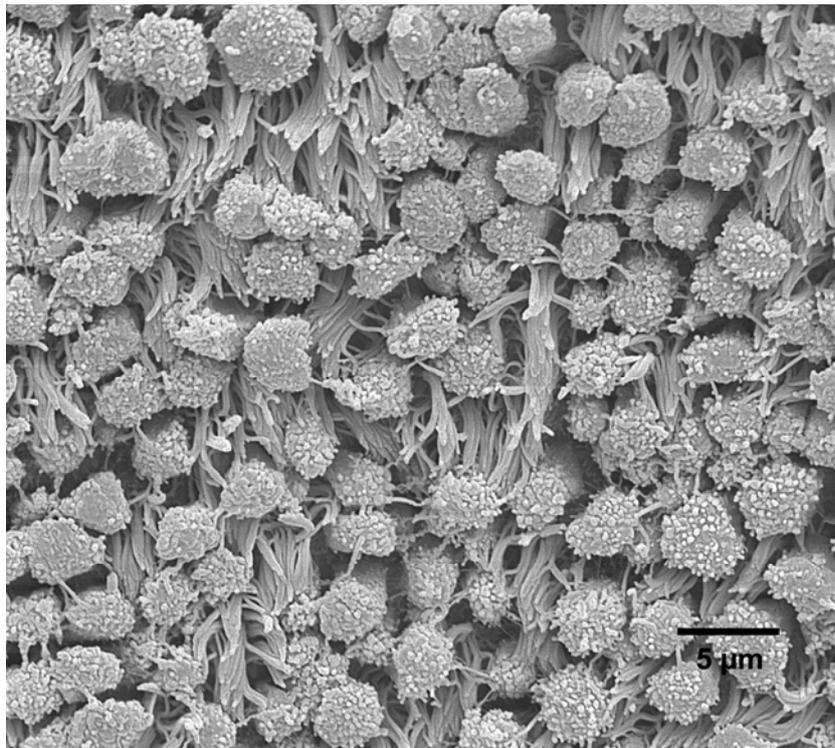


Abb. 5: Infundibulum, Zyklus, Tag 18. Die sekretorischen Zellen überwiegen und wölben sich deutlich in das Lumen des Eileiters hervor.

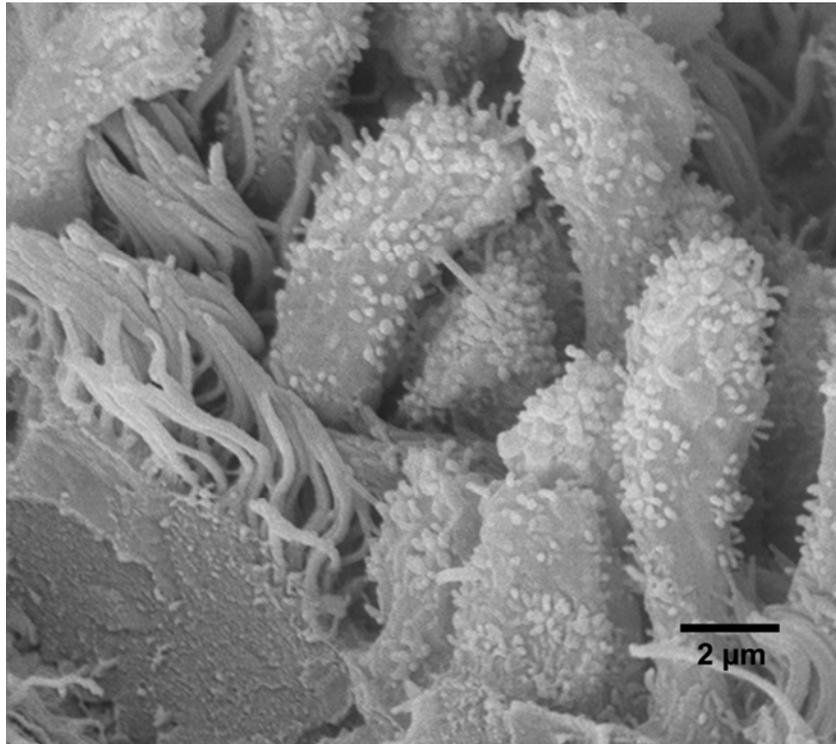


Abb. 6: Infundibulum, Zyklus, Tag 18. Bruchlinie des Epithels. Die sekretorischen Zellen weisen mächtige, in das Lumen hervortretende Protrusionen auf.

Veränderungen in der Trächtigkeit

Rasterelektronenmikroskopisch kann die Oberflächenstruktur des Eileiterepithels 2-3 Tage *post inseminationem* nicht von der der zyklischen Tiere unterschieden werden. Die Zilienzellen sind ebenfalls die dominierende Zellart. Sie bilden mit ihren Zilienbüscheln einen dichten teppichartigen Verband, durch welchen nur vereinzelt sekretorische Zellen in der Tiefe erkennbar sind. Bis zum 14. Tag der Trächtigkeit haben die sekretorischen Zellen deutlich an Größe zugenommen und sind durch Protrusionen charakterisiert, welche sich vom Untergrund abheben. Ihre apikalen Bereiche besitzen eine kugelförmige Gestalt und unterschiedliche Größe. Der apikale Durchmesser beträgt 2-6 μm und befindet sich meist mit den Spitzen der Zilien auf einer Ebene. Die größeren Protrusionen sind weniger dicht mit Mikrovilli besetzt und wirken balloniert. Die zilientragenden Zellen nehmen größere, flächig zusammenhängende Areale zwischen den sekretorischen Zellen ein. Am 23.-25. Trächtigkeitstag zeigen die sekretorischen Zellen zahlreiche Protrusionen, welche deutlich in das Lumen des Eileiters hervortreten. Diese stellen sich kleiner, mit weniger stark

ausgeprägten Größenunterschieden dar (Abb. 7). Im Mittel liegt der Durchmesser des apikalen Bereichs bei $2,8\ \mu\text{m}$. In Form von schmalen, spärlichen Büscheln ragen die Zilien der zwischen ihnen liegenden Zilienzellen etwas über die Oberfläche der sekretorischen Zellen hinaus.

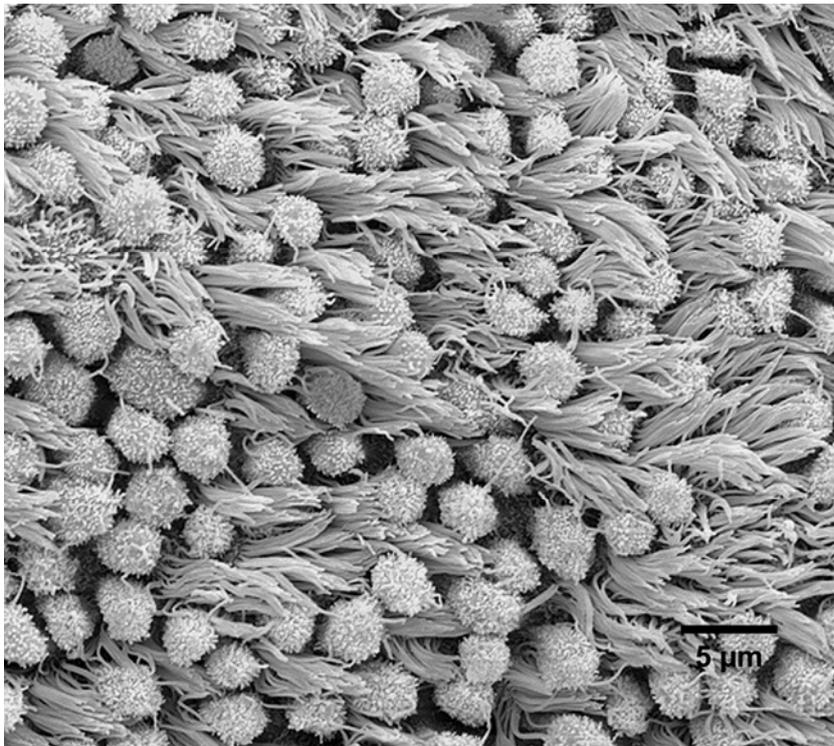


Abb. 7: Infundibulum, 23. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen sind mit Protrusionen ausgestattet, welche eine einheitliche Größe besitzen.

In der Graviditätsmitte (65.-71. Trächtigkeitstag) sind deutliche Veränderungen der Epithelstruktur darstellbar (Abb. 8). Sekretorische Zellen dominieren weiterhin, sind aber wesentlich flacher als in den vorangegangenen Trächtigkeitsstadien. Ihre Oberflächen sind nur noch leicht vorgewölbt und sie weisen keine Protrusionen auf. Sie sind durchweg dicht mit Mikrovilli besetzt. Die Zilienzellen liegen vereinzelt zwischen den sekretorischen Zellen und ihre Zilien überragen deren Oberfläche deutlich.

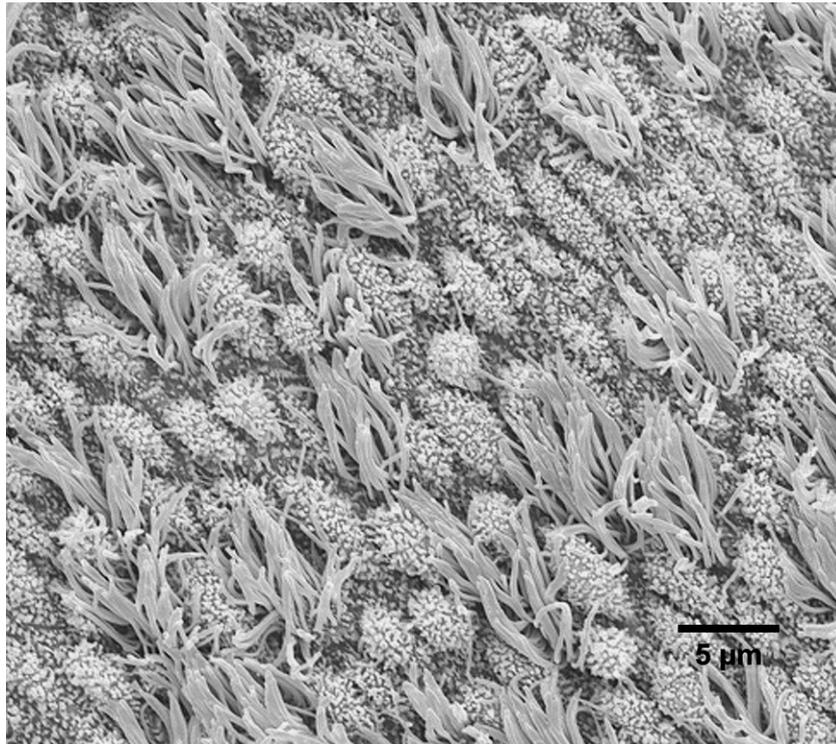


Abb. 8: Infundibulum, 71. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen weisen keine Protrusionen auf.

4.1.2 Ampulle

In der Ampulle sind Veränderungen der Oberflächenstruktur im Verlauf von Zyklus und Trächtigkeit am deutlichsten ausgeprägt.

Veränderungen im Zyklus

Abbildung 9 zeigt das rasterelektronenmikroskopische Bild des Ampullenepithels im Östrus. Die Oberfläche ist von einem dicht geschlossenen Zilient Teppich bedeckt. Die sekretorischen Zellen sind vollständig darunter verborgen.

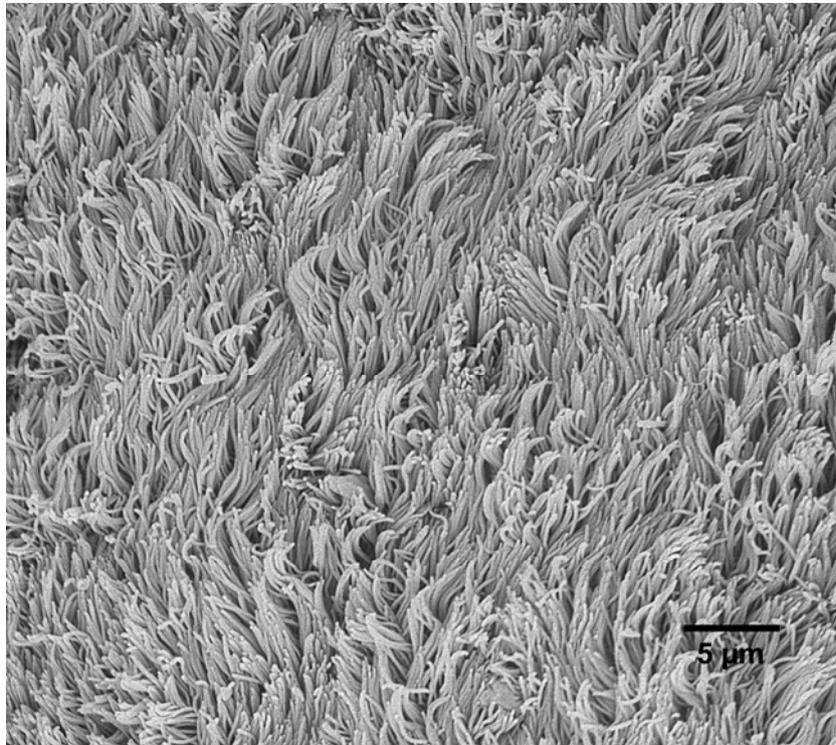


Abb. 9: Ampulle, Zyklus, Tag 0. Die Oberfläche des Eileiterepithels ist von einem geschlossenen Zilientepich bedeckt.

Im Metöstrus lockert sich der dichte Zilienverband auf und die sekretorischen Zellen stellen sich als kugelig hervortretende Gebilde mit leicht höckeriger Oberfläche dar. Es sind kaum Mikrovilli vorhanden. Die Zilien der zilientragenden Zellen ragen über die sekretorischen Zellen hinaus (Abb. 10).

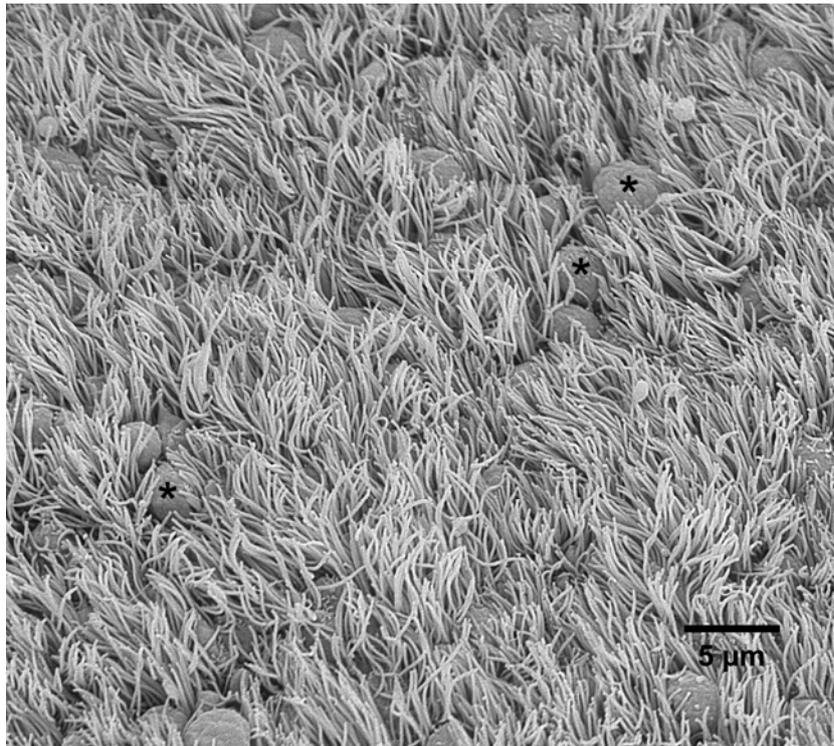


Abb. 10: Ampulle, Zyklus, Tag 2-3. Die Oberflächen der sekretorischen Zellen (*) wölben sich kugelig zwischen den Zilien hervor.

Im weiteren Verlauf des Zyklus treten die Protrusionen der sekretorischen Zellen immer deutlicher hervor. Um den 10. Tag befinden sich die Oberflächen der sekretorischen Zellen dicht unter den Spitzen der Zilienzellen. Im frühen Proöstrus nehmen die Protrusionen ähnlich wie im Infundibulum (Abb. 5) weiter sowohl an Zahl wie auch an Größe zu, bis sie die Zilienzellen deutlich überragen und teilweise ganz verbergen. Die Oberfläche der sekretorischen Zellen ist nun dicht mit Mikrovilli besetzt. Der Durchmesser der Protrusionen variiert in den apikalen Bereichen zwischen 2,9-4,5 µm und sie sind rund bis oval geformt.

Veränderungen in der Trächtigkeit

Unmittelbar nach der Insemination gleicht das rasterelektronenmikroskopische Bild des Ampullenepithels dem des entsprechenden zyklischen Stadiums. Die Zilienzellen sind vorherrschend. Sie bilden mit ihren Zilien einen großflächig zusammenhängenden Verband, welcher vereinzelt von den rundlichen Vorwölbungen sekretorischer Zellen unterbrochen wird. Diese weisen eine leicht höckerige Oberfläche auf. Am 14. Trächtigkeitstag sind die sekretorischen Zellen wieder dominierend. Auf ihrer Oberfläche befinden sich meist zahlreiche kurze, gedrungene Mikrovilli, jedoch treten auch vereinzelt

Protrusionen auf, die keine oder nur wenige Mikrovilli tragen. Sie besitzen eine kugelige Form und zeigen auch hier zum Teil deutliche Größenunterschiede. So haben die kleineren Protrusionen einen Durchmesser von 3,4 bis 3,8 μm , die größeren dagegen bis zu 6 μm . Die dicht angeordneten Zilien der Zilienzellen haben ein kompaktes, plumpes Erscheinungsbild und bleiben mit ihrer Spitze unterhalb der Oberfläche der sekretorischen Zellen (Abb. 11).

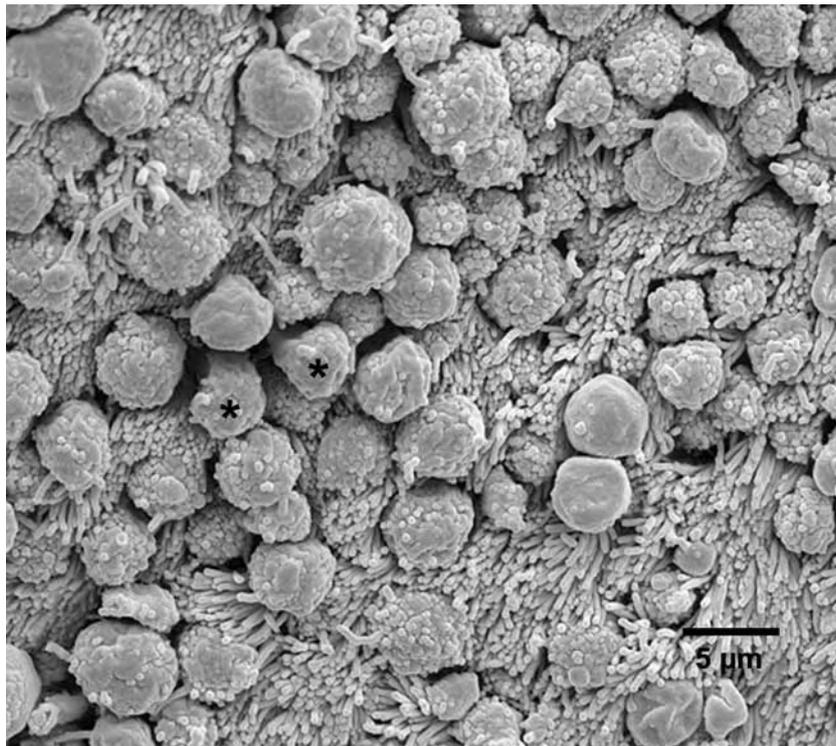


Abb. 11: Ampulle, 14. Trächtigkeitstag. Dominanz der sekretorischen Zellen. Die Protrusionen sind teilweise gestielt (*) und weisen starke Größenunterschiede auf.

Mit dem Fortschreiten der Trächtigkeit bleiben die sekretorischen Zellen die vorherrschende Zellart. In der 3. Trächtigungswoche liegen die Durchmesser der Protrusionen im apikalen Bereich zwischen 2,0 und 3,6 μm . Am 71. Tag *post inseminationem* werden die sekretorischen Zellen von den Zilien überragt. Dennoch ist ihre Oberfläche noch immer deutlich in das Lumen vorgewölbt. Ihr apikaler Durchmesser liegt zwischen 1,6 und 4,5 μm . Sie sind bis auf wenige Ausnahmen dicht mit Mikrovilli besetzt (Abb. 12).

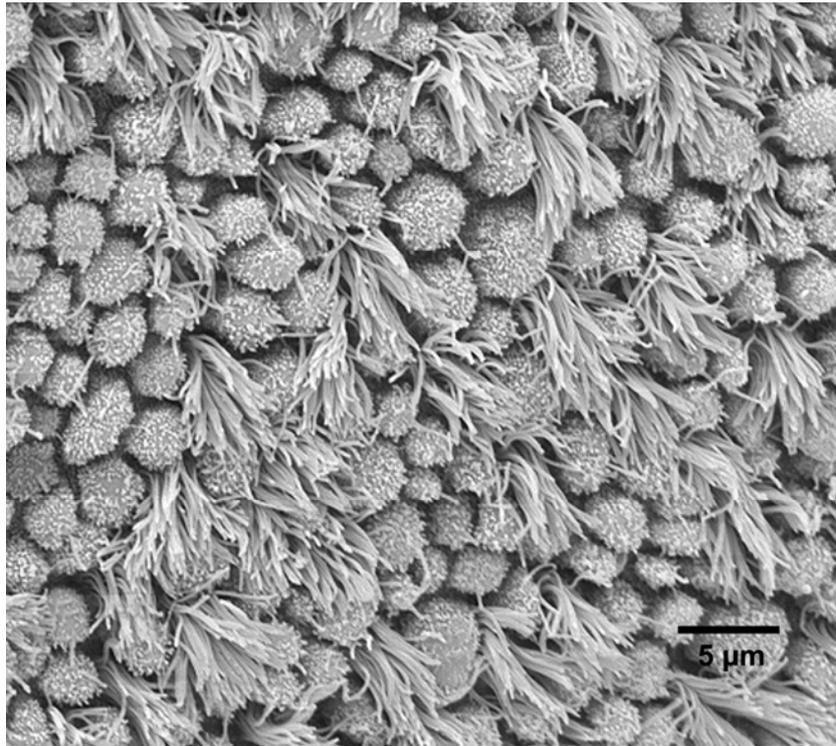


Abb. 12: Ampulle, 71. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen sind dicht mit Mikrovilli besetzt und die Zilien ragen über ihre Oberfläche hinaus.

4.1.3 Isthmus

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen des Schleimhautepithels im distalen Abschnitt des Eileiters ergaben im Verlauf des Zyklus und der Trächtigkeit keine ausgeprägten Unterschiede in der Morphologie der Oberflächenstruktur.

Auf Abbildung 13 ist die typische Zusammensetzung der Oberfläche des Isthmusepithels zu sehen. Die sekretorischen Zellen sind zu Beginn des Zyklus bzw. der Trächtigkeit gleichmäßig mit Mikrovilli besetzt. Mit Fortschreiten des Zyklus und im weiteren Verlauf der Trächtigkeit geht dieser Besatz bei vielen sekretorischen Zellen zurück, stellenweise entstehen mikrovillifreie Areale auf der Oberfläche. Diese ist in allen untersuchten Zyklusstadien stets flach und Protrusionen werden zu keinem Zeitpunkt beobachtet. Im Isthmus sind im Vergleich zu Infundibulum und Ampulle erheblich weniger Zilienzellen vorhanden. Sie sind nur vereinzelt im Bereich der Spitze der luminalen Falten lokalisiert. Ihre Zilienbüschel ragen deutlich über die Oberfläche der sekretorischen Zellen hervor.

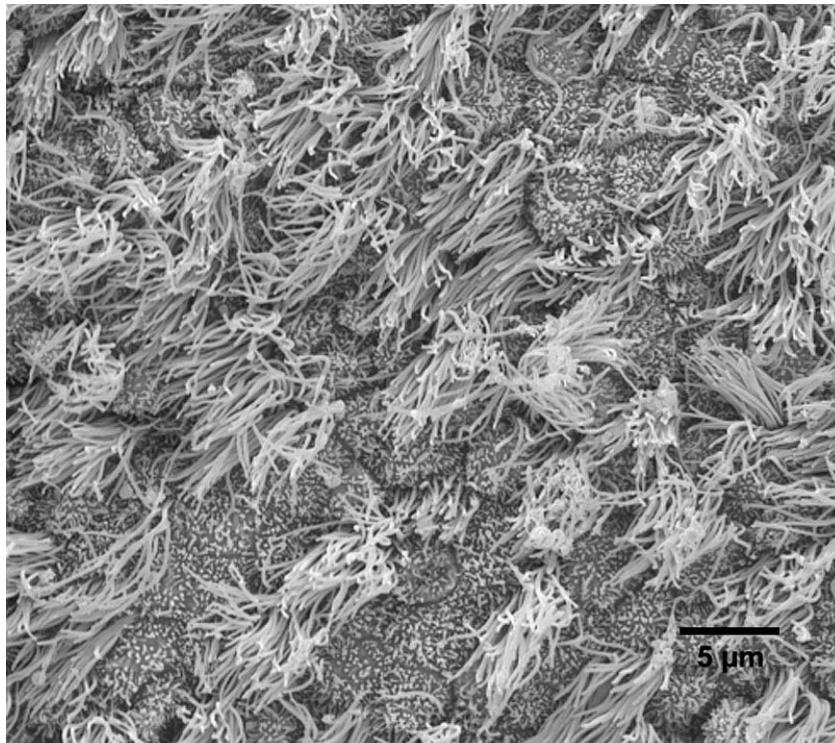


Abb. 13: Isthmus, 2-3 Tage *post inseminationem*. Typisches Bild der Epitheloberfläche. Einzelne lichte Zilienbüschel treten zwischen den sekretorischen Zellen hervor.

4.1.4 Uterotubaler Übergang (UTJ)

An der Mündungsstelle des Eileiters in die Spitze des Gebärmutterhorns fallen deutlich in das Lumen hervortretende Schleimhautfortsätze auf (Abb. 14). Mündungsnah haben diese Fortsätze ein kissen- oder polsterartiges Aussehen und greifen so ineinander, dass das Lumen vollständig ausgefüllt wird. Mündungsfern nehmen sie eine eher zungenförmige Gestalt an und liegen locker aneinander.

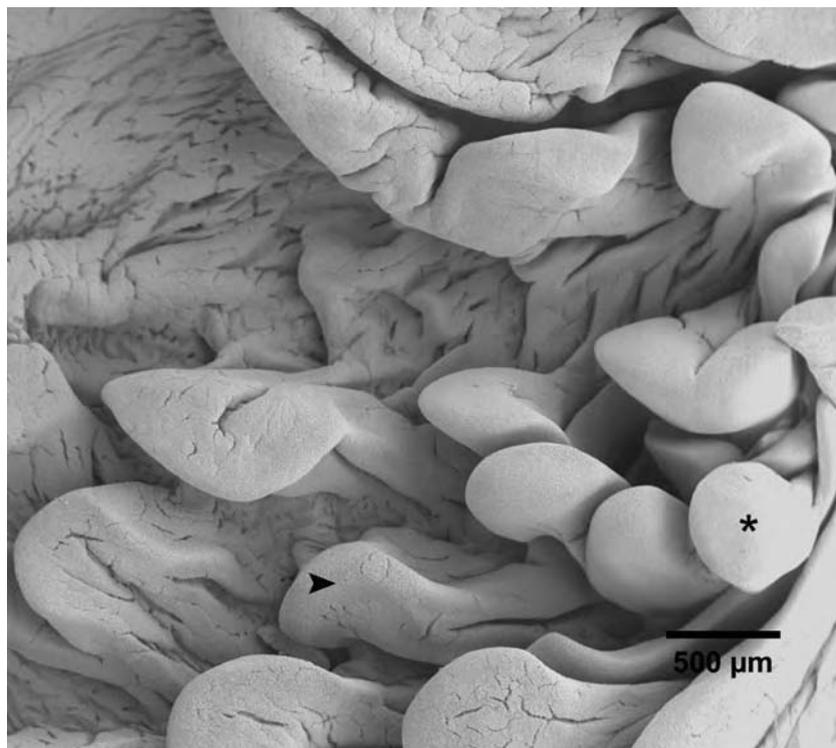


Abb. 14: Uterotubaler Übergang. Fester Verschluss der Mündung des Eileiters in den Uterus durch kissenartige (*) bzw. zungenförmige (▶) Fortsätze.

Das Erscheinungsbild des Schleimhautepithels des uterotubalen Übergangs stimmt weitgehend mit dem des Isthmus überein. Zwischen den zahlreich vertretenen flachen sekretorischen Zellen mit ihren deutlich ausgeprägten Mikrovilli, treten nur vereinzelt Zilienbüschel hervor.

Die lichtmikroskopische Untersuchung des uterotubalen Übergangs ergibt den klassischen histologischen Aufbau aus *Tunica mucosa* mit *Lamina epithelialis mucosae* und subepithelialelem Bindegewebe, *Tunica muscularis* und *Tunica serosa*.

Die das Lumen des uterotubalen Übergangs auskleidende *Lamina epithelialis* weist regional beachtliche Unterschiede auf. Im proximalen Bereich gleicht das Schleimhautepithel weitgehend dem des Isthmus. Es besteht aus einem flachen, einschichtigen, stellenweise leicht mehrreihigen, hochprismatischen Epithel mit zilientragenden und sekretorischen Zellen (Abb. 15).

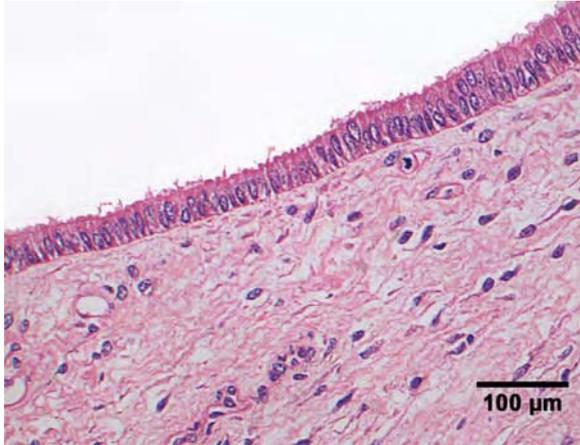


Abb. 15:

Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Im proximalen Bereich gleicht das Schleimhautepithel dem des Eileiters. Es handelt sich um ein flaches, einschichtiges, hochprismatisches Epithel, welches stellenweise eine leichte Mehrreihigkeit aufweist. Hämatoxilin-Eosin-Färbung

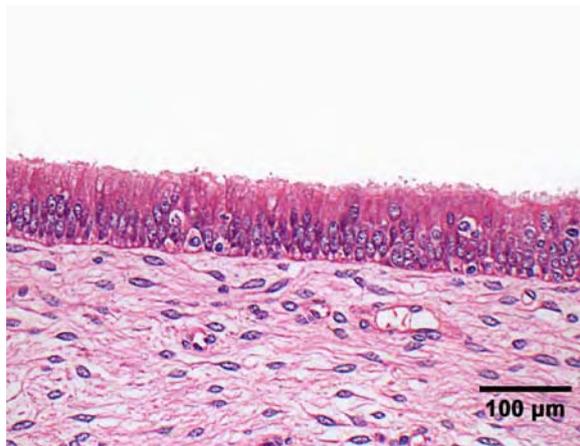


Abb. 16:

Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Im Bereich der prominenten Schleimhautfalten nimmt das einschichtige Epithel stark an Höhe zu und zeigt eine deutliche Mehrreihigkeit. Hämatoxilin-Eosin-Färbung

Distal davon, an den prominenten Schleimhautfalten, nimmt das Epithel an Höhe zu und weist eine deutliche Mehrreihigkeit auf (Abb. 16), welche im Östrus besonders ausgeprägt ist. In einigen Abschnitten fallen innerhalb des Epithelzellverbandes vermehrt sehr schmale Zellen auf, deren Kerne lang gezogen sind, und die nur wenig kompaktes Zytoplasma aufweisen. Im Bereich der Basallamina findet man immer wieder einzeln liegende Lymphozyten oder Plasmazellen.

Einzelne Tiere weisen auffällige Modifikationen des Schleimhautepithels des uterotubalen Übergangs auf. Hier liegen, insbesondere an den Kuppen der Schleimhautfalten Veränderungen des einschichtigen, mehrreihigen Epithels hin zu mehrschichtigen,

unverhornten Abschnitten vor. An diesen Stellen erkennt man deutlich ein *Stratum basale*, welches von einem bindegewebigen Papillarkörper unterlagert wird. An das Stratum basale schließt sich ein *Stratum spinosum* an. Innerhalb dieser Schicht sind bisweilen Vakuolen zu sehen. Oberflächlich wird das Epithel von einem abgeplatteten *Stratum superficiale* bedeckt (Abb. 17).

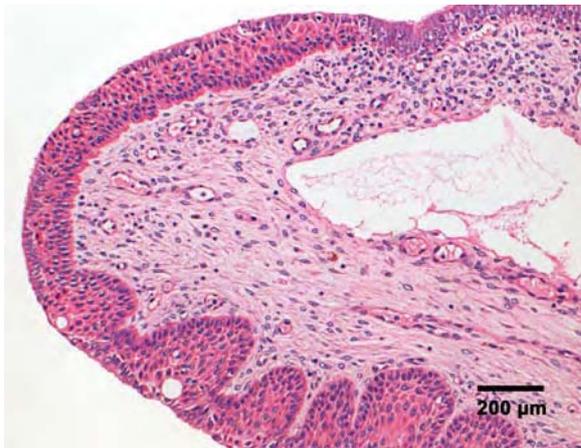


Abb. 17: Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Als Besonderheit treten bei einzelnen Tieren, v.a. an den Spitzen der Schleimhautfalten Modifikationen des einschichtigen, mehrreihigen Epithels hin zu mehrschichtigen, unverhornten Epithelabschnitten auf. Es ist deutlich ein *Stratum basale* und *Stratum spinosum* zu erkennen. Hämatoxilin-Eosin-Färbung

Die Verbindungsschicht zwischen Schleimhautepithel und Muskulatur, welche die Grundlage der prominenten Schleimhautfalten bzw. -kissen darstellt, wird von einem subepithelialen Bindegewebe gebildet. In diesem subepithelialen Bindegewebe sind zahlreiche Blutgefäße, v. a. relativ großlumige Venen und Lymphgefäße lokalisiert (Abb. 18 u. 19). Sie sind in mehreren Schichten angeordnet. In der folliculären Phase des Ovarialzyklus ist das Bindegewebe der Schleimhautfalten aufgelockert und auseinandergezogen (Abb. 18), in der lutealen Zyklusphase dagegen deutlich kompakter (Abb. 19). Im distalen Bereich des Übergangs sind an der Basis der Schleimhautfalten Uterindrüsen in das subepitheliale Bindegewebe eingelagert. Diese kennzeichnen die Grenze vom Gewebe des Uterus zu dem des uterotubalen Übergangs.

Die *Tunica muscularis* zeigt beim Schwein im Bereich des uterotubalen Übergangs einen zweischichtigen Aufbau. Dem subepithelialen Bindegewebe liegt zunächst eine kräftige innere, zirkulär verlaufende Lage glatter Muskulatur auf. Daran schließt sich die äußere longitudinal verlaufende, etwas schwächer ausgeprägte Muskelschicht an. Den äußeren Abschluss bildet die *Tunica serosa*, bestehend aus einem einschichtigen Plattenepithel.

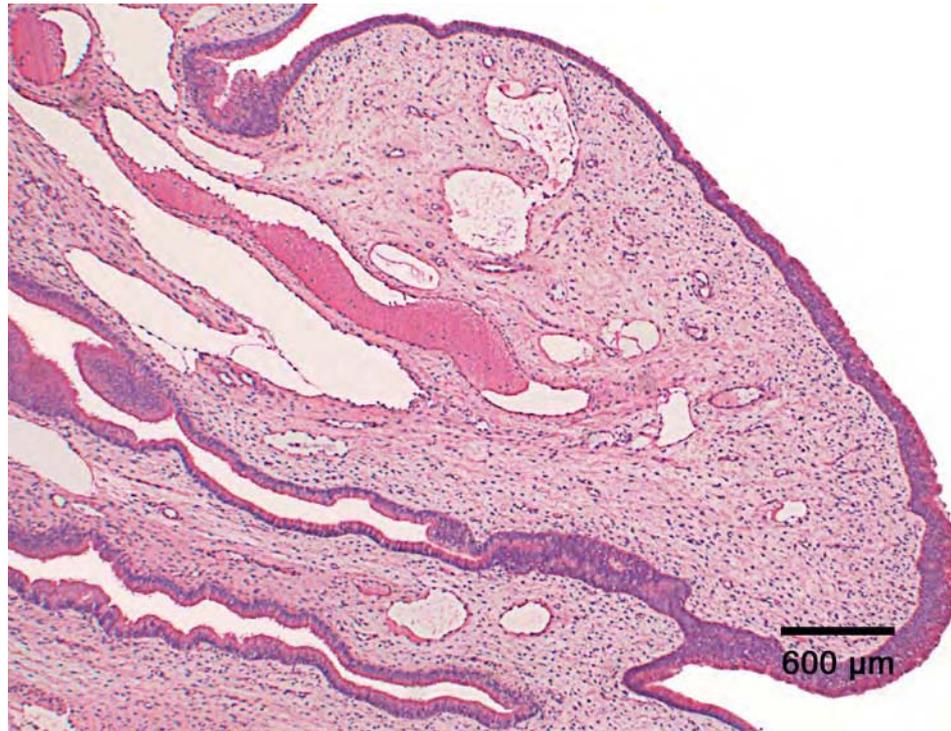


Abb. 18: Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Mehrere großlumige, in Schichten angeordnete, längs verlaufende Venen und Lymphgefäße sind in den kissenartigen Schleimhautfalten lokalisiert. Das subepitheliale Bindegewebe ist aufgelockert und ödematisiert. Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

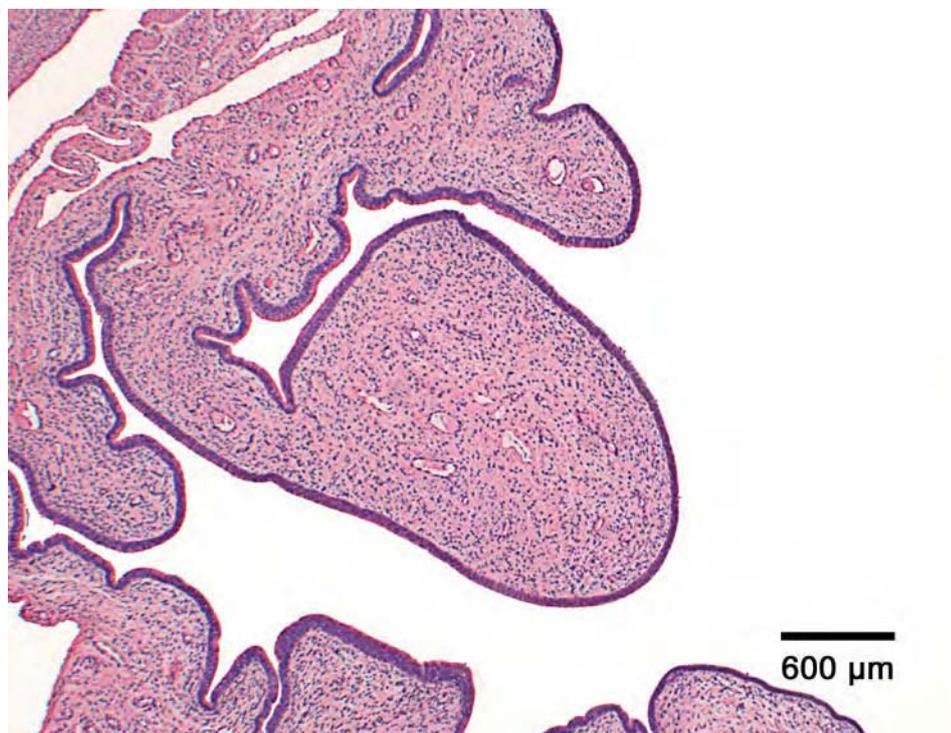


Abb. 19: Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 13. Im Diöstrus ist das subepitheliale Bindegewebe deutlich kompakter als im Östrus. Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

4.2 Immunhistochemie und RT-PCR

4.2.1 Growth Hormon-Rezeptor (GH-R)

Die immunhistochemischen Untersuchungen in den verschiedenen Abschnitten des Ovidukts zeigen, dass zahlreiche Zellen des Schleimhautepithels eine Expression des GH-R aufweisen. Die positiv markierten Zellen zeigen eine homogene zytoplasmatische Färbung. Die Kerne der Epithelzellen sind nicht angefärbt (Abb. 20). Auffällig ist zudem in vielen Fällen die deutliche Markierung des Blepharoplastensaumes, nicht aber der Zilien. Neben den positiv markierten Epithelzellen liegen stets auch nicht markierte Zellen vor (Abb. 20). Die Anzahl und die Intensität der GH-R-positiven Zellen variiert deutlich im Verlauf von Zyklus und Trächtigkeit, sowie in Abhängigkeit von der Lokalisation im Eileiter.

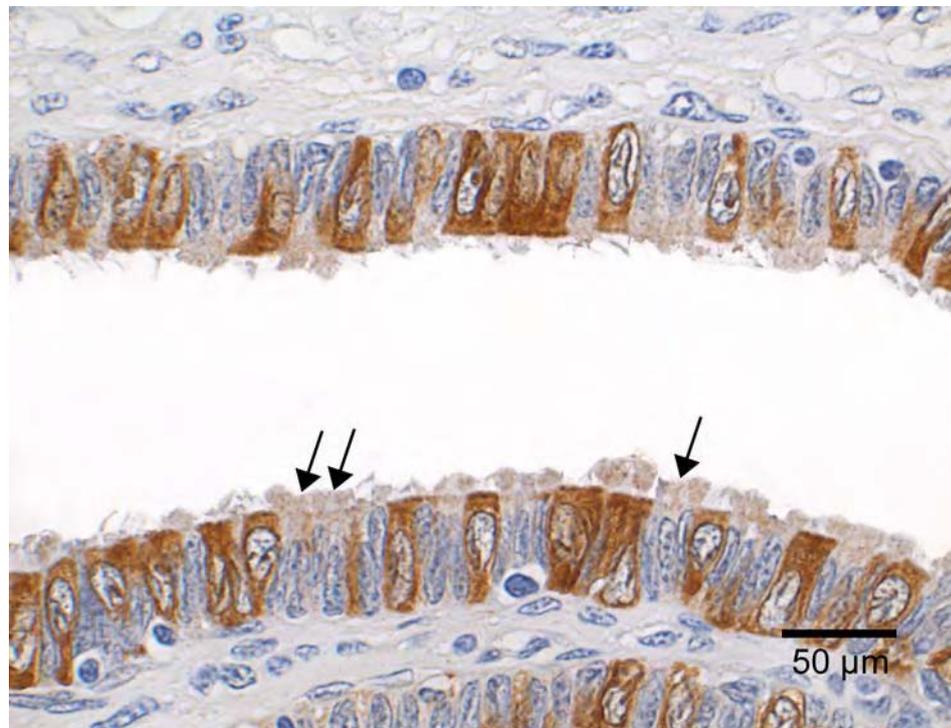


Abb. 20: Ampulle, Zyklus, Tag 10. Expression des GH-R im Zytoplasma von zahlreichen luminalen Epithelzellen im Ovidukt des Schweins. Daneben liegen immer wieder auch ungefärbte Epithelzellen vor (→). DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Neben der zytoplasmatischen Anfärbung zahlreicher Epithelzellen liegt in der Regel auch eine leicht positive Markierung des in den Blutgefäßen enthaltenen Serums vor. Negativ ist in allen untersuchten Stadien das bindegewebige Stroma des Eileiters mit eingelagerten Blut- und Lymphgefäßen, Lymphozyten, sowie das Serosaepithel. Die in einigen wenigen Stadien sichtbare minimale Anfärbung der *Tunica mucularis* entspricht einer leichten Hintergrundfärbung.

Um die, durch die immunhistochemische Einfachfärbung positiv markierten Zellen genau definieren zu können, wurde eine Doppelfärbung mit Antikörpern gegen GH-R und dem Zilienmarker Tubulin- β IV angeschlossen. So kann die Verteilung der Expression von GH-R innerhalb der verschiedenen Epithelzelltypen exakt lokalisiert werden. Es zeigt sich, dass ausschließlich die zilientragenden Zellen, erkennbar an ihrem sehr stark angefärbten Ziliensaum (schwarz), den GH-R (violett) zytoplasmatisch exprimieren. Die nicht-zilientragenden bzw. sekretorischen Zellen zeigen dagegen weder eine Expression von Tubulin- β IV noch von GH-R (Abb. 21).

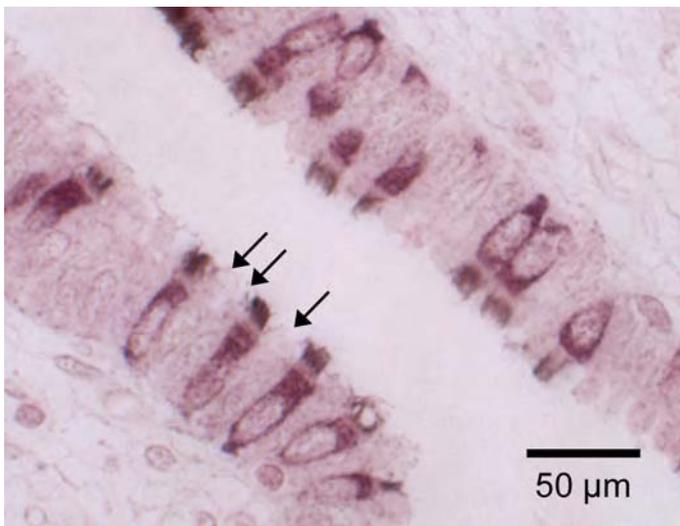


Abb. 21:

Ampulle, Zyklus, Tag 18. Nur die zilientragenden Epithelzellen (schwarz markierte Zilienbüschel) weisen auch eine Expression des GH-R (violett markiert) im Zytoplasma auf. Sekretorische Zellen sind nicht markiert (\rightarrow). Immunhistochemische Doppelfärbung mit Vector Black und Vector VIP.

Infundibulum

Innerhalb des Infundibulums gibt es zum Teil große Unterschiede im Expressionsmuster. So sind im Bereich der Fimbrien, insbesondere an deren Basis, oftmals erheblich mehr angefärbte Zellen zu erkennen, wie in den dazwischen liegenden faltenarmen Abschnitten (Abb. 22).

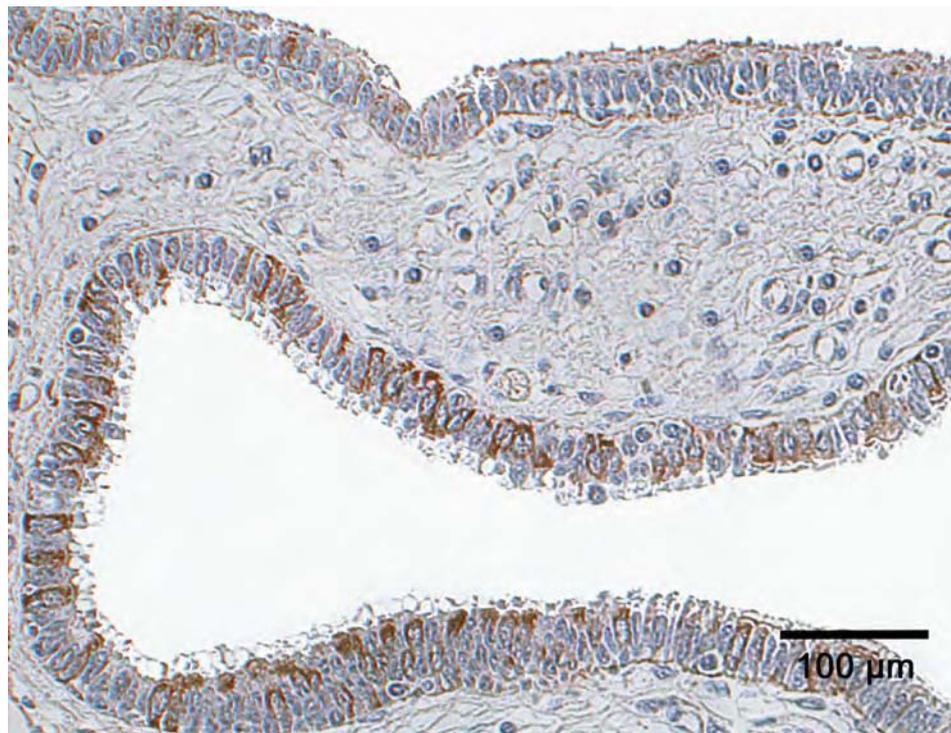


Abb. 22: Infundibulum, Zyklus, Tag 10. Anhäufung GH-R-positiv markierter Zellen im Bereich der Schleimhautfaltenbasis. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Im Östrus weist das Oberflächenepithel des Eileitertrichters die höchste Anzahl an GH-R-markierten Zellen auf (Abb. 23). Gleichzeitig zeigt sich eine sehr starke Intensität der Farbreaktion. In den folgenden Zyklusstadien nehmen sowohl die Anzahl der positiven Zellen (Abb. 23 u. Tab. A1), wie auch die Intensität der Anfärbung deutlich ab.

In den untersuchten Trächtigkeitsstadien ist bis zum 65.-71. Trächtigkeitstag hin ein leichter, kontinuierlicher Rückgang der positiv markierten Zellen innerhalb des Eileiterepithels zu beobachten (Abb. 24 u. Tab. A1). Dagegen ist in Bezug auf die Intensität der positiven Farbreaktion zum 65.-71. Trächtigkeitstag eine deutliche Zunahme zu erkennen.

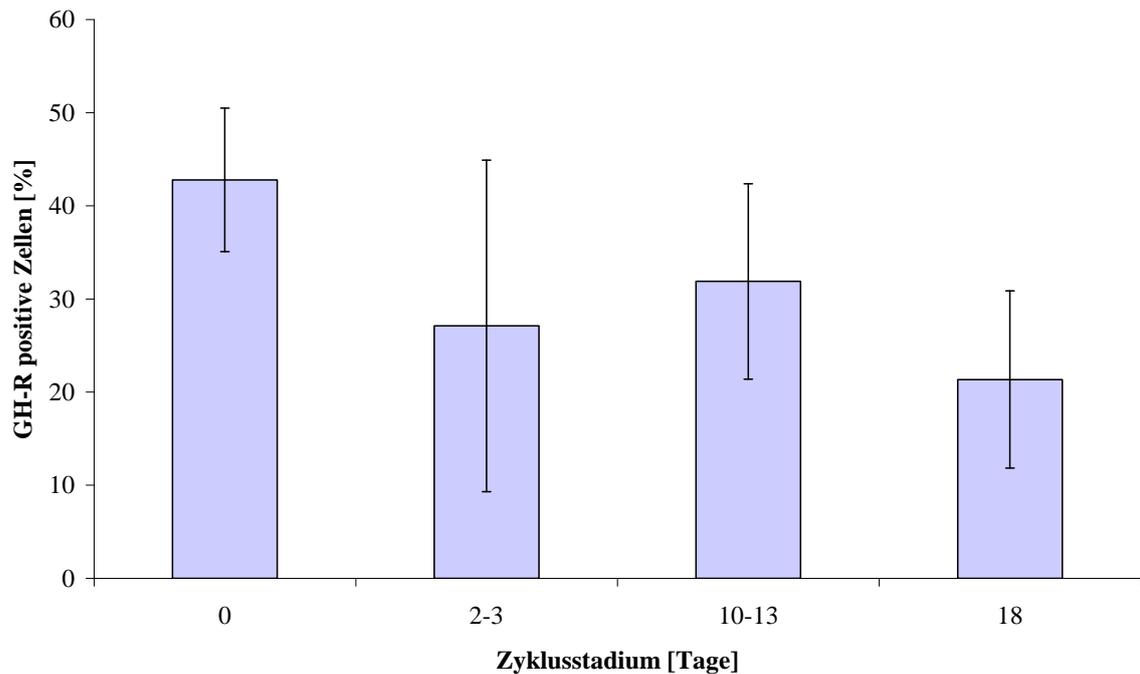


Abb. 23: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Infundibulums im Zyklusverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Die meisten positiven Zellen werden hier zu Beginn des Zyklus gezählt. (Anzahl der Tiere n = 3)

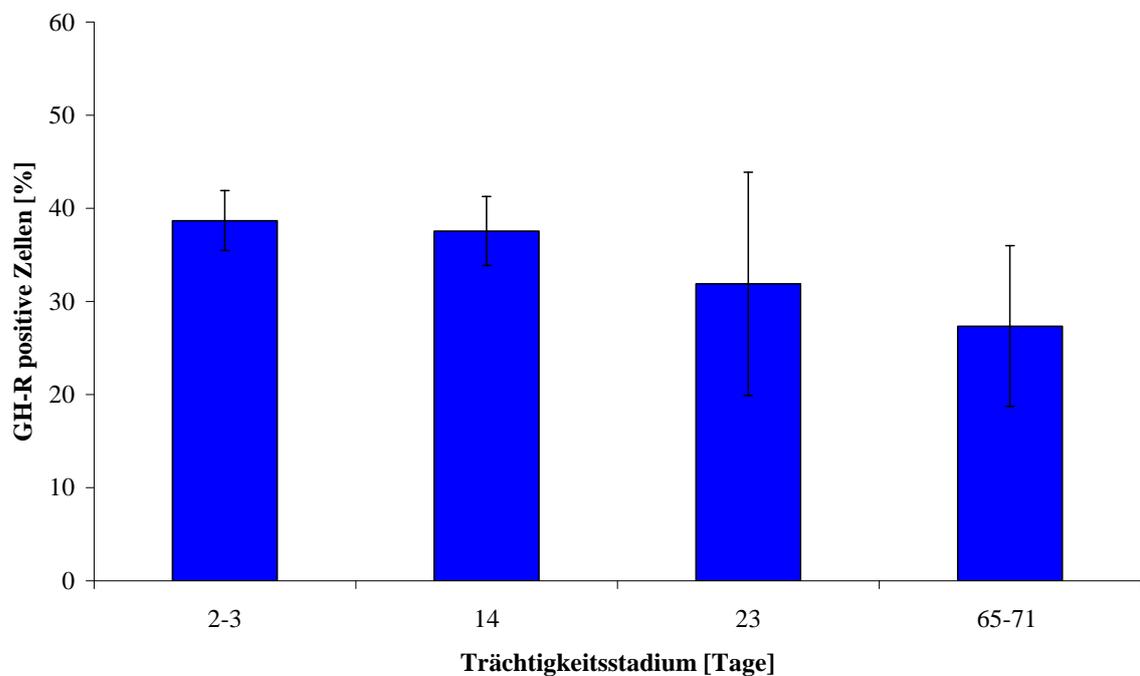


Abb. 24: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Infundibulums im Trächtigkeitsverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Geringgradiger kontinuierlicher Rückgang der positiv markierten Zellen. (Anzahl der Tiere n = 3)

Ampulle

Auch im Oberflächenepithel der Ampulle sind deutliche regionale Unterschiede im immunhistochemischen Expressionsmuster der GH-R-positiven Zellen vorhanden. So sind in der Regel an der Basis der Schleimhautfalten mehr positiv markierte Zellen nachzuweisen, als im lumennahen Bereich der Falten Spitze (Abb. 25). Die Intensität der Farbreaktion im Zytoplasma der Epithelzellen korreliert mit diesen Befunden, so sind die positiven Zellen an der Faltenbasis deutlich intensiver gefärbt, als die an der Falten Spitze (Abb. 25).

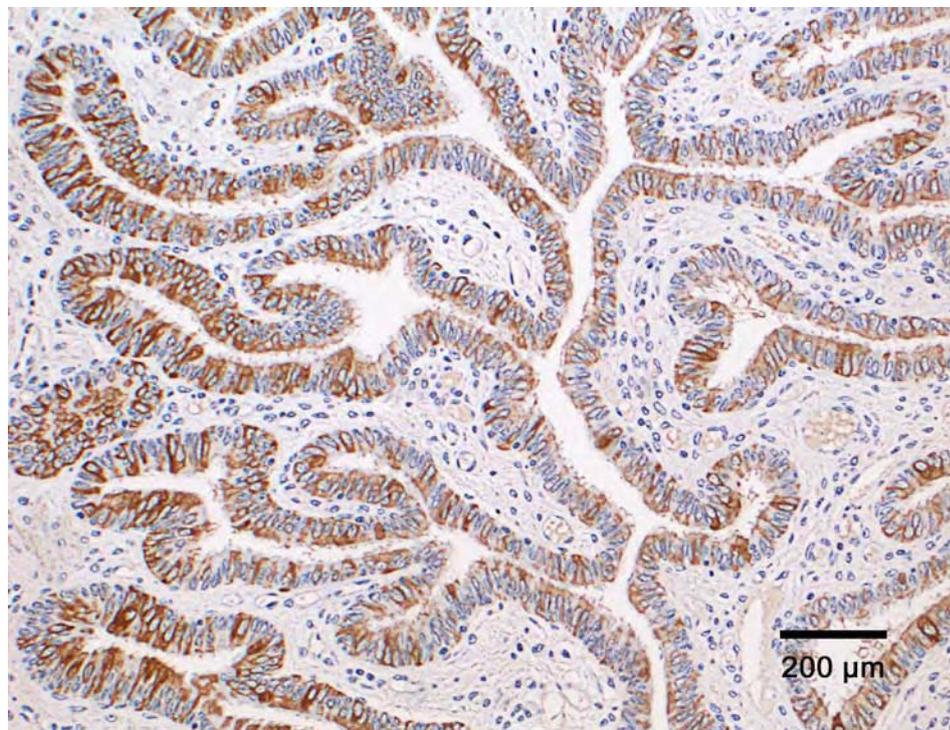


Abb 25: Ampulle, 2-3 Tage *p. inseminationem*. Deutlich stärkere Intensität der Farbreaktion, sowie höhere Anzahl von GH-R-positiven Zellen im basalen Bereich der Schleimhautfalten. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Während des Zyklus kann im Östrus und Metöstrus die höchste Anzahl an GH-R-positiven Zellen nachgewiesen werden, im Diöstrus dagegen die geringste (Abb. 27 u. Tab. A3 a+b). Die stärkste Intensität der Farbreaktion findet sich ebenfalls im Zeitraum des Östrus. Im weiteren Zyklusverlauf zeigt sich eine leichte Abschwächung mit den niedrigsten Werten während der lutealen Phase.

Im Verlauf der Trächtigkeit bleibt die Anzahl der GH-R-positiv markierten Zellen zunächst weitgehend konstant hoch, am 23. und 65.-71. Trächtigkeitstag sind dann deutlich weniger positive Zellen zu finden (Abb. 28 u. Tab. A3 a+b). Nach anfänglich sehr starker Färbung (2-3 Tage *p. insemin.*) kann in den untersuchten späteren Trächtigkeitsstadien (14., 23. sowie 65.-71. Trächtigkeitstag) eine sichtlich abgeschwächte Farbreaktion verzeichnet werden.

Eine weitere Auffälligkeit während der letzten drei untersuchten Trächtigkeitsstadien ist die sehr starke Anfärbung einzelner Zellen des Schleimhautepithels. Diese Zellen besitzen im Vergleich zu den übrigen Epithelzellen einen sehr großen, hellen, chromatinarmen Kern (Abb. 26).

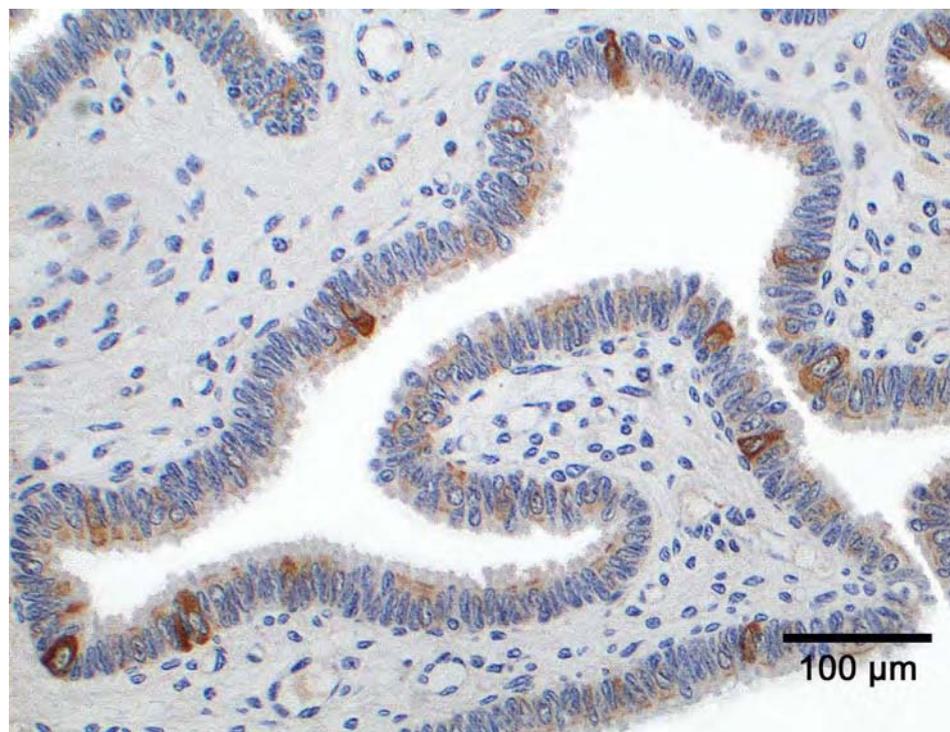


Abb. 26: Ampulle, 71. Trächtigkeitstag. Einzelne GH-R-positive Epithelzellen mit großem, chromatinarmen Kern weisen eine sehr starke Intensität der Farbreaktion auf. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

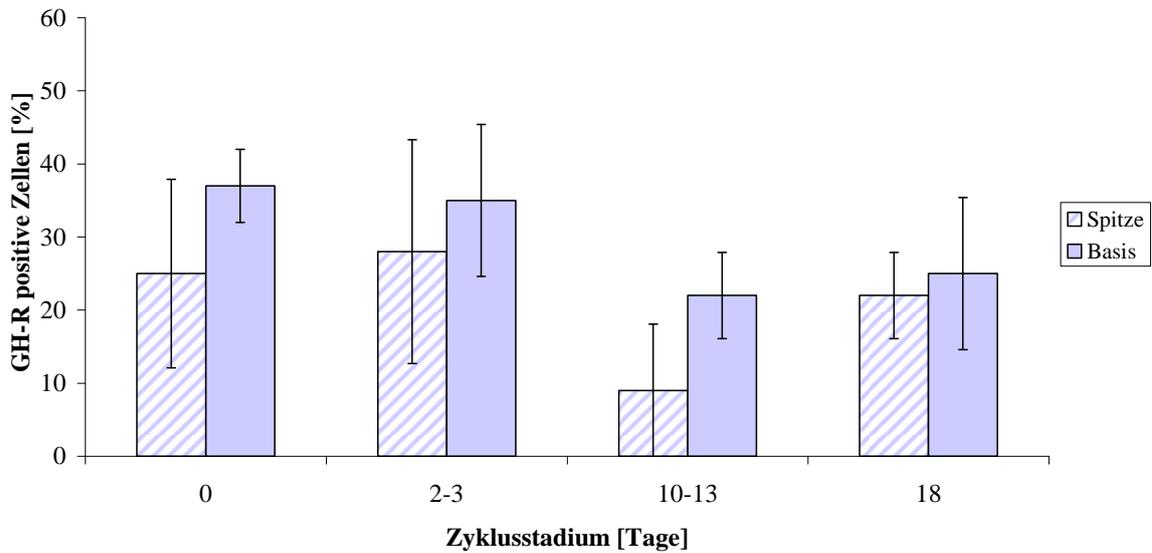


Abb. 27: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel der Ampulle im Zyklusverlauf. Gegenüberstellung von Basis und Spitze der Schleimhautfalten. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Im Diöstrus werden deutlich weniger GH-R-positive Zellen gefunden. (Anzahl der Tiere n = 3)

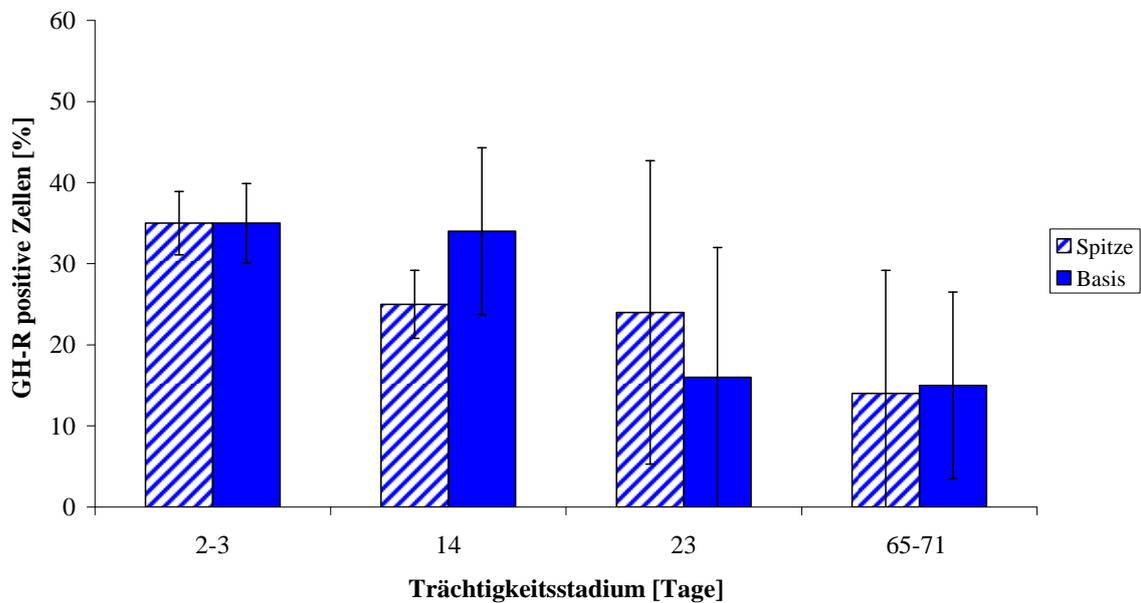


Abb. 28: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel der Ampulle im Trächtigkeitsverlauf. Gegenüberstellung von Basis und Spitze der Schleimhautfalten. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Über den untersuchten Zeitraum sinkt die Anzahl der positiven Zellen deutlich ab. (Anzahl der Tiere n = 3)

Die Untersuchungen zum Nachweis der mRNA des GH-R wurden mit Hilfe der RT-PCR exemplarisch an der Ampulle durchgeführt. In der Gelelektrophorese befinden sich die Banden für alle untersuchten Proben aus den jeweils vier Zyklus- bzw. Trächtigkeitsstadien einheitlich auf Höhe von ca. 292 Basenpaaren (Abb. 29 A u B, Banden 1-8). Als Positivkontrolle wurde Lebergewebe vom Schwein eingesetzt. Die zugehörige Bande liegt ebenfalls erwartungsgemäß bei ca. 292 Basenpaaren (Abb. 29 A u. B, Bande P).

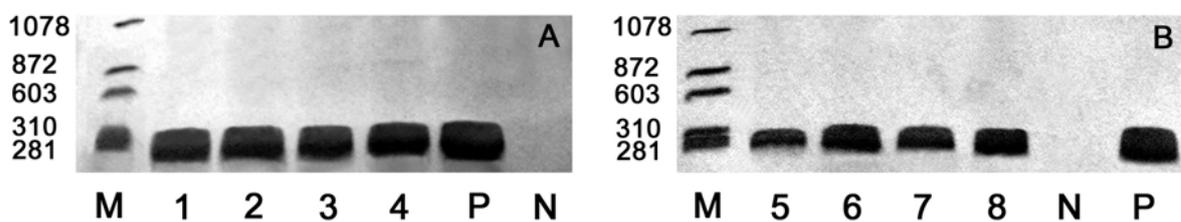


Abb. 29 A, B:

Nachweis der Expression von GH-R mRNA in der Eileiterampulle. Die Banden der RT-PCR-Produkte befinden sich auf Höhe von ca. 292 Basenpaaren.

Bande 1 (14. Trächtigkeitstag), Bande 2 (2.-3. Zyklustag), Bande 3 (65.-71. Trächtigkeitstag), Bande 4 (10.-13. Zyklustag), Bande 5 (18. Zyklustag), Bande 6 (Zyklustag 0), Bande 7 (2-3 Tage *p. insemin.*), Bande 8 (Trächtigkeitstag 23) Marker (M), Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P): Leber. 12,5 %-iges Poly-acrylamidgel nach Anfärbung mit Silbernitratlösung.

Isthmus

Wie auch in den beiden anderen Abschnitten des Eileiters treten im Isthmus ebenfalls spezifische regionale Unterschiede im Expressionsmuster der GH-R-positiv gefärbten Epithelzellen auf. In zahlreichen Fällen kann hier das gehäufte Auftreten positiver Zellen im Bereich der Schleimhautfaltenspitze beobachtet werden. Die Basis der Falten weist in diesen Fällen oftmals keine oder nur sehr wenige angefärbte Zellen auf (Abb. 30). So können insgesamt im Isthmus in der Regel weniger als 30 % GH-R-positive Zellen nachgewiesen werden.

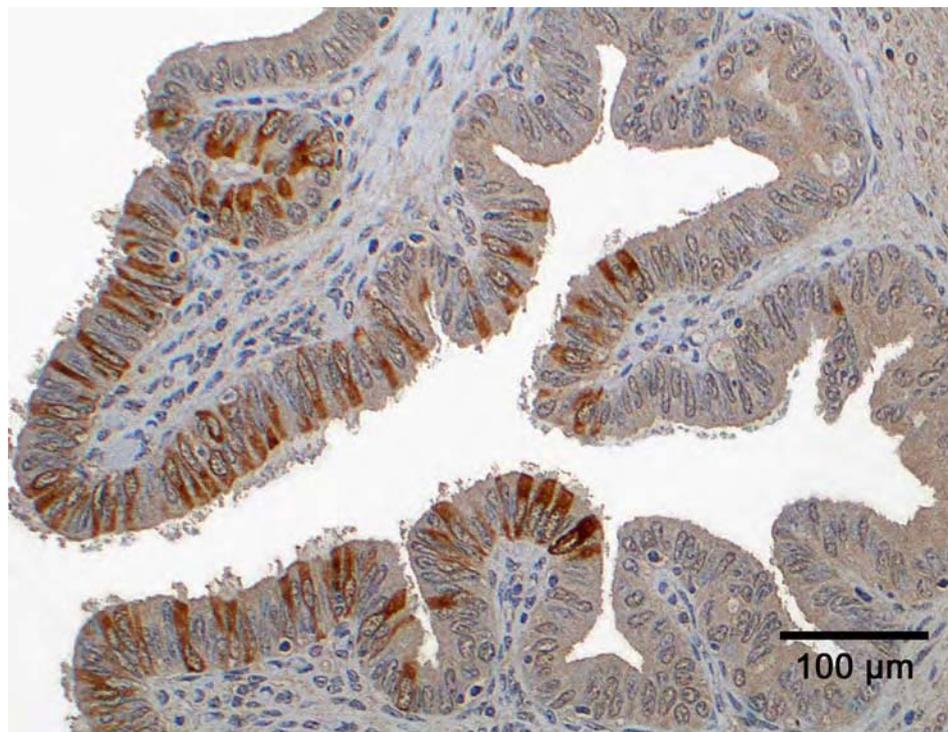


Abb. 30: Isthmus, 23. Trächtigkeitstag. An der Spitze der Schleimhautfalten treten gehäuft GH-R-positiv markierte Epithelzellen auf. Keine Anfärbung im Bereich der Basis der Schleimhautfalten. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Auch im Isthmus lässt sich während Östrus und Metöstrus die größte Anzahl an positiven Zellen nachweisen. Wie auch in der Ampulle kommt es im Diöstrus zu einer Abnahme der positiven Zellen. Die Differenzen zwischen den einzelnen Stadien sind im Isthmus im Vergleich zu Ampulle und Infundibulum jedoch geringer (Abb. 31 u. Tab. A5). Die Schwankungen in Bezug auf die Intensität der angefärbten Zellen im Zyklusverlauf sind minimal. Es liegt stets eine deutliche Anfärbung vor. Während der Trächtigkeit schwanken sowohl die Anzahl der positiven Zellen (Abb. 32 u. Tab. A5) wie auch die Intensität der Färbung nur geringgradig.

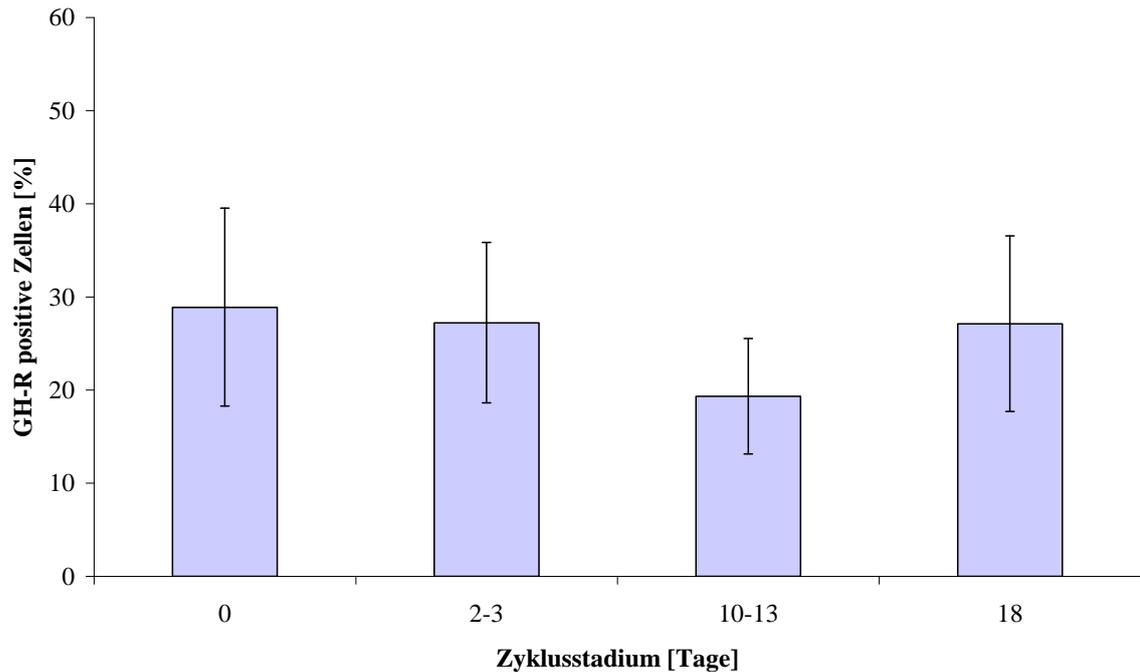


Abb. 31: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Isthmus im Zyklusverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Die geringsten Werte werden hier während des Diöstrus gemessen. (Anzahl der Tiere $n = 3$)

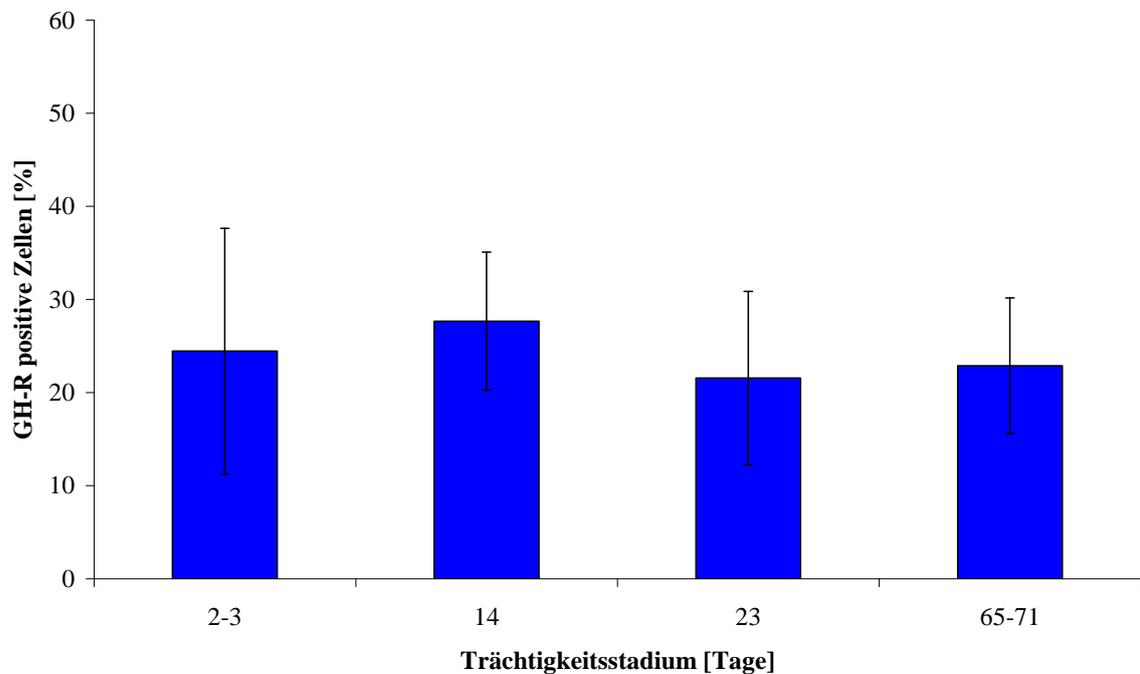


Abb. 32: Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Isthmus im Trächtigkeitsverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Insgesamt nur geringgradige Schwankungen der Anzahl in den einzelnen Stadien. (Anzahl der Tiere $n = 3$)

4.2.2 Growth Hormon (GH)

Die immunhistochemischen Untersuchungen zum Nachweis der Expression von Wachstumshormon (GH) innerhalb des Ovidukts, wurden mit einem monoklonalen Antikörper gegen porcines GH durchgeführt. Dieser zeigt in der als Positivkontrolle dienenden Adenohypophyse vom Schwein eine eindeutig positive Reaktion. In allen untersuchten Abschnitten des Eileiters können im Verlauf von Zyklus und Trächtigkeit jedoch nur unspezifische Farbreaktionen in den luminalen Epithelzellen des Eileiters und den Myozyten der *Tunica muscularis* festgestellt werden.

Im Rahmen der Untersuchungen zum Nachweis einer Expression der mRNA von GH im Ovidukt wurden zusätzlich, ebenfalls exemplarisch am Beispiel der Eileiterampulle, RT-PCR-Studien durchgeführt. Trotz dem Einsatz verschiedener Primer konnte in zahlreichen Versuchen für das Wachstumshormon keine Expression nachgewiesen werden. Als Kontrolle diente hier ebenfalls Hypophysengewebe, welches in allen Fällen wie erwartet entsprechende positive Banden aufzeigte.

4.2.3 Prolaktin-Rezeptor (PRL-R)

Die immunhistochemischen Tests zum Nachweis der Expression des PRL-R ergaben in allen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien eine positive Markierung zahlreicher Epithelzellen. Auf zellulärer Ebene wird deutlich, dass in der Regel eine strikt zytoplasmatische Anfärbung vorliegt.

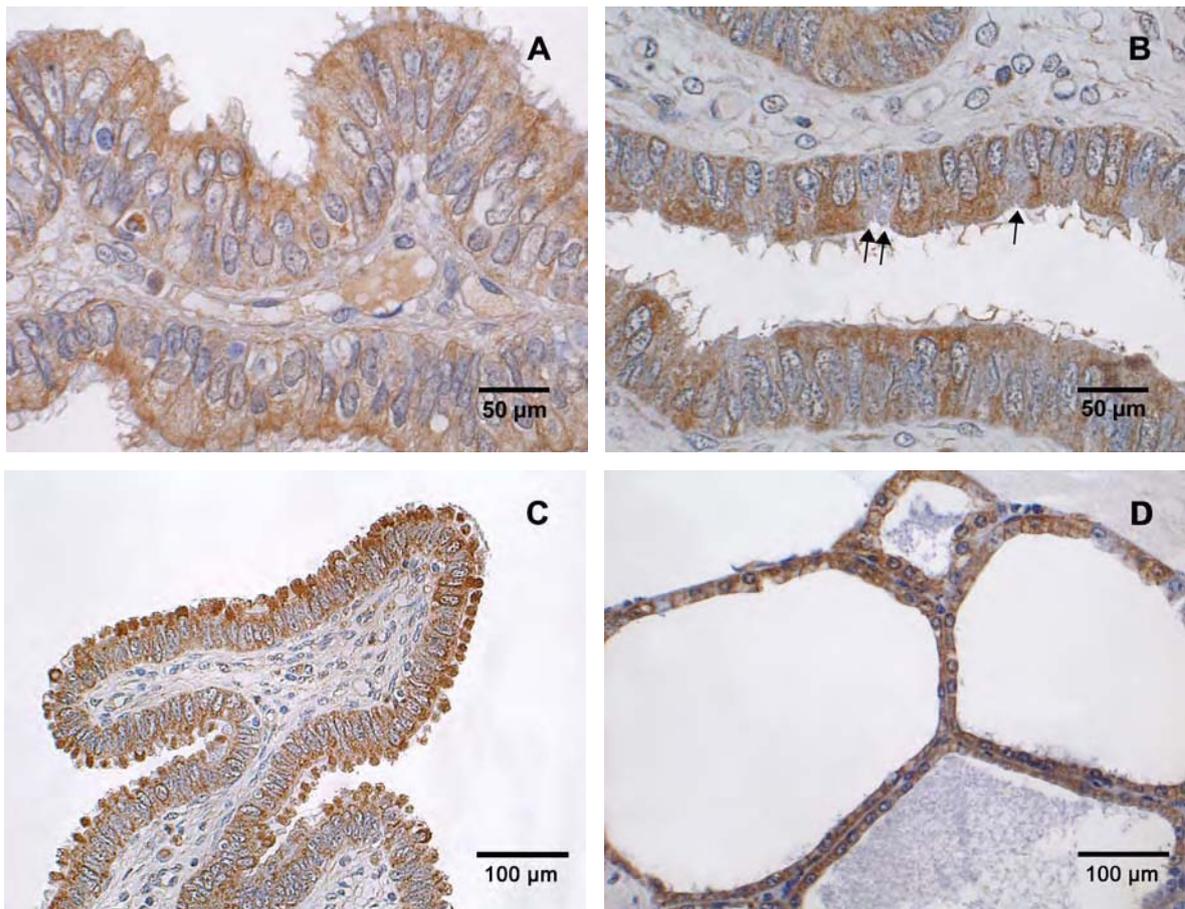


Abb. 33:

A: Infundibulum, Zyklus, Tag 2-3. Das Zytoplasma der Epithelzellen ist im apikalen Bereich stark markiert. **B:** Ampulle, Zyklus, Tag 0. Die luminalen Epithelzellen weisen eine leichte bis starke Expression von PRL-R im Zytoplasma auf. Häufig ist auch hier der apikale Bereich des Zytoplasmas deutlicher angefärbt. Daneben liegen auch ungefärbte Epithelzellen vor (→). **C:** Ampulle, Zyklus, Tag 18. Auffällig ist die sehr starke Farbreaktion in den Zytoplasmaprotrusionen, die in das Lumen abgegeben werden. **D:** Positivkontrolle: Milchdrüse, Rind. Positive Farbreaktion in den Epithelzellen der Azini. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Häufig fällt eine apikale Betonung der Farbreaktion innerhalb der einzelnen Zellen auf (Abb. 33 A, B), gelegentlich ist jedoch auch basal eine stärkere Anfärbung zu erkennen. Neben der Anfärbung von Epithelzellen sind stets auch die Myozyten der *Tunica*

muscularis der Gefäße und der Eigenmuskulatur des Ovidukts deutlich markiert. Eine starke Reaktion zeigt sich weiterhin im Serum der Blutgefäße (Abb. 33 A). Das Bindegewebe der *Lamina propria mucosae* ist stets negativ für PRL-R.

Im Infundibulum zeigt sich für PRL-R ein ähnliches Verteilungsmuster der stärker markierten Epithelzellen, wie bereits für GH-R beschrieben. So befinden sich diese ebenfalls gehäuft im Basisbereich der Fimbrienfalten. Die Zellen in den langgestreckten, faltenarmen Abschnitten, weisen eine etwas schwächere Farbintensität auf. Jedoch sind die Unterschiede zwischen den beiden Bereichen nicht so markant ausgeprägt, wie im Falle des GH-R. Während des Zyklusverlaufs sind im Infundibulum kaum Schwankungen in der Intensität der DAB-Reaktion in den Epithelzellen zu erkennen. Im Trächtigkeitsverlauf kommt es zum 65.-71. Tag zu einer leichten Abschwächung der Intensität. Das gleiche gilt für die Intensität der Farbreaktion in den Myozyten.

In der Ampulle ist kein spezifisches Verteilungsmuster PRL-R-positiver Zellen innerhalb des Schleimhautepithels feststellbar. Negative Zellen liegen immer wieder zwischen den zahlreichen positiven Epithelzellen. In diesen fällt gehäuft die stärkere Markierung des supranukleären Zytoplasmabereichs auf (Abb. 33 B). Liegen in den verschiedenen Stadien (Diostrus, Proöstrus sowie 14., 23. und 65.-75. Trächtigkeitstag) Protrusionen vor, die in das Eileiterlumen abgegeben werden, so sind diese in allen Fällen besonders stark gefärbt (Abb. 33 C). Insgesamt lässt sich zeigen, dass die Intensität der Färbung in den Epithelzellen während des Zyklus zum Proöstrus hin zunimmt. Bei den untersuchten Trächtigkeitsstadien sind keine deutlichen Schwankungen erkennbar. Auch die Intensität der Farbreaktion in den Myozyten folgt dem in den Epithelzellen beobachteten Verlauf.

Die Untersuchungen am Isthmus lassen, im Gegensatz zur Ampulle, wieder ein spezifisches Verteilungsmuster erkennen. Hier sind einzelne Epithelzellen etwas stärker angefärbt als die übrigen Zellen im Verband. Diese Zellen treten gehäuft im Bereich der Schleimhautfaltenspitze auf. Wie in der Ampulle lässt sich auch für den Isthmus in den Epithelzellen über den Zyklusverlauf ein deutlicher Anstieg der Farbintensität zum Proöstrus hin beobachten. Während der Trächtigkeit sind die Schwankungen nicht deutlich ausgeprägt. Auch die Myozyten zeigen bezüglich ihrer Farbintensität die gleichen Schwankungen, wie für die Epithelzellen beschrieben.

Als Positivkontrolle wurde bei den immunhistochemischen Untersuchungen Milchdrüsen-gewebe von Schwein und Rind eingesetzt, welches in beiden Fällen eine positive Reaktion in den Azini der Milchdrüsen aufwies (Abb. 33 D).

Zur Ergänzung der immunhistochemischen Untersuchungen wurde zum Nachweis einer Expression von PRL-R-mRNA im Eileiter ebenfalls eine RT-PCR durchgeführt. Bei der anschließenden Gelelektrophorese zeigen alle vier Zyklus- und Trächtigkeitsstadien aus der Eileiterampulle eine klare Bande für den PRL-R bei ca. 600 Basenpaaren (Abb. 34 A u. B, Banden 1-8). Als Positivkontrolle diente in diesem Fall Gelbkörpergewebe (Telleria et al., 1997), welches ebenfalls auf gleicher Höhe eine entsprechende Bande aufweist (Abb. 34 A u. B, Banden P).

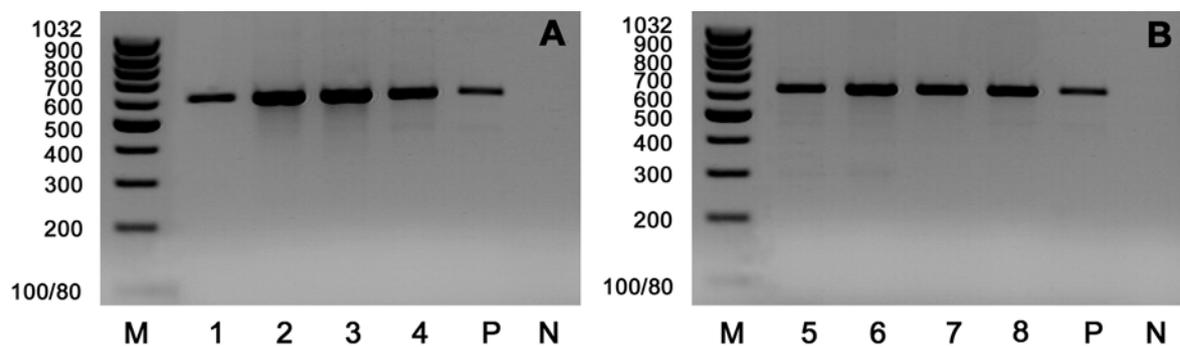


Abb. 34 A, B:

Nachweis der Expression von PRL-R-mRNA in der Eileiterampulle. Die Banden der RT-PCR-Produkte befinden sich auf Höhe von ca. 600 Basenpaaren.

Bande 1 (14. Trächtigkeitstag), Bande 2 (2.-3. Zyklustag), Bande 3 (65.-71. Trächtigkeitstag), Bande 4 (10.-13. Zyklustag), Bande 5 (18. Zyklustag), Bande 6 (Zyklustag 0), Bande 7 (2-3 Tage *p. insemin.*), Bande 8 (Trächtigkeitstag 23) Marker (M), Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P): *Corpus luteum*. 1,5 %-iges Agarosegel, Fluoreszenzaufnahme.

4.2.4 Prolaktin (PRL)

Zum Nachweis von PRL im Eileiter des Schweins wurde nach mehreren Vorversuchen ein Antikörper gegen bovines Prolaktin verwendet. Die als Positivkontrolle dienenden Gewebeschnitte der Hypophyse weisen eine deutliche DAB-Reaktion in den mammotropen Zellen auf (Abb. 35 A).

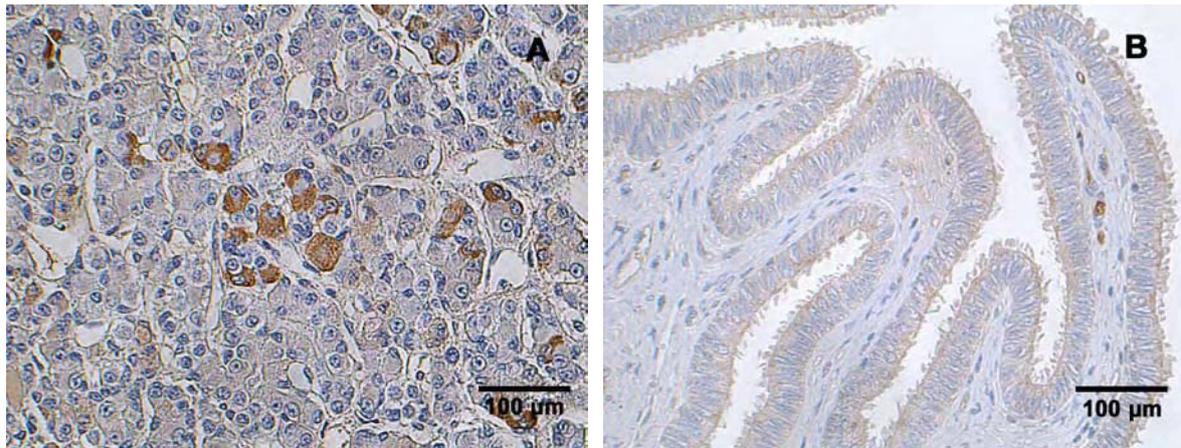


Abb. 35:

A: Hypophyse, Schwein, Positivkontrolle. Gruppen von mammotropen Zellen exprimieren PRL. **B:** Im Bereich des Eileiterepithels kann keine Expression von PRL nachgewiesen werden. Das Serum in den Blutgefäßen weist jedoch eine deutliche Anfärbung auf. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

Dagegen zeigen alle untersuchten Gewebe aus dem Ovidukt lediglich eine schwache Hintergrundfärbung in den Epithelzellen (Abb 35 B). Ebenso sind die Myozyten, das Bindegewebe der *Lamina propria epithelialis* und die Endothelzellen der Gefäße negativ für PRL. Lediglich das Serum in den Blutgefäßen weist eine starke Anfärbung auf.

Auch mit Hilfe der zusätzlich durchgeführten RT-PCR konnte der Nachweis einer Expression der mRNA von PRL innerhalb des Eileiters nicht erbracht werden. Als Positivkontrolle diente hier ebenfalls Hypophysengewebe, für welches entsprechende positive Banden in der anschließenden Gelelektrophorese nachgewiesen werden konnten.

5 Diskussion

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der zyklusabhängigen Veränderungen des Eileiterepithels vom Schwein war bereits Gegenstand früherer Studien (Wu et al., 1976; Abe und Oikawa, 1992; Yaniz et al., 2006). Allerdings gibt es nur wenige Berichte über die in diesem Bereich stattfindenden Modifikationen im Verlaufe der Trächtigkeit. Durch die Entnahme der drei Abschnitte des Eileiters zu jeweils vier definierten Zyklus- und Trächtigkeitsstadien, versucht die vorliegende Arbeit daher einen umfassenderen Überblick über die morphologischen Veränderungen der Eileiterschleimhaut in den einzelnen Regionen zu vermitteln. Durch die Ergänzung dieser Untersuchungen mit immunhistochemischen Studien zur Verteilung von hypophysären wachstums- und proliferationsfördernden Hormonen und deren Rezeptoren innerhalb des Eileiters, soll ein Zusammenhang mit der Regulation der Funktionen des Ovidukts diskutiert werden. Des Weiteren vermittelt die Arbeit einen detaillierten Überblick über die Morphologie und Histologie des uterotubalen Übergangs (UTJ) beim Schwein und ergänzt damit die bisher vorliegenden Studien (Fléchon und Hunter, 1981; Yaniz et al., 2006) zu dieser für das Fortpflanzungsgeschehen äußerst wichtigen Struktur.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte rasterelektronenmikroskopische Darstellung der UTJ vom Schwein zeigt große, kissen- oder polsterartige Schleimhautfortsätze, welche ineinandergreifen können und so einen festen Verschluss des Uterus zum Eileiter hin gewährleisten. Dies steht im Einklang mit vorangegangenen Studien über die funktionelle Anatomie der Eileiterschleimhaut des Schweins (Yaniz et al., 2006). Diese beschreiben ebenfalls die Ausbildung von polypenartigen Fortsätzen an der UTJ, welche aus den Primärfalten der Isthmusschleimhaut entstehen (Yaniz et al., 2006). Es wird angenommen, dass die UTJ im Sinne eines Klappenventils effektiv den Übertritt von Flüssigkeit aus der Gebärmutter in den Eileiter und damit schließlich in die freie Bauchhöhle verhindert. Die Schleimhautfortsätze stellen außerdem ein Passagehindernis für die aufsteigenden Spermien dar, die durch den Deckakt bzw. die künstliche Besamung in großer Zahl im Uterus des Schweins deponiert werden. So stellt die UTJ einen wirkungsvollen Mechanismus zur Reduzierung der Spermienzahl, die den Isthmus erreichen kann, dar und unterstützt somit die Minimierung des Risikos einer Polyspermie. Zum selben Schluß kommen Fléchon und Hunter (1981), die mit ihren rasterelektronenmikroskopischen

Untersuchungen nachweisen konnten, dass die polypenartigen Fortsätze wie eine mechanische Klappe wirken und die Anzahl der aufsteigenden Spermien massiv limitieren. Studien über den Bau der UTJ bei anderen Tierarten zeigen, dass bei Schaf und Rind keine derartig massiven, kissenartigen Schleimhautvorwölbungen in diesem Bereich vorliegen (Hook und Hafez, 1968). Man findet beim Rind Primär- und Sekundärfalten sowie Leisten und Grate, die ein System von Blindsäcken bilden. Zudem ist das Lumen in diesem Bereich sehr eng und die UTJ folgt einem typischen sigmoidalen Verlauf (Wrobel et al., 1993).

In der durchgeführten lichtmikroskopischen Untersuchung der UTJ zeigte sich, dass die *Lamina epithelialis mucosae*, wie in den Abschnitten des Eileiters, aus sekretorischen und zilientragenden Zellen besteht. Eine Studie über die Ultrastruktur der UTJ beim Schwein (Rodriguez-Martinez et al., 1990) berichtet ebenfalls, dass es sich bei der das Lumen auskleidenden Schleimhaut um ein einfaches hochprismatisches Epithel aus den genannten Zellen handelt. Auch bei Schaf und Rind ist das Schleimhautepithel der UTJ aus sekretorischen und zilientragenden Zellen zusammengesetzt (Hook und Hafez, 1968; Wrobel et al., 1993). In den eigenen Untersuchungen fielen des Weiteren immer wieder einzelne intraepitheliale Lymphozyten oder Plasmazellen auf. Auch andere Untersucher berichten über das Vorkommen von Immunzellen wie Lymphozyten oder Monozyten im basalen Bereich des Epithels (Rodriguez-Martinez et al., 1990). Wie die lichtmikroskopische Untersuchung der UTJ zeigt, ist das Schleimhautepithel im proximalen Bereich relativ flach. Uteruswärts, im Bereich der prominenten Schleimhautfalten nimmt es an Höhe zu und weist eine deutliche Mehrreihigkeit auf. Diese Befunde sind während der folliculären Zyklusphase besonders ausgeprägt. Rodriguez-Martinez et al. (1990) berichten in ihrer Studie ebenfalls über diese regionalen Höhenunterschiede des Epithels während des Östrus. Als Besonderheit fielen in der eigenen Studie an einzelnen Tieren im Östrus Modifikationen des einschichtigen, mehrreihigen Epithels hin zu mehrschichtigen, unverhornten Abschnitten auf. Dieses Phänomen wurde insbesondere im Bereich der Kuppen der Schleimhautfalten beobachtet. Vermutlich spiegeln diese Epithelveränderungen eine Reaktion des Epithels auf erhöhte mechanische Belastungen in diesem Bereich wider. Ob es sich dabei um einzelne pathologische Vorgänge ohne weitere Bedeutung handelt, bleibt weiter abzuklären.

Die Untersuchung der *Lamina propria mucosae* im Vergleich der beiden untersuchten Zyklusstadien ergab für den Zeitraum des Östrus eine deutliche Ödematisierung der Schleimhaut, welche im Diöstrus nicht mehr zu sehen war. Eine ödematöse Verdickung

der polypenartigen Fortsätze während des Östrus wurde auch von Fléchon und Hunter (1981) beschrieben. Des Weiteren zeigte die histologische Untersuchung, dass in das Bindegewebe der Schleimhautfortsätze große Venen und Lymphgefäße eingelagert sind, die einen mehrschichtigen Venenplexus in der Schleimhaut formieren. Es liegt nahe, dass es hier durch Veränderungen der Blutfülle zu Modulationen des luminalen Diameters kommen kann, die mit Änderungen der Passageverhältnisse für Spermien und Eizellen einhergehen. Unterstützt wird diese Vermutung von Wrobel et al. (1993), die über ähnliche Verhältnisse an der UTJ des Rindes berichten.

Proximal der UTJ, im Bereich des Isthmus, etabliert sich im periovulatorischen Zeitraum ein Spermienreservoir. Diese Region spielt eine zentrale Rolle in der Koordination der Befruchtungsvorgänge, indem unter anderem die Motilität der Spermien herabgesetzt wird, diese über spezifische Adhäsionskontakte mit den Zilienzellen gebunden werden und die Kapazitation verzögert wird (Hunter et al., 1980; Fléchon und Hunter, 1981). Auf Grund der in diesem Abschnitt des Eileiters ablaufenden komplexen Vorgänge, war der Isthmus häufig Gegenstand von Untersuchungen. Im Einklang mit den Beobachtungen anderer Untersucher (Wu et al., 1976; Abe und Oikawa, 1992; Yaniz et al., 2006), ergaben die durchgeführten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen für den Bereich des Isthmus keine ausgeprägten Veränderungen der Zusammensetzung des Schleimhautepithels im Verlauf des Zyklus und auch die sekretorischen Zellen bilden in der lutealen Phase keine Protrusionen aus. Auch andere Tierarten zeigen kaum zyklischen Veränderungen in dem kaudalen Abschnitt des Ovidukts. Beim Rind (Abe und Oikawa, 1993) und Schaf (Abdalla, 1968) sind die Zilienzellen unregelmäßig über das Epithel verteilt und die sekretorischen Zellen bleiben, wie auch beim Schwein, stets flach und weisen keine Protrusionen auf. Auch bei der Ziege zeigen sich im Verlauf des Zyklus kaum Veränderungen des Eileiterepithels, jedoch wurden leichte bulböse Vorwölbungen der sekretorischen Zellen während der lutealen Phase beschrieben (Abe et al., 1993). Bei dieser Tierart wurden zudem, im Gegensatz zu den Untersuchungen beim Schwein, Protrusionen der Zilienzellen gefunden, die über den gesamten Verlauf des Zyklus zu sehen waren (Abe et al., 1993; Abe et al., 1999).

Die Funktion der Zilienzellen im Isthmus ist noch nicht endgültig geklärt. Es gilt jedoch als erwiesen, dass sie dazu beitragen, das Aufsteigen der kapazitierten Spermien zu regulieren, indem spezifische Interaktionen zwischen Zilien und Spermien stattfinden (Fléchon und Hunter, 1981; Hunter et al., 1991). Elektronenmikroskopische

Untersuchungen zeigen spezifische Adhäsionskontakte zwischen den Spermienköpfen und den Zilien der Epithelzellen (Fléchon und Hunter, 1981). Beim Schwein konnten von den Epithelzellen exprimierte Mannosyl-Oligosaccharide nachgewiesen werden, welche Liganden mit einer hohen Affinität für spermienassoziierte Lektine (Spermadhäsine) darstellen (Töpfer-Petersen et al., 2002). Für das Spermadhäsine AQN-1 wurde nachgewiesen, dass es an ein galaktose-exprimierendes spermienbindendes Glykoprotein (SBG) binden kann, welches vor allem im Eileiterepithel des Isthmus lokalisiert ist. Diese Kohlenhydrat-Proteininteraktionen tragen dazu bei, dass das Spermienreservoir zustande kommen kann (Pérez et al., 2006). In den eigenen Untersuchungen wird deutlich, dass die Zilienzellen im Isthmus vor allem im apikalen Bereich der Schleimhautfalten lokalisiert sind. Im Rahmen der Speicherstrategie des Spermienreservoirs erscheint eine lumennahe Bindung der Spermien sinnvoll, wodurch vermutlich die weitere Passage nach abgeschlossener Kapazitation erleichtert wird.

Um den Zeitpunkt der Ovulation lösen sich die Spermien aus dem Reservoir und gelangen in den proximal des Isthmus gelegenen Abschnitt der Ampulle, wo die Befruchtung stattfindet (Bazer et al., 2001; Rodriguez-Martinez, 2001). Bevor es zur Imprägnation kommen kann, müssen auch die Eizellen an diese Stelle transportiert werden und entsprechend auf den Befruchtungsvorgang vorbereitet werden. Das Epithel muss daher hohen Ansprüchen in Bezug auf die Sekretionsleistung, wie zum Beispiel der Bereitstellung von oviduktspezifischen Glykoproteinen (Mc Cauley, 2003), gerecht werden. Die Ergebnisse der hier angefertigten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen stehen im Einklang mit denen anderer Autoren (Wu et al., 1976, Abe und Oikawa, 1992; Yaniz et al., 2006). Sie zeigen, dass die Zilienzellen während des Östrus einen geschlossenen Zilienteppich bilden. Bereits im Metöstrus unterscheidet sich das Bild und die sekretorischen Zellen weisen zum Teil leichte Protrusionen auf, die etwas hervortreten. In beiden untersuchten Stadien sind die Zilienzellen die dominierende Zellart. In den beiden späteren Zyklusstadien, im Zeitraum von Diöstrus und Proöstrus, sind die Protrusionen der sekretorischen Zellen so groß, dass sie die Zilien teilweise verbergen. Im Infundibulum sind im Zyklusverlauf ähnliche Veränderungen zu sehen wie in der Ampulle. Ein reicher Zilienbesatz im Bereich des Infundibulums um den Zeitpunkt der Ovulation wird als wichtig angesehen, da diese über Adhäsionskontakte mit den Kumuluszellen eine wichtige Rolle bei der Aufnahme und dem Transport der Eizellen spielen (Norwood und Anderson, 1980; Talbot et al., 1999). Die in der lutealen Phase des Ovarialzyklus unter

hohem Progesteronspiegel beobachteten Protrusionen in beiden Abschnitten weisen auf degenerative Veränderungen der sekretorischen Zellen im Rahmen von Zellerneuerung hin, wie es bereits von verschiedenen Autoren beschrieben wurde (Eriksen et al., 1994; Walter und Bavdek, 1997). Was die Protrusionen im Proöstrus betrifft, ist davon auszugehen, dass sie die bereits vor der Ovulation gesteigerte Sekretionstätigkeit des Eileiterepithels repräsentieren. Diese Ansicht wird durch Untersuchungen von Sostaric et al. (2008) gestützt, die zeigen, dass die Mehrzahl der nicht-zilientragenden Zellen präovulatorisch eine Zunahme von sekretorischen Vesikeln aufweisen und in Sekretion begriffen sind.

Ähnliche Vorgänge im Eileiterepithel zeigen auch die Studien an anderen Tierarten. In Eileiterampulle und Infundibulum des Rindes herrschen in der folliculären Phase des Ovarialzyklus ebenfalls die Zilienzellen vor. Während der lutealen Phase dominieren auch hier die sekretorischen Zellen mit ihren elliptisch geformten, einheitlich großen Protrusionen das Bild (Abe und Oikawa, 1993). Dies kann auch bei Schaf (Abdalla, 1968) und Ziege (Abe et al., 1999) beobachtet werden.

Neben der Darstellung der zyklischen Vorgänge in den drei Abschnitten des Eileiters dokumentiert die vorliegende Arbeit erstmals detailliert die Veränderungen der Oberfläche des Eileiterepithels an vier definierten Trächtigkeitsstadien (2-3 Tage *p.insem.*, 14., 21.-23., 65.-71. Trächtigkeitstag).

Im Isthmus ergaben sich in den eigenen Untersuchungen über die gesamte Dauer des untersuchten Zeitraums keine merklichen Unterschiede in der zellulären Zusammensetzung des Eileiterepithels. Es konnten zu keinem Zeitpunkt Protrusionen der sekretorischen Zellen beobachtet werden. Diese Ergebnisse decken sich mit Untersuchungen am Isthmus beim Schaf, bei dem ebenfalls keine Protrusionen oder Veränderungen in der Zellzusammensetzung des Epithels auftreten (Murray, 1997). Damit unterscheidet sich der Isthmus deutlich von den beiden proximal gelegenen Abschnitten. In Übereinstimmung mit anderen Studien (Wu et al., 1976) konnten im Bereich der Ampulle ebenso wie im Infundibulum, am 2-3 Tag *p. insem.* keine Unterschiede zu den Proben die im Zyklus entnommen wurden, festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt sind die Zilienzellen die vorherrschende Zellart. Die Aufnahmen am 14. Tag der Trächtigkeit zeigen nahezu gleiche Bilder wie die der lutealen Phase des Zyklus. Die sekretorischen Zellen mit großen Protrusionen und deutlichen Größenunterschieden lassen die Zilienzellen nun in den Hintergrund treten. Mit dem Fortbestehen der Trächtigkeit werden Abweichungen von den

zyklischen Veränderungen des Epithels erkennbar. Die dicht mit Mikrovilli besetzten, sekretorischen Zellen bleiben dominant, die Größenunterschiede ihrer Protrusionen gehen zurück. Damit kommt diese Untersuchung zu übereinstimmenden Ergebnissen wie eine vorangegangene Studie über die Auswirkungen des Verlaufs der Trächtigkeit auf den Eileiter beim Schwein (Nayak et al., 1976). Sie beschreibt sowohl in der frühen wie auch in der fortgeschrittenen Gravidität das gleiche Zellbild wie in der Gelbkörperphase des Zyklus. Abweichend von den Beobachtungen aus dieser Studie, die berichtet, dass sich das Bild der sekretorischen Zellen auch in der späteren Gravidität nicht wesentlich ändert, zeigen die eigenen Ergebnisse im Bereich des Infundibulums um den 65.-71. Tag eine deutliche Abflachung der sekretorischen Zellen mit Verlust der Protrusionen. In diesem Untersuchungszeitraum wird ein klarer Unterschied zur Oberflächenstruktur des Epithels in der Ampulle offensichtlich. Hier bleiben die sekretorischen Zellen vorgewölbt. Die Befunde aus beiden Abschnitten zeigen, dass die Regenerationsprozesse innerhalb des Eileiterepithels beim Schwein erst spät abgeschlossen werden und es wird deutlich, dass der Eileiter über die erste Hälfte der Trächtigkeit hinaus im Bereich der Ampulle sekretorisch aktive Abschnitte aufweist. Beim Schaf wurden um den 3. Tag der Trächtigkeit in der Ampulle ebenfalls nur wenige apikale zytoplasmatische Vorwölbungen der sekretorischen Zellen gefunden. Dagegen zeigten sie um den 16. Tag der Gravidität deutliche strukturelle Veränderungen in Form von zahlreichen Protrusionen, die Hinweise auf Regressionsprozesse geben (Murray, 1995). Somit bestätigt sich auch hier, dass zu Beginn der Trächtigkeit die Epithelstruktur mit der der entsprechenden Tiere im Zyklus übereinstimmt. Die beschriebenen Befunde im Bereich der Eileiterampulle bleiben beim Schaf in der ersten Trächtigkeitshälfte bestehen, während der Zweiten gehen die Zytoplasmaprotrusionen zurück und das Epithel bleibt bis zum 140. Trächtigkeitstag inaktiv. Kurz vor der Geburt kommt es erneut zu einem Anstieg der sekretorischen Aktivität (Abdalla, 1968).

Es ist bekannt, dass Wachstumshormon-Rezeptoren (GH-R) in den verschiedensten Geweben des weiblichen Reproduktionstrakts exprimiert werden. Über das Vorkommen dieser Rezeptoren im Ovidukt liegen jedoch nur wenige Studien vor. Kirby et al. (1996) wiesen neben der mRNA von insulin-like-growth-factor-I (IGF-I) auch die von GH-R innerhalb des Eileiters vom Rind nach, können aber keine Aussage zur genauen Lokalisation der Expression treffen. Eine weitere Studie am Reproduktionstrakt von Ratten wies mit Hilfe der Immunhistochemie ebenfalls das Vorkommen von GH-R im Eileiter

nach. Hier wird über eine Lokalisation im Zytoplasma und teilweise im Kern von Epithelzellen berichtet, sowie eine Anfärbung von glatter Muskulatur und Mesothelzellen (Lobie et al., 1990). In der vorliegenden Arbeit gelang erstmals der Nachweis der Expression von GH-R im Eileiterepithel des Schweins. Mit immunhistochemischen Methoden konnten genaue Aussagen über spezifische Verteilungsmuster im Epithel, den GH-R exprimierenden Zelltyp und zyklus- sowie trächtigkeitsbedingte Unterschiede im Expressionsmuster getroffen werden. Zur Verifizierung der immunhistochemischen Ergebnisse wurde zusätzlich noch der Nachweis der Expression der mRNA des GH-R erbracht. Mit Hilfe einer immunhistochemischen Doppelfärbung mit dem Zilienmarker Tubulin- β IV konnte die Expression von GH-R eindeutig den Zilienzellen zugeordnet werden. Des Weiteren war das in den Blutgefäßen enthaltene Serum angefärbt. In diesem Fall liegt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit die Koppelung des immunhistochemischen GH-R-Antikörpers an die im Serum enthaltenen GH-Bindungsproteine (GHBP) vor. Diese sind identisch mit der extrazellulären Domäne des membranständigen GH-R (Goffin und Kelly, 1997).

Für die Funktionen des GH-R innerhalb des Eileiterepithels sind verschiedene Modelle denkbar. Es ist davon auszugehen, dass GH über seine Rezeptoren allgemein auf die Versorgung des Epithels einwirkt. Hier nimmt es vermutlich Einfluß auf Replikations- und Wachstumsvorgänge (Lobie et al, 1990). Makarevich und Sirotkin (1997) bewiesen mit ihren Untersuchungen den stimulierenden Effekt von GH auf die IGF-I-Produktion in den Epithelzellen des Ovidukts. Es ist sehr wahrscheinlich, dass IGF-1 am Eileiterepithel als parakriner Mediator der anabolen und mitogenen Aktivität des Wachstumshormons fungiert. In den eigenen Untersuchungen konnte in Infundibulum und Ampulle während Östrus und Metöstrus bzw. am 2.-3. Tag *p. insemin.* mit bis zu mehr als 40 % der größte Anteil an GH-R-positiven Zellen beobachtet werden. Diese Befunde stimmen mit den Bildern der rasterelektronenmikroskopischen Ergebnisse dieser Studie überein, welche eine Dominanz der Zilienzellen in diesem Zeitraum zeigen. Durch diese Ergebnisse wird eine ebenfalls verstärkte Produktion von Wachstumsfaktoren zu diesem Zeitpunkt impliziert. Berichte über die erhöhte Menge an nachweisbarem IGF-I in der Eileiterflüssigkeit während des periovulatorischen Zeitraums beim Schwein bestätigen diese Vermutung (Wiseman et al., 1992). Zu dieser Zeit laufen im Eileiter die Befruchtung der Eizellen und die ersten Zellteilungen ab. Eine erhöhte Sekretionsleistung der Epithelzellen und vor allem die damit verbundene vermehrte Bereitstellung von oviduktspezifischen Proteinen, kommt somit diesen Prozessen zugute (Wiseman et al.,

1992). Bei den trächtigen Tieren konnte in den eigenen Untersuchungen bis zum 14. Trächtigkeitstag eine erhöhte Expression von GH-R in Ampulle und Infundibulum nachgewiesen werden. Es ist denkbar, dass die von GH stimulierte Sekretion von IGF-I in die Eileiterflüssigkeit auf diese Weise sogar auf die Implantationsvorgänge im Uterus Einfluss nimmt. Eine weitere Funktion der Produktion von GH-R durch das Eileiterepithel ist möglicherweise die Bereitstellung von frei zirkulierenden GHBP für die Eileiterflüssigkeit (Lobie et al., 1990).

Für das Wachstumshormon selbst konnte in dieser Studie sowohl immunhistochemisch wie auch für die mRNA keine Expression nachgewiesen werden. Eine autokrine/parakrine Wirkung von GH auf seine Rezeptoren im Eileiter bzw. auf die der Eizellen oder der frühen Embryonen ist somit unwahrscheinlich.

Prolaktin (PRL) nimmt in verschiedenen Bereichen Einfluss auf das Reproduktionsgeschehen. Seine Rezeptoren (PRL-R) wurden dementsprechend bereits in verschiedenen Geweben des weiblichen Reproduktionstrakts nachgewiesen, wo sie die Wirkung von PRL auf Wachstum, Differenzierung und auch Immunreaktionen vermitteln (Jones et al., 1998). Über die Expression von PRL und PRL-R innerhalb des Ovidukts bei Säugetieren liegen bisher noch keine Erkenntnisse vor. In dieser Studie wurden sowohl die Expression von PRL wie auch PRL-R im Eileiter von Schweinen untersucht. Mit Hilfe der RT-PCR gelang erstmals der Nachweis der mRNA des PRL-R. Durch immunhistochemische Methoden gelangen die Darstellung der Lokalisation der Rezeptoren in den verschiedenen Abschnitten des Eileiters und eine Analyse der Verteilungsmuster in den verschiedenen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien. Innerhalb des Eileiterepithels konnte der Rezeptor ausschließlich zytoplasmatisch, häufig mit einer supranukleären Betonung der immunhistochemischen Farbreaktion, nachgewiesen werden. Innerhalb des Epithels kommen immer wieder ungefärbte Zellen vor. In der lutealen Phase ist die Anfärbung der Zellen und insbesondere die der Protrusionen sehr intensiv. Auch in den Trächtigkeitsstadien, in denen deutliche Protrusionen auftreten, ist die immunhistochemische Farbtintensität sehr stark. Die Zellen der *Tunica muscularis* von Gefäßen und Eigenmuskulatur des Ovidukts sind ebenfalls deutlich markiert. Yamashita et al. (1999) wiesen die Expression von PRL-R in den Myozyten des Endometriums nach. In ihren Untersuchungen stellten sie fest, dass apoptotische Muskelzellen einen höheren Gehalt an PRL-R-mRNA aufweisen und postulierten daher einen Effekt von PRL auf die Apoptose. Möglicherweise liegt auch innerhalb des Eileiterepithels ein solcher

Zusammenhang vor. Steffl et al. (2008) weisen darauf hin, dass die Zellen während der lutealen Zyklusphase, im Rahmen der regressiven Vorgänge im Eileiterepithel, ebenfalls apoptotischen Veränderungen unterliegen. Eine apoptosestimulierende Wirkung von PRL könnte somit eine Erklärung für die starke Intensität der Expression von PRL-R zu diesem Zeitpunkt und auch während der fortgeschrittenen Trächtigkeitstadien sein. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Bedeutung der starken Expression von PRL-R im Proöstrus dagegen vielmehr in der Vermittlung der Einflüsse von Prolaktin auf Wachstum und Differenzierung der Epithelzellen liegt. Vermutlich hat Prolaktin einen stimulierenden Effekt auf die Sekretionsleistung des Eileiterepithels. In ähnlicher Weise wurde dies im Endometrium nachgewiesen (Jones et al., 1998).

Eine Produktion von PRL durch das Eileiterepithel konnte, trotz der Verwendung verschiedener immunhistochemischer Antikörper und Primer in zahlreichen Vorversuchen, nicht nachgewiesen werden. Eine parakrine Wirkungsweise ist daher in diesem Fall eher unwahrscheinlich.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit zyklus- und trächtigkeitsbedingte Unterschiede der Expression von GH-R und PRL-R innerhalb des Eileiters, ergänzt durch die detaillierte morphologische Beschreibung der Oberfläche des Eileiterepithels in den jeweiligen untersuchten Stadien. Die Resultate machen die Komplexität der Steuerung von Sekretions- und Regenerationsvorgängen des Eileiterepithels deutlich. Sie schaffen eine Basis für weitere Untersuchungen zum genaueren Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen der Homöostase innerhalb des Eileiterepithels.

6 Zusammenfassung

Rasterelektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchungen am Eileiter vom Schwein während Zyklus und Trächtigkeit

In der vorliegenden Arbeit wurden zum einen mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops die morphologischen Veränderungen des Eileiterepithels und zum anderen die Expression hypophysärer wachstums- und proliferationsfördernder Hormone und ihrer Rezeptoren immunhistochemisch und mit der Reverse Transkriptase (RT)-PCR sowohl im Verlauf des Zyklus als auch der Trächtigkeit analysiert. Hierfür wurden, von 24 Schweinen der Deutschen Landrasse, die drei Abschnitte des Eileiters (Infundibulum, Ampulle, Isthmus) in jeweils vier verschiedenen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien untersucht. Dazu wurden Proben im Östrus, Metöstrus, Diöstrus und Proöstrus sowie am 2.-3. Tag *post inseminationem*, 14., 23. und 65.-71. Trächtigkeitstag entnommen. Des Weiteren erfolgte die Dokumentation des morphologischen und histologischen Aufbaus des uterotubalen Übergangs beim Schwein, anhand rasterelektronen- und lichtmikroskopischer Bilder.

In den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen zur Morphologie des Eileiterepithels zeigten sich die deutlichsten Veränderungen während des Zyklus und der Trächtigkeit im Bereich der Ampulle und des Infundibulums. Im Isthmus treten in allen untersuchten Stadien kaum Veränderungen auf. Im Östrus und Metöstrus dominieren die Zilienzellen sowohl in der Ampulle, wie auch im Infundibulum. Dagegen herrschen im Diöstrus und Proöstrus in beiden Abschnitten die sekretorischen Zellen vor, welche deutlich in das Lumen hervortretende Protrusionen ausbilden. Zu Beginn der Trächtigkeit entsprechen die Befunde denen der zyklischen Stadien. Im weiteren Verlauf bleibt zunächst das Zellbild der lutealen Zyklusphase bestehen, später kommt es vor allem im Infundibulum zu einem Rückgang der Protrusionen.

Der uterotubale Übergang weist beim Schwein ausgeprägte Schleimhautpolster auf. Lichtmikroskopisch ließen sich große, mehrschichtige Venen und Lymphgefäße darstellen, welche die Schleimhautpolster unterlagern und möglicherweise durch Änderungen der Blutfülle den luminalen Diameter und somit die Passageverhältnisse modulieren können. Das luminale Epithel an der UTJ zeigt eine zyklusabhängige Mehrreihigkeit und kann in Einzelfällen sogar Modifikationen hin zu mehrschichtigen Epithelabschnitten aufweisen.

Die Wachstumshormon-Rezeptoren (GH-R) werden innerhalb des Eileiterepithels ausschließlich in den Zilienzellen exprimiert, was mittels immunhistochemischer Doppelfärbung mit Tubulin- β IV belegt werden konnte. Sie erfahren vor allem im Infundibulum und der Ampulle ein Expressionsmaximum während der folliculären Zyklusphase bzw. zu Beginn der Trächtigkeit. In der lutealen Phase und mit dem Fortschreiten der Trächtigkeit kommt es zu einer Abnahme der Expression von GH-R. Prolaktin-Rezeptoren (PRL-R) konnten innerhalb zahlreicher Epithelzellen und in den Myozyten des Eileiters nachgewiesen werden. Für ihre Expression im Epithel stellte sich heraus, dass die Intensität der Farbreaktion im Zyklusverlauf zum Proöstrus hin zunahm, während sie über die untersuchten Stadien der Trächtigkeit hin kaum Schwankungen aufwies. Protrusionen in den entsprechenden Stadien waren stets sehr stark angefärbt. Gestützt werden die immunhistochemischen Ergebnisse von den RT-PCR Untersuchungen. Hier konnte für GH-R und PRL-R eine gleichmäßige, starke Expression im Bereich der Eileiterampulle über alle untersuchten Zeitpunkte nachgewiesen werden. Für GH und PRL konnte sowohl immunhistochemisch wie auch für die mRNA zu keinem Zeitpunkt eine Expression im Eileiter gefunden werden.

7 Summary

Scanning electron microscopic and immunohistochemical studies on the porcine oviduct during estrus cycle and pregnancy

The purpose of the present study was to examine the morphological changes of the oviductal mucosa by scanning electron microscopy (SEM) as well as to analyse the expression of growth promoting, proliferativ pituitary hormones and their receptors using immunohistochemical and reverse transcriptase (RT)-PCR methods during estrus cycle and pregnancy. Three segments of the oviduct (infundibulum, ampulla, isthmus) were collected from 24 German Landrace sows at estrus, metestrus, diestrus, proestrus, 2.-3. day *post inseminationem*, 14., 23. and 65.-71. day of pregnancy. Additionally the morphological and histological structure of the utero-tubal junction (UTJ) of the sow was demonstrated by scanning electron and light microscopy.

SEM results revealed that the most obvious changes during estrus cycle and pregnancy where found in the infundibulum and ampulla. Minor changes in all stages examined were seen in the isthmus. At estrus and metestrus ciliated cells predominated in the ampulla as well as in the infundibulum. In contrast at diestrus and proestrus secretory cells increased in both segments, showing conspicuous bulbous processes protruding into the oviductal lumen. In early pregnancy the morphological findings of the epithelium accord to those of the cyclic stages. During the progression of pregnancy the findings correspond to those of the luteal phase. At day 65-71 of pregnancy protrusions decline especially in the infundibulum.

The UTJ of the sow is characterized by prominent polypoid processes of the mucosa. Light microscopic examinations revealed a large multilayered plexus of veins and lymphatic vessels which are located in the *lamina propria mucosae* of the processes, implying the modulation of the luminal diameter by variations of the bloodflow. The luminal epithelium shows cycle dependent variations in its relative height with sporadic modifications into a stratified epithelium.

In the oviductal epithelium growth hormone receptors (GH-R) are expressed exclusively in ciliated cells as shown by immunohistochemical double staining with tubulin- β IV. Number of GH-R-positiv stained cells was higher in the follicular phase of the estrus cycle as well as at the beginning of pregnancy and lower in the luteal phase and late pregnancy.

Prolactin receptor (PRL-R) was localized to epithelial and smooth muscle cells. Intensity of PRL-R staining increased during the estrus cycle and was especially high at proestrus. Generally, staining intensity of PRL-R did not show significant changes during pregnancy. Strong immunostaining of PRL-R was found in protrusions of secretory cells observed at different cycle stages and pregnancy. Immunohistochemical results are supported by RT-PCR experiments, which revealed a strong expression for GH-R as well as PRL-R in the ampulla at all stages of the estrus cycle and pregnancy examined. Using immunohistochemical and RT-PCR methods no expression of GH and PRL was found in the oviductal tissue.

8 Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

Abdalla O. (1968)

Observations on the morphology and histochemistry of the oviducts of the sheep.
J. Anat. 102(2): 333-44

Abdel-Meguid S.S., Shieh H.-S., Smith W.W., Dayringer H.E., Violand B.N., Bentle L.A. (1987)

Three-dimensional structure of a genetically engineered variant of porcine growth hormone.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 6434-37

Abe H. (1996)

The mammalian oviductal epithelium: regional variations in cytological and functional aspects of the oviductal secretory cells.
Histol. Histopathol. 11(3): 743-68

Abe H., Oikawa T. (1992)

Examination by scanning electron microscopy of oviductal epithelium of the prolific Chinese Meishan pig at follicular and luteal phase.
Anat. Rec. 233: 399-408

Abe H., Oikawa T. (1993)

Observations by scanning electron microscopy of oviductal epithelial cells from cows at follicular and luteal phases.
Anat. Rec. 235: 399-410

Abe H., Hoshi H. (2007)

Regional and cyclic variations in the ultrastructural features of secretory cells in the oviductal epithelium of the chinese meishan pig.
Reprod. Domest. Anim. 42: 292-8

Abe H., Onodera M., Sugawara S. (1993)

Scanning electron microscopy of goat oviductal epithelial cells at the follicular and luteal phases of the oestrus cycle.
J. Anat. 183: 415-21

Abe H., Onodera M., Sugawara S., Satoh T., Hoshi H. (1999)

Ultrastructural features of goat oviductal secretory cells at follicular and luteal phases of the oestrus cycle.
J. Anat. 195: 515-21

Andersen D.H. (1927)

Lymphatics of the Fallopian tube of the sow.
Contrib. to Embryol. Carnegie Inst. 19: 135

Ascher E., Madelenat P., Rose D. (1986)

Tubal physiology: structures and functions.
J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris) 15(6): 717-29

Austin C.R. (1963)

Fertilization and transport of the ovum.
In: Hartmann C.G. (Hrsg.): Mechanisms concerned with conception.
The Macmillan Co., New York: Kap.6

Bamberg E. (1987)

Endokrinium.
In: Scheunert A. und Trautmann A.: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie.
7. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 437-77

Baum H., Grau H. (1938)

In: Baum H. und Grau H. (Hrsg.): Das Lymphgefäßsystem des Schweines.
1. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 134

Baumann G. (1991)

Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins.
Endocr. Rev. 12(4): 424-49

Baumann G., Mercado M. (1993)

Growth hormone-binding proteins in plasma.
Nutrition. 9(6): 546-53

Bazan J.F. (1989)

A novel family of growth factor receptors: a common binding domain in the growth hormone, prolactin, erythropoietin and IL-6 receptors, and the p75 IL-2 receptor beta-chain.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 164(2): 788-95

Bazer F.W., Ford J.J., Kensinger R.S. (2001)

Reproductive Physiology.
In: Biology of the Domestic Pig.
1. Auflage, Cornell University Press, Ithaca-London: 150-224

Becze J., Bergfeld J., Döcke F., Elze K. (1982)

In: König I. (Hrsg.): Fortpflanzung bei Schweinen.
1. Auflage, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin: 57-8

Ben-Jonathan N. (1994)

Regulation of prolactin secretion.
In: Imura H. (ed.): The pituitary gland.
2. Auflage, Raven Press, New York: 261-83

Bewley T.A., Li C.H. (1984)

Conformational comparison of human pituitary growth hormone and human chorionic somatomammotropin (human placental lactogen) by second-order absorption spectroscopy.
Arch. Biochem. Biophys. 233(1): 219-27

Blandau R.J. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.) : The mammalian oviduct.
1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 130-53

Blandau R.J. (1978)

Comparative aspects of tubal anatomy and physiology as they relate to reconstructive procedures.
J. Reprod. Med. 21(3): 7-15

Blanks A.M., Thornton S. (2003)

The role of oxytocin in parturition.
BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology. 110 (Suppl 20): 46-51

Boatman D.E. (1997)

Responses of gametes to the oviductal environment.
Hum. Reprod. 12: 133-49

Boling J.L., Blandau R.J. (1971)

Egg transport through the ampullae of the oviduct of rabbits under various experimental conditions.
Biol. Reprod. 4(2): 174-84

Boockfor F.R., Frawley L.S. (1987)

Functional variations among prolactin cells from different pituitary regions.
Endocrinology. 130: 874-9

Borland R.M., Hazra S., Biggers J.D., Lechene C.P. (1977)

The elemental composition of the environments of the gametes and preimplantation embryo during the initiation of pregnancy.
Biol. Reprod. 16: 147-57

Bridges R.S. (1994)

The role of lactogenic hormones in maternal behaviour in female rats.
Acta Paediatr. Suppl. 397: 33-9

Brudin J. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.
1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 255-264

Bullón F., Merchan J.A., Gonzalez-Gomez F., Furio V., Poblete E.G. (1980)

Ultrastructure of the oviductal mucosa of the rat. III. Basal and peg cells.
Int. J. Fertil. 25(4): 293-7

- Buhi W.C., Alvarez I.M., Sudhipong V., Dones-Smith M.M. (1990)**
Identification and characterization of de novo-synthesized porcine oviductal secretory proteins.
Biol. Reprod. 43: 929-38
- Buhi W.C., Alvarez I.M., Kouba A.J. (1997)**
Oviductal regulation of fertilization and early embryonic development.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 52: 285-300
- Buonomo F.C., Baile C.A. (1990)**
The neurophysiological regulation of growth hormone secretion.
Domest. Anim. Endocrinol. 7(4): 435-50
- Camarillo I.G., Thordarson G., Moffat J.G., Van Horn K.M., Binart N., Kelly P.A., Talamantes F. (2001)**
Prolactin receptor expression in the epithelia and stroma of the rat mammary gland.
J. Endocrinol. 171(1): 85-95
- Chene N., Martal J., de la Llosa P., Charrier J. (1989)**
Growth hormones. II. Structure function relationships.
Reprod. Nutr. Dev. 29(1): 1-25
- Comer M.T., Leese H.J., Southgate J. (1998)**
Induction of a differentiated ciliated cell phenotype in primary cultures of Fallopian tube epithelium.
Hum. Reprod. 13(11): 3114-20
- Croxatto H.B. (2002)**
Physiology of gamete and embryo transport through the fallopian tube.
Reprod. Biomed. Online. 4(2):160-9
- Cunningham B.C., Ultsch M., De Vos A.M., Mulkerrin M.G., Clauser K.R., Wells J.A. (1991)**
Dimerization of the extracellular domain of the human growth hormone receptor by a single hormone molecule.
Science. 254(5033): 821-5
- Davis B.K., Byrne R., Bedigian K. (1980)**
Studies on the mechanism of capacitation: albumin-mediated changes in plasma membrane lipids during in vitro incubation of rat sperm cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77(3): 1546-50
- Del Campo C.H., Ginther O.J. (1973)**
Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the uterus: Horses, sheep and swine.
Am. J. Vet. Res. 43(3): 305-16
- Derecka K., Pietilä E.M., Rajaniemi H.J., Ziecik A.J. (1995)**
Cycle dependent LH/hCG receptor gene expression in porcine nongonadal reproductive tissues.
J. Physiol. Pharmacol. 46(1): 77-85

Doboszynska T., Sobotka A., Andronowska A., Janiszewska L. (1999)

Oviductal lymphatics and their relations with the paraovarian lymphatic plexus in the pig.

Folia Morphol. (Warsz) 58: 1-7

Dyce K.M., Sack W.O., Wensing C.J.G. (1991)

In: Budras K.-D., Goller H., Hofmann R.R., Hummel G., Weyrauch K.D. (Hrsg.): Anatomie der Haustiere.

1. Auflage, Enke Verlag Stuttgart: 191-225

Einspanier R., Gabler C., Kettler A., Kloas W. (1999)

Characterization and localization of beta2-adrenergic receptors in the bovine oviduct: indication for progesterone-mediated expression.

Endocrinology 140: 2679-84

Eriksen T., Terkelsen O., Hyttel P., Greve T. (1994)

Ultrastructural features of secretory cells in the bovine oviduct epithelium.

Anat. Embryol. (Berl.) 190: 583-90

Fazeli A., Duncan A.E., Watson P.F., Holt W.V. (1999)

Sperm-oviduct interaction: Induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species.

Biol. Reprod. 60: 879-86

Ford J.J., Klindt J., Wise T.H. (2001)

Endocrinology

In: Pound W.G., Mersmann H.J. (Hrsg.): Biology of the domestic pig.

1. Auflage, Cornell University Press, Ithaca-London: 670-675

Forsyth I.A. (1994)

Comparative aspects of placental lactogens: structure and function.

Exp. Clin. Endocrinol. 102(3): 244-51

Fléchon J.E., Hunter R.H. (1981)

Distribution of spermatozoa in the utero-tubal junction and isthmus of pigs, and their relationship with the luminal epithelium after mating: a scanning electron microscope study.

Tissue Cell. 13(1): 127-39

Frank S.J. (2002)

Minireview: Receptor dimerization in GH and erythropoietin action - it takes two to tango, but how?

Endocrinology. 143(1): 2-10

Freeman M.E., Kanyicska B., Lerant A., Nagy G. (2000)

Prolactin: structure, function, and regulation of secretion.

Physiol. Rev. 80(4): 1523-631

Fuh G., Cunningham B.C., Fukunaga R., Nagata S., Goeddel D.V., Wells J.A. (1992)

Rational design of potent antagonists to the human growth hormone receptor.

Science. 256(5064): 1677-80

Fujii S., Konishi I., Katabuchi H., Okamura H. (1990)

Ultrastructure of smooth muscle tissue in the female reproductive tract: uterus and oviduct.

In: Motta P.M. (Hrsg.): Ultrastructure of Smooth Muscle.

1. Auflage, Kluwer Academic Publishers, Boston: 211-20

Fukuda A., Mori C., Hashimoto H., Noda Y., Mori T., Hoshino K. (1989)

Effects of prolactin during preincubation of mouse spermatozoa on fertilizing capacity in vitro.

Journal of in vitro fertilization and embryo transfer: IVF. 6(2): 92-7

Gadella B.M., Harrison R.A. (2000)

The capacitation agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent changes in phospholipid transbilayer behaviour in the sperm plasma membrane.

Development 127(11): 2407-20

Gawronska B., Doboszynska T., Zezula-Szpyra A. (1997)

Light and scanning electron microscopy of the porcine mesometrial and paraovarian lymphatic network.

Lymphology. 30: 26-35

Gawronska B., Paukku T., Huhtaniemi I., Wasowicz G., Ziecik A.J. (1999)

Oestrogen-dependent expression of LH/hCG receptors in pig fallopian tube and their role in relaxation of the oviduct.

J. Reprod. Fertil. 115(2): 293-301

Gellersen B., Bonhoff A., Hunt N., Bohnet H.G. (1991)

Decidual-type prolactin expression by the human myometrium.

Endocrinology. 129(1): 158-68

Gimpl G., Fahrenholz F. (2001)

The oxytocin receptor system: structure, function and regulation.

Physiol. Rev. 81(2): 629-83

Goffin V., Kelly P.A. (1997)

The prolactin/growth hormone receptor family: structure/function relationships.

J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 2(1): 7-17

Grosvenor C.E., Picciano M.F., Baumrucker C.R. (1993)

Hormones and growth factors in milk.

Endocr. Rev. 14(6): 710-28

Hafez E.S.E., Black D.L. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.

1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 92,99

Hamner C.E., Fox S.B. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.

1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 333-49

Harrison R.A. (1996)

Capacitation mechanisms, and the role of capacitation as seen in eutherian mammals.

Reprod. Fertil. Dev. 8(4): 581-94

Hees H. (2000)

Weiblicher Geschlechtsapparat

In: Hees H., Sinowatz F.: Histologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie.

3. Auflage, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln: 303-21

Hennen G., Frankenne F., Scippo M.L., Igout A., Closset J., Pirens G., Gomez F. (1988)

Placental growth hormone. Significance relative to growth hormone and lactogen hormone.

Reprod. Nutr. Dev. 28(6B): 1699-706

Heukeshoven J., Dernick R. (1985)

Simplified method for silver staining of proteins in polyacrylamide gels and the mechanism of silver staining.

Electrophoresis 6: 103-12

Hook S.J., Hafez E.S.E. (1968)

A comparative anatomical study of the mammalian uterotubal junction.

J. Morphol. 125(2): 159-84

Hook S.J., Hafez E.S.E. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.

1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 161-3

Horstmann E., Stegner H. (1966)

Tube, Vagina und äußere weibliche Geschlechtsorgane.

In: Horstmann E. (Hrsg.): Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen

1. Auflage, Springer Verlag, Berlin: 35-85

Hull K.L., Harvey S. (2001)

Growth hormone: roles in female reproduction.

J. Endocrinol. 168: 1-23

Hull K.L., Harvey S. (2002)

GH as a co-gonadotropin: the relevance of correlative changes in GH secretion and reproductive state.

J. Endocrinol 172: 1-19

Hunter R.H. (1975)

Physiological aspects of sperm transport in the domestic pig, *sus scrofa*. II. Regulation, survival and fate of cells.

Br. Vet. J. 131(6): 681-90

Hunter R.H. (2002)

Vital aspects of fallopian tube physiology in pigs.
Reprod. Dom. Anim. 37: 186-90

Hunter R.H. (2005)

The fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity?
Reprod. Nutr. Dev., 45(3): 281-90

Hunter R.H. (2008)

Sperm release from oviduct epithelial binding is controlled hormonally by peri-ovulatory graafian follicles.
Mol. Reprod. Dev. 75(1): 167-74

Hunter R.H., Nichol R., (1986)

A periovulatory temperature gradient between the isthmus and ampulla of pig during the phase of sperm storage.
J. Reprod. Fertil. 77: 599-606

Hunter R.H., Rodriguez-Martinez H. (2004)

Capacitation of mammalian spermatozoa in vivo, with a specific focus on events in the Fallopian tubes.
Mol. Reprod. Dev. 67(2): 243-50

Hunter R.H., Nichol R., Crabtree S.M. (1980)

Transport of spermatozoa in the ewe: timing of the establishment of a functional population in the oviduct.
Reprod. Nutr. Dev. 20: 1869-75

Hunter R.H., Fléchon B., Fléchon J.E. (1987)

Pre- and periovulatory distribution of viable spermatozoa in the pig oviduct: a scanning electron microscope study.
Tissue Cell. 19: 423-36

Hunter R.H., Fléchon B., Fléchon J.E. (1991)

Distribution, morphology and epithelial interactions of bovine spermatozoa in the oviduct before and after ovulation: a scanning electron microscope study.
Tissue Cell. 23: 551-9

Hunter R.H., Petersen H.H., Greve T. (1999)

Ovarian follicular fluid, progesteron and Ca²⁺ ion influences on sperm release from the fallopian tube reservoir.
Mol. Reprod. Dev. 54(3): 283-91

Hsu S.-M., Raine L., Fanger H. (1981)

Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures.
J. Histochem. Cytochem. 29(4): 577-580

Janković S.M., Varjačić M., Protić B. (2001)

Relaxant effect of oxytocin on isolated human oviduct.
Croat. Med. J. 42: 511-6

Jiwakanon J., Persson E., Kaeoket K., Dalin A. M. (2005)

The sow endosalpinx at different stages of the oestrus cycle and at anoestrus: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system.
Reprod. Domest. Anim. 40(1): 28-39

Jones R.L., Critchley H.O.D., Brooks J., Jabbour H.N., McNeilly A.S. (1998)

Localization and temporal expression of prolactin receptor in human endometrium.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 83(1): 258-62

Joudrey E.M., Lechniak D., Petrik J., King W.A. (2003)

Expression of growth hormone and its transcription factor, pit-1, in early bovine development.
Mol. Reprod. Dev. 64: 275-83

Junqueira L.C., Carneiro J. (1986)

In: Schiebler T.H. und Peiper U. (Hrsg.): Histologie.
2. Auflage, Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg: 528

Kelly P.A., Djiane J., Postel-Vinay M.C., Edery M. (1991)

The prolactin/growth hormone receptor family.
Endocr. Rev. 12(3): 23-51

Kiapekou E., Loutradis D., Patsoula E., Koussidis G.A., Minas V., Bletsas R., Antsaklis A., Michalas S., Makrigiannakis A. (2005)

Prolactin receptor mRNA expression in oocytes and preimplantation mouse embryos.
Reprod. Biomed. Online. 10(3): 339-46

Kirby C.J., Thatcher W.W., Collier R.J., Simmen F.A., Lucy M.C. (1996)

Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct.
Biol. Reprod. 55(5): 996-1002

Klindt J., Stone R.T. (1984)

Porcine growth hormone and prolactin: Concentrations in the fetus and secretory patterns in the growing pig.
Growth. 48(1): 1-15

Kline J.B., Clevenger C.V. (2001)

Identification and characterization of the prolactin-binding protein in human serum and milk.
J. Biol. Chem. 276(27): 24760-66

- Kölle S., Stojkovic M., Prella K., Waters M., Wolf E., Sinowatz F. (2001)**
Growth hormone (GH)/GH receptor expression and GH-mediated effects during early bovine embryogenesis.
Biol. Reprod. 64(6): 1826-34
- Kölle S., Stojkovic M., Boie G., Wolf E., Sinowatz F. (2003)**
Growth hormone-related effects on apoptosis, mitosis, and expression of connexin 43 in bovine in vitro maturation cumulus-oocyte complexes.
Biol. Reprod. 68(5): 1584-9
- Kopchick J.J., Andry J.M. (2000)**
Growth hormone (GH), GH receptor, and signal transduction.
Mol. Genet. Metab. 71: 293-314
- Kotwica G., Kurowicka B., Franczak A., Grzegorzewski W., Wrobel M., Mlynarczuk J., Kotwica J. (2003)**
The concentrations of catecholamines and oxytocin receptors in the oviduct and its contractile activity in cows during the estrous cycle.
Theriogenology. 60(5): 953-64
- Kraus V., Gombos A., Dusek N. (1991)**
Cholinergic innervation of the oviduct in rabbits.
Vet. Med. (Praha). 36(5): 297-302
- Lebedeva I.Yu., Dinisenko Y.Yu, Lebedev V.A., Kuzmina T.I. (1998)**
Prolactin in follicular fluid and intracellular store calcium in follicular cells are related to morphological signs of ovarian follicle atresia in cows: work in progress.
Theriogenology. 49(3): 509-19.
- Leese H.J., Tay J.I., Reischl J., Downing S.J. (2001)**
Formation of fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium.
Reproduction. 121(3): 339-46
- Leiser R., Zimmermann W., Sidler X., Christen A. (1988)**
Normal-zyklische Erscheinungen im Endometrium und am Ovar des Schweines.
Tierärztl. Prax. 16, 261-80
- Leng G., Brown C.H., Russell J.A. (1998)**
Physiological pathways regulating the activity of magnocellular neurosecretory cells.
Prog. Neurobiol 57: 625-55
- Lévy D.P., Navarro J.M., Schattman G.L., Davis O.K., Rosenwaks Z. (2000)**
The role of LH in ovarian stimulation: exogenous LH: let's design the future.
Hum. Reprod. 15(11): 2258-65
- Li C.H. (1976)**
Studies on pituitary lactogenic hormone. The primary structure of the porcine hormone.
Int. J. Pept. Protein Res. 8(2): 205-24

Li C.H., Dixon J.S. (1971)

Human pituitary growth hormone. 32. The primary structure of the hormone: revision
Arch. Biochem. Biophys. 146(1): 233-6

Liebich H.-G. (1999)

In: Liebich H.-G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere.
3. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart - New York: 294

Lincoln G.A., McNeilly A.S., Cameron C.L. (1978)

The effects of a sudden decrease or increase in daylength on prolactin secretion in the ram.
J. Reprod. Fert. 52: 305-11

Lobie P.E., Breipohl W., Aragón J.G., Waters M.J. (1990)

Cellular localization of the growth hormone receptor/binding protein in the male and female reproductive systems.
Endocrinology. 126(4): 2214-21

Makarevich A.V., Sirotkin A.V. (1997)

The involvement of the GH/IGF-I axis in the regulation of secretory activity by bovine oviduct epithelial cells.
Anim. Reprod. Sci. 48(2-4): 197-207

Marchal R., Caillaud M., Martoriati A., Gérard N., Mermillod P., Goudet G. (2003)

Effect of growth hormone (GH) on in vitro nuclear and cytoplasmic oocyte maturation, cumulus expansion, hyaluronan synthases, and connexins 32 and 43 expression, and GH receptor messenger RNA expression in equine and porcine species.
Biol. Reprod. 69: 1013-22

McCauley T.C., Buhi W.C., Wu G.M., Mao J., Caamaño J.N., Didion B.A., Day B.N. (2003)

Oviduct specific glycoprotein modulates sperm-zona binding and improves efficiency of porcine fertilization in vitro.
Biol. Reprod. 69: 828-34

Mol J.A., van Garderen E., Selman P.J., Wolfswinkel J., Rijnberk A., Rutteman G.R. (1995)

Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats.
J. Clin. Invest. 95(5): 2028-34

Morishige W.K., Rothchild I. (1974)

Temporal aspects of the regulation of corpus luteum function by luteinizing hormone, prolactin and placental luteotrophin during the first half of pregnancy in the rat.
Endocrinology. 95(1): 260-74

Murray M.K. (1995)

Epithelial lining of the sheep ampulla oviduct undergoes pregnancy-associated morphological changes in secretory status and cell height.

Biol. Reprod. 53, 653-63

Murray M.K. (1997)

Morphological features of epithelial cells in the sheep isthmus oviduct during early pregnancy.

Anat. Rec. 247: 368-78

Nalbandov A.V. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.

1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 48-52

Nancarrow C.D., Hill J.L. (1995)

Oviduct proteins in fertilization and early embryo development.

J. Reprod. Fertil. Suppl. 49: 3-13

Nayak R.K., Albert E.N., Kassira W.N. (1976)

Fine structural changes of the porcine uterine tube epithelium during early and late pregnancy.

Am. J. Vet. Res. 37(12): 1421-33

Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (1992)

In: Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band IV

3. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 373

Nilsson O., Reinius S. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J.(Hrsg.): The mammalian oviduct.

1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 59-61

Nolin J.M., Witorsch R.J. (1976)

Detection of endogenous immunoreactive prolactin in rat mammary epithelial cells during lactation.

Endocrinology. 99(4): 949-58

Norwood J.T., Anderson R.G.W. (1980)

Evidence that adhesive sites on the tips of oviduct cili membranes are required for ovum pickup in situ.

Biol. Reprod. 23: 788-791

Norwood J.T., Hein C.E., Halbert S.A., Anderson R.G.W. (1978)

Polycationic macromolecules inhibit cilia-mediated ovum transport in the rabbit oviduct.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 75(9): 4413-16

Owman C., Sjöberg N.O. (1966)

Adrenergic nerves in the female genital tract of the rabbit. With remarks on cholinesterase-containing structures.

Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 74(2): 182-97.

Oxenreider S.L., Day B.N. (1965)

Transport and cleavage of ova in swine.
J. Anim. Sci. 24: 413

Oxenreider S.L., McClure R.C., Day B.N. (1965)

Arteries and veins of the internal genitalia of female swine.
J. Reprod. Fertil. 9: 19-27

Pantaleon M., Whiteside E.J., Harvey M.B., Barnard R.T., Waters M.J., Kaye P.L. (1997)

Functional growth hormone (GH) receptors and GH are expressed by preimplantation mouse embryos: A role for GH in early embryogenesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94: 5125-30

Pérez F.A., Roma S.M., Cabada M.O., Marini P.E. (2006)

Sperm binding glycoprotein is differentially present surrounding the lumen of isthmus and ampulla of the pig's oviduct.
Anat. Embryol. 211: 619-24

Petrunkina A.M., Friedrich J., Drommer W., Bicker G., Waberski D., Töpfer-Petersen E. (2001)

Kinetic characterization of the changes in protein tyrosine phosphorylation of membranes, cytosolic Ca²⁺ concentration and viability in boar sperm populations selected by binding to oviductal epithelial cells.
Reproduction. 122: 469-80

Phelps J.Y., Bugg E.M., Shablott M.J., Vlahos N.P., Whelan J., Zacur H.A. (2003)

Prolactin gene expression in human ovarian follicular cells.
Fertil. Steril. 79(1): 182-5

Poindexter A.N., Buttram V.C.Jr., Besch P.K., Smith R.G. (1979)

Prolactin receptors in the ovary.
Fertil. Steril. 31(3): 273-7

Postel-Vinay M.C., Belair L., Kayser C., Kelly P.A., Djiane J. (1991)

Identification of prolactin and growth hormone binding proteins in rabbit milk.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88(15): 6687-90

Price D., Zaaier J.J.P., Ortiz E. (1969)

In: Hafez E.S.E. und Blandau R.J. (Hrsg.): The mammalian oviduct.
1. Auflage, The University of Chicago Press, Chicago-London: 29-32

Quesnel H. (1999)

Localization of binding sites for IGF-I, insulin and GH in the sow ovary.
J. Endocrinol. 163(2): 363-72

Raga C.H., Casañ E.V., Krussel J.S., Wen Y., Huang H.-Y., Nezhat C., Polan M.L. (1998)

Quantitative gonadotropin-releasing hormone gene expression and immunohistochemical localization in human endometrium throughout the menstrual cycle.
Biol. Reprod. 59: 661-9

Ramakrishnappa N., Rajamahendran R., Lin Y.M., Leung P.C. (2005)

GnRH in non-hypothalamic reproductive tissues.
Anim. Reprod. Sci. 88(1-2): 95-113

Remmele W., Stegner H.E. (1987)

Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe.
Pathologe. 8(3): 138-140

Reshef E., Lei Z.M., Rao Ch.V., Pridham D.D., Chegini N., Luborsky J.L. (1990)

The presence of gonadotropin receptors in nonpregnant human uterus, human placenta, fetal membranes and decidua.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 70: 421-30

Rigby J.P. (1965)

The structure of the uterotubal junction of the sow.
J. Anat. 99: 416

Rodriguez-Martinez H. (1984)

Effects of adrenergic agents on the *in vitro* motility of porcine oviducts.
Zbl. Vet. Med. A. 31: 91-104

Rodriguez-Martinez H., Einarsson S., Larsson B., Akusu M., Settergren I. (1982a)

Spontaneous motility of the pig oviduct *in vitro*.
Biol. Reprod. 26(1): 98-104

Rodriguez-Martinez H., Garcia R.B., Ohanian C., Einarsson S. (1982b)

Histochemical investigation of the distribution of adrenergic nerve terminals in the porcine oviduct.
Zbl. Vet. Med. A. 29: 64-71

Rodriguez-Martinez H., Nicander L., Viring S., Einarsson S., Larsson K. (1990)

Ultrastructure of the uterotubal junction in preovulatory pigs.
Anat. Histol. Embryol. 19(1): 16-36

Rodriguez-Martinez H., Tienthai P., Suzuki K., Funahashi H., Ekwall H., Johannison A. (2001)

Involvement of oviduct in sperm capacitation and oocyte development in pigs.
Reprod. Suppl. 58: 129-45

Rodriguez-Martinez H., Saravia F., Wallgren M., Tienthai P., Johannisson A., Vazquez J.M., Martinez E., Roca J., Sanz L., Calvete J.J. (2005)

Boar spermatozoa in the oviduct.

Theriogenology. 63(2): 514-35

Roupas P., Herington A.C. (1989)

Cellular mechanisms in the processing of growth hormone and its receptor.

Mol. Cell. Endocrinol. 61(1): 1-12

Romeis B (1989)

Mikroskopische Technik

17. Auflage: Urban & Schwarzenberg Verlag, München

Rüsse I. (1991)

In: Rüsse I., Sinowatz F. (Hrsg.): Lehrbuch der Embryologie der Haustiere.

1. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 313-5, 328-9

Sambrook J., Fritsch G.F., Maniatis T. (1989)

Molecular Cloning: A laboratory manual.

2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY

Sbracia M., Scarpellini F., Poverini R., Alò P.L., Rossi G., Di Tondo U. (2004)

Immunohistochemical localization of the growth hormone in human endometrium and decidua.

Am. J. Reprod. Immunol. 51(2): 112-6

Schnorr B. (1996)

Embryologie der Haustiere.

3. Auflage, Enke Verlag Stuttgart: 32, 165

Schnurrbusch U. (2006)

Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung der weiblichen Tiere.

In: Heinritzi K., Gindele H. R., Reiner G., Schnurrbusch U.: Schweinekrankheiten

1. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart: 168

Schmidt A., Einspanier R., Amselgruber W., Sinowatz F., Schams D. (1994)

Expression of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in the bovine oviduct during the oestrous cycle.

Exp. Clin. Endocrinol. 102(5): 364-9

Seitz H.M. (1965)

Zur elektronenmikroskopischen Morphologie des Neurosekrets im Hypophysenstiel des Schweins.

Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 67(3): 351-66

Sengupta A., Sridaran R. (2008)

Expression and localization of gonadotropin-releasing hormone receptor in the rat oviduct during pregnancy.

J. Histochem. Cytochem. 56(1): 25-31

Shemesh M. (2001)

Actions of gonadotrophins on the uterus.
Reproduction 121(6): 835-42

Smollich A., Michel G. (1992)

In: Smollich A. und Michel G. (Hrsg.): Mikroskopische Anatomie der Haustiere.
2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena-Stuttgart

Sostaric E., Dieleman S.J., van de Lest C.H.A., Colenbrander B., Vos P.L.M., Garcia-Gil N., Gadella B.M. (2008)

Sperm binding properties and secretory activity of the bovine oviduct immediately before and after ovulation.
Mol. Reprod. Dev. 75(1): 60-74.

Sporrong B., Helm G., Owman C., Sjoberg N.-O., Walles B. (1982)

Electron microscopic and pharmacologic evidence for a functional adrenergic innervation of smooth musculature in the human fallopian tube.
Brain. Res. Bull. 9(1-6): 695-9

Stalheim O.H.V., Gallagher J.E., Deyoe B.L. (1975)

Scanning electron microscopy of the bovine, equine, porcine, and caprine uterine tube (oviduct).
Am. J. Vet. Res. 36(8): 1069-75

Steffl M., Schweiger M., Sugiyama T., Amselgruber W.M. (2008)

Review of apoptotic and non-apoptotic events in non-ciliated cells of the mammalian oviduct.
Ann. Anat. 190(1): 46-52

Suarez S.S. (1996)

Hyperactivated motility in sperm.
J. Androl. 17(4): 331-5

Suarez S.S., Redfern K., Raynor P., Martin F., Phillips D.M. (1991)

Attachment of boar sperm to mucosal explants of oviduct in vitro: possible role in formation of a sperm reservoir.
Biol. Reprod. 44(6): 998-1004

Suarez S.S., Brockman K., Lefebvre R. (1997)

Distribution of mucus and sperm in bovine oviducts after artificial insemination.
Biol. Reprod. 56(2): 447-53

Sun T., Lei Z.M., Rao C.V. (1997)

A novel regulation of the oviductal glycoprotein gene expression by luteinizing hormone in bovine tubal epithelial cells.
Mol. Cell. Endocrinol. 131(1): 97-108.

Talbot P., Geiske C., Knoll M. (1999)

Oocyte pickup by the mammalian oviduct.
Mol. Biol. Cell. 10(1): 5-8

Telleria C.M., Parmer T.G., Zhong L., Clarke D.L., Albarracin C.T., Duan W.R., Linzer D.I.H., Gibori G. (1997)

The different forms of the prolactin receptor in the rat corpus luteum: developmental expression and hormonal regulation in pregnancy.
Endocrinology. 138(11): 4812-20

Töpfer-Petersen E., Wagner A., Friedrich J., Petrunkina A., Ekhlasi-Hundrieser M., Waberski D., Drommer W. (2002)

Function of the mammalian oviductal sperm reservoir.
J. Exp. Zool. 292(2): 210-5

Ulloa-Aguirre A., Timossi C. (1998)

Structure-function relationship of follicle-stimulating hormone and its receptor.
Hum. Reprod. Update 4(3): 260-83

Visconti P.E., Kopf S. (1998)

Regulation of protein phosphorylation during sperm capacitation.
Biol. Reprod. 59: 1-6

Visconti P.E., Galantino-Homer H., Ning X., Moore G.D., Valenzuela J.P., Jorgez C.J., Alvarez J.G., Kopf G.S. (1999)

Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm. Beta-cyclodextrins initiate transmembrane signaling leading to an increase in protein tyrosine phosphorylation and capacitation.
J. Biol. Chem. 274(5): 3235-42

Vollmerhaus B. (1976)

In: Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band III.
1. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 385

Wallace J.M., Helliwell R., Morgan P.J. (1991)

Autoradiographic localization of oxytocin binding sites on ovine oviduct and uterus throughout the oestrous cycle.
Reprod. Fertil. Dev. 3(2): 127-35

Walter N.B., Bavdek S. (1997)

Lectin binding patterns of porcine oviduct mucosa and endometrium during the oestrus cycle.
J. Anat. 190(Pt2): 299-307

Westmann A. (1952)

Investigations into the transport of the ovum.
In: Engle E.T. (Hrsg.): Studies on testes and ovary, eggs and sperm.
Verlag Thomas, Springfield, Illinois: 163

Wilkens H., Münster W. (1976)

In: Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band III.
1. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg: 183

Willoughby J.O., Martin J.B., Renaud L.P., Bazeau P. (1976)

Pulsatile growth hormone release in the rat: failure to demonstrate a correlation with sleep phases.

Endocrinology. 98(4): 991-6

Wiseman D.L., Henricks D.M., Eberhardt D.M., Bridges W.C. (1992)

Identification and content of insulin-like growth factors in porcine oviductal fluid.

Biol. Reprod. 47(1): 126-32

Wrobel K.-H., Kujat R., Fehle G. (1993)

The bovine uterotubal junction: general organization and surface morphology.

Cell Tissue Res. 271(2): 227-239

Wu A.S.H., Carlson S.D., First N.L. (1976)

Scanning electron microscopic study of the porcine oviduct and uterus.

J. Anim. Sci. 42(4): 804-9

Wuttke W., Meites J. (1971)

Luteolytic role of prolactin during the estrous cycle of the rat.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137(3): 988-91

Yamashita M., Matsuda M., Mori T. (1999)

In situ detection of prolactin receptor mRNA and apoptotic cell death in mouse uterine tissues with adenomyosis.

In Vivo. 13(1): 57-60

Yanagimachi R. (1990)

Capacitation and acrosome reaction.

In: Asch R.H., Balmaceda P., Johnston I. (eds.): Gamete Physiology

Sereno Symposia, Nowell, Massachusetts: 31-42

Yaniz J.L., Lopez-Gatius F., Hunter R.H.F. (2006)

Scanning electron microscopic study of the anatomy of the porcine oviductal mucosa.

Anat. Histol. Embryol. 35(1): 28-34

Yaniz J.L., Recreo P., Carretero T., Arceiz E., Hunter R.H.F., López-Gatius F. (2007)

The peritoneal mesothelium covering the genital tract and its ligaments in the female pig show signs of active function.

Anat. Rec. (Hoboken). 290(7): 231-7

Zheng W., Magid M.S., Kramer E.E., Chen Y.-T. (1996)

Follicle-stimulating hormone receptor is expressed in human ovarian surface epithelium and fallopian tube.

Am. J. Pathol. 148(1): 47-53

Ziecik A.J., Derecka K., Gawronska B., Stepień A., Bodek G. (2001)

Nongonadal LH/hCG receptors in pig: functional importance and parallels to human.

Semin. Reprod. Med. 19(1): 19-30

Ziecik A.J., Bodek G., Blitek A., Kaczmarek M., Waclawik A. (2005)

Nongonadal LH receptors, their involvement in femal reproductive function and a new applicable approach.

Vet. J. 169(1): 75-84

Zietzschmann O., Krölling O. (1955)

In: Zietzschmann O., Krölling O. (Hrsg.): Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere.

2. Auflage, Paul Parey, Berlin-Hamburg: 383,389

8.2 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
AG	Aktiengesellschaft
AIJ	Ampulla-Isthmus-Junction
AMH	Anti-Müller-Hormon
Aqua dest.	Aqua destillata
AS	Aminosäure
°C	Grad Celsius
ca.	circa
Ca ⁺⁺	Kalzium-Ionen
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
Co.	Cooperation
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
cm	Zentimeter
Da	Dalton
DAB	3,3-Diaminobenzidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ed.	Editor
EGF	Epidermal Growth Factor
et al.	Et alii
Fa.	Firma
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
g	Gramm
µg	Mikrogramm
GAH	Glutaraldehyd
GH	Growth hormone
GHBP	Growth hormone-binding protein
GHIH	Growth hormone release inhibiting hormone
GH-R	Growth hormone-Rezeptor
GmbH	Gemeinschaft mit beschränkter Haftung
GRH	Growth hormone releasing hormone
h	Stunde
HE	Hämatoxilin-Eosin
Hrsg.	Herausgeber
HVL	Hypophysenvorderlappen
IGF-I/II	Insulin-like growth factor I/II
IGFBP	Insulin-like growth factor binding protein
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
L.	Lumbal
LH	Luteinisierendes Hormon
Lig.	Ligamentum
LTH	luteotropes Hormon
m	Meter
M	Mol

M/E	Methanol/Eisessig
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
µm	Mikrometer
mM	Millimol
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MSH	Melanozyten-stimulierendes Hormon
ng	Nanogramm
PBS	Phosphat buffered saline
pg	Pikogramm
pH	potentia hydrogenii
PRL	Prolaktin
PRLBP	Prolactin binding protein
PRL-R	Prolaktin-Rezeptor
R., Rr.	Ramus, Rami
REM	Rasterelektronenmikroskop
RT	Reverse Transkriptase
SRY	hodendeterminierendes Gen
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
STH	Somatotropes Hormon
Tab.	Tabelle
TGF α	Transfornal Growth Factor- α
Th.	Thorakal
TRH	Tyreotropin releasing hormone
TSH	Tyreoida-stimulierendes Hormon
u.a.	unter anderem
UTJ	Uterotubaler Übergang
V.	Vena
VIP	Vasoaktives intestinales Peptid

8.3 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen:

Abb. 1:	Ein GH-Molekül bindet zwei GHBP's an deren Subdomäne 1 und Gelenkregion. Durch Interaktionen der Subdomäne 2 wird der Komplex stabilisiert. Die GHBP's entsprechen der extrazellulären Domäne des GH-R (modifiziert nach Frank, 2002).....	20
Abb. 2:	Modelle für den Bindungsvorgang von GH an GH-R (modifiziert nach Frank, 2002) 1) Der Rezeptor liegt bereits als Homodimer vor. 2) Durch die Bindung von GH kommt es zur Dimerisierung. 3) Durch die Bindung von GH kommt es am lose dimerisierten Rezeptorkomplex zur Konformationsänderung.....	20
Abb. 3:	Modell für die Dosisabhängigkeit der Wirkung von GH. Bei sehr hohen Konzentrationen bilden sich unproduktive monomere Interaktionen. (modifiziert nach Frank, 2002).....	21
Abb. 4:	Infundibulum, Zyklus, Tag 10. Die Oberfläche der sekretorischen Zellen (★) ist überwiegend vorgewölbt und der Zilienverband hat sich gelichtet.....	38
Abb. 5:	Infundibulum, Zyklus, Tag 18. Die sekretorischen Zellen überwiegen und ragen plastisch in das Lumen des Eileiters hinein.....	39
Abb. 6:	Infundibulum, Zyklus, Tag 18. Bruchlinie des Epithels. Die sekretorischen Zellen weisen mächtige, in das Lumen hervortretende Protrusionen auf.....	40
Abb. 7:	Infundibulum, 23. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen sind mit Protrusionen ausgestattet, welche eine einheitliche Größe besitzen.....	41
Abb. 8:	Infundibulum, 71. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen weisen keine Protrusionen auf.....	42
Abb. 9:	Ampulle, Zyklus, Tag 0. Die Oberfläche des Eileiterepithels ist von einem geschlossenen Zilient Teppich bedeckt.....	43
Abb. 10:	Ampulle, Zyklus, Tag 2-3. Die Oberflächen der sekretorischen Zellen (★) wölben sich kugelig zwischen den Zilien hervor.....	44
Abb. 11:	Ampulle, 14. Trächtigkeitstag. Dominanz der sekretorischen Zellen. Die Protrusionen sind teilweise gestielt (★) und weisen starke Größenunterschiede auf. Die Zilien treten zurück.....	45

Abb. 12:	Ampulle, 71. Trächtigkeitstag. Die sekretorischen Zellen sind dicht mit Mikrovilli besetzt und die Zilien ragen über ihre Oberfläche hinaus.....	46
Abb. 13:	Isthmus, 2-3 Tage <i>post inseminationem</i> . Typisches Bild der Epitheloberfläche. Einzelne lichte Zilienbüschel treten zwischen den sekretorischen Zellen hervor.....	47
Abb. 14:	Uterotubaler Übergang. Fester Verschluss der Mündung des Eileiters in den Uterus durch kissenartige (*) bzw. zungenförmige (►) Fortsätze.....	48
Abb. 15:	Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Im proximalen Bereich gleicht das Schleimhautepithel dem des Eileiters. Es handelt sich um ein flaches, einschichtiges, hochprismatisches Epithel, welches stellenweise eine leichte Mehrreihigkeit aufweist. Hämatoxilin-Eosin-Färbung.....	49
Abb. 16:	Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Im Bereich der prominenten Schleimhautfalten nimmt das einschichtige Epithel stark an Höhe zu und zeigt eine deutliche Mehrreihigkeit. Hämatoxilin-Eosin-Färbung.....	49
Abb. 17:	Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Als Besonderheit treten bei einzelnen Tieren, v.a. an den Spitzen der Schleimhautfalten Modifikationen des einschichtigen, mehrreihigen Epithels hin zu mehrschichtigen, unverhornten Epithelabschnitten auf. Es ist deutlich ein <i>Stratum basale</i> und <i>Stratum spinosum</i> zu erkennen. Hämatoxilin-Eosin-Färbung.....	50
Abb. 18:	Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 0. Mehrere großlumige, in Schichten angeordnete, längs verlaufende Venen und Lymphgefäße sind in den kissenartigen Schleimhautfalten lokalisiert. Das subepitheliale Bindegewebe ist aufgelockert und ödematisiert. Hämatoxilin-Eosin-Färbung.....	51
Abb. 19:	Uterotubaler Übergang, Zyklus, Tag 13. Im Diöstrus ist das subepitheliale Bindegewebe deutlich kompakter als im Östrus. Hämatoxilin-Eosin-Färbung.....	51
Abb. 20:	Ampulle, Zyklus, Tag 10. Expression des GH-R im Zytoplasma von zahlreichen luminalen Epithelzellen im Ovidukt des Schweins. Daneben liegen immer wieder auch ungefärbte Epithelzellen vor (→). DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalalaun.....	52

Abb. 21:	Ampulle, Zyklus, Tag 18. Nur die zilientragenden Epithelzellen (schwarz markierte Zilienbüschel) weisen auch eine Expression des GH-R (violett markiert) im Zytoplasma auf. Die sekretorischen Zellen sind nicht markiert (→). Immunhistochemische Doppelfärbung mit Vector Black und Vector VIP.....	53
Abb. 22:	Infundibulum, Zyklus, Tag 10. Anhäufung GH-R-positiv markierter Zellen im Bereich der Schleimhautfaltenbasis. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	54
Abb. 23:	Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Infundibulums im Zyklusverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Die meisten positiven Zellen werden hier zu Beginn des Zyklus gezählt. (Anzahl der Tiere n = 3).....	55
Abb. 24:	Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Infundibulums im Trächtigtkeitsverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Geringgradiger kontinuierlicher Rückgang der positiv markierten Zellen. (Anzahl der Tiere n = 3).....	55
Abb 25:	Ampulle, 71. Trächtigtkeitstag. Einzelne GH-R-positiv Epithelzellen mit großem, chromatinarmen Kern weisen eine sehr starke Intensität der Farbreaktion auf. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	57
Abb. 26:	Ampulle, 71. Trächtigtkeitstag. Einzelne GH-R-positiv Epithelzellen mit großem, chromatinarmen Kern weisen eine sehr starke Intensität der Farbreaktion auf. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	57
Abb. 27:	Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel der Ampulle im Zyklusverlauf. Gegenüberstellung von Basis und Spitze der Schleimhautfalten. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Im Diöstrus werden deutlich weniger GH-R-positiv Zellen gefunden. (Anzahl der Tiere n=3).....	58
Abb. 28:	Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel der Ampulle im Trächtigtkeitsverlauf. Gegenüberstellung von Basis und Spitze der Schleimhautfalten. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Über den untersuchten Zeitraum sinkt die Anzahl der positiven Zellen deutlich ab. (Anzahl der Tiere n = 3).....	58

- Abb. 29:** **A, B:** Nachweis der Expression von GH-R mRNA in der Eileiterampulle. Die Banden der RT-PCR-Produkte befinden sich auf Höhe von ca. 292 Basenpaaren. Bande 1 (14. Trächtigkeitstag), Bande 2 (2.-3. Zyklustag), Bande 3 (65.-71. Trächtigkeitstag), Bande 4 (10.-13. Zyklustag), Bande 5 (18. Zyklustag), Bande 6 (Zyklustag 0), Bande 7 (2-3 Tage *p. insemin.*), Bande 8 (Trächtigkeitstag 23) Marker (M), Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P): Leber. 12,5 %-iges Polyacrylamidgel nach Anfärbung mit Silbernitratlösung..... 59
- Abb. 30:** Isthmus, 23. Trächtigkeitstag. An der Spitze der Schleimhautfalten treten gehäuft GH-R-positiv markierte Epithelzellen auf. Keine Anfärbung im Bereich der Basis der Schleimhautfalten. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämaun..... 60
- Abb. 31:** Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Isthmus im Zyklusverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Die geringsten Werte werden hier während des Diöstrus gemessen. (Anzahl der Tiere n = 3)..... 61
- Abb. 32:** Anzahl GH-R-positiver Zellen im Schleimhautepithel des Isthmus im Trächtigkeitsverlauf. Dargestellt sind der Mittelwert und die Standardabweichung. Insgesamt nur geringgradige Schwankungen der Anzahl in den einzelnen Stadien. (Anzahl der Tiere n = 3)..... 61
- Abb. 33:** **A:** Infundibulum, Zyklus, Tag 2-3. Das Zytoplasma der Epithelzellen ist im apikalen Bereich stark markiert. **B:** Ampulle, Zyklus, Tag 0. Die luminalen Epithelzellen weisen eine leichte bis starke Expression von PRL-R im Zytoplasma auf. Häufig ist auch hier der apikale Bereich des Zytoplasmas deutlicher angefärbt. Daneben liegen auch ungefärbte Epithelzellen vor (Pfeile). **C:** Ampulle, Zyklus, Tag 18. Auffällig ist die sehr starke Farbreaktion in den Zytoplasmaprotrusionen, die in das Lumen abgegeben werden. **D:** Positivkontrolle: Milchdrüse, Schwein. Positive Farbreaktion in den Epithelzellen der Azini. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämaun..... 63
- Abb. 34:** **A, B:** Nachweis der Expression von PRL-R-mRNA in der Eileiterampulle. Die Banden der RT-PCR-Produkte befinden sich auf Höhe von ca. 600 Basenpaaren. Bande 1 (14. Trächtigkeitstag), Bande 2 (2.-3. Zyklustag), Bande 3 (65.-71. Trächtigkeitstag), Bande 4 (10.-13. Zyklustag), Bande 5 (18. Zyklustag), Bande 6 (Zyklustag 0), Bande 7 (2-3 Tage *p. insemin.*), Bande 8 (Trächtigkeitstag 23) Marker (M), Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P): *Corpus luteum*. 1,5 %-iges Agarosegel, Fluoreszenzaufnahme..... 65

Abb. 35:	A: Hypophyse, Schwein, Positivkontrolle. Gruppen von mammotropen Zellen exprimieren PRL. B: Im Bereich des Eileiterepithels kann keine Expression von PRL nachgewiesen werden. Das Serum in den Blutgefäßen weist jedoch eine deutliche Anfärbung auf. DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	66
Tabellen:		
Tab. 1:	Signalement und Reproduktionsstatus der beprobten Tiere.....	27
Tab. 2:	Übersicht der verwendeten Antikörper.....	29
Tab. 3:	Übersicht über die verwendeten Primerpaare.....	35
Tab. 4:	Übersicht über die zur Silbernitrat-Färbung verwendeten Lösungen.....	37
Tabellen im Anhang:		
Tab. A1:	Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel des Infundibulums.....	106
Tab. A2:	Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel des Infundibulums.....	106
Tab. A3 a:	Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel der Ampulle (Faltenspitze).....	107
Tab. A3 b:	Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel der Ampulle (Faltenbasis).....	107
Tab. A4:	Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel der Ampulle.....	108
Tab. A5:	Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel des Isthmus.....	109
Tab. A6:	Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel des Isthmus.....	109
Tab. A7:	Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel des Infundibulums.....	110
Tab. A8:	Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel der Ampulle.....	110
Tab. A9:	Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel des Isthmus.....	111

9 Anhang

Tab. A1: Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel des Infundibulum

Stadium	3 x 100 Zellen										MW gesamt	Stabw		
	1. Schwein		2. Schwein		3. Schwein		MW	MW	MW	MW				
Zyklus Tag 0	41	35	27	34	47	50	44	47	47	42	49	47	43	7,7
Zyklus Tag 2-3	42	33	43	39	4	2	9	5	5	46	40	25	27	17,8
Zyklus Tag 10-13	42	45	41	43	31	26	34	30,3	34	13	21	23	32	10,5
Zyklus Tag 18	15	23	22	20	12	23	6	13,7	39	27	25	30	21	9,5
2-3 Tag p.insem.	33	38	38	36	35	42	40	39	38	41	43	41	39	3,2
Trächtigkeitstag 14	35	41	35	37	35	42	39	38,7	31	39	41	37	38	3,7
Trächtigkeitstag 23	42	45	43	43	40	12	35	29	23	29	18	23	32	12,0
Trächtigkeitstag 65-71					31	21	41	31	16	29	26	24	27	8,6

MW: Mittelwert
Stabw: Standardabweichung

Tab A2: Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel des Infundibulum

Stadium	Intensität		MW Intensität	Stabw
	Intensität	MW Intensität		
Zyklus Tag 0	3	3	3	0,00
Zyklus Tag 2-3	2	1,5	2	0,29
Zyklus Tag 10-13	1	2	2	0,58
Zyklus Tag 18	1,5	2	2	0,29
2-3 Tag p.insem.	1,5	2	2,5	0,50
Trächtigkeitstag 14	2	1,5	1,5	0,29
Trächtigkeitstag 23	2	1,5	2	0,29
Trächtigkeitstag 65-71	2,5	2,5	2,5	0,00

MW: Mittelwert
Stabw: Standardabweichung

Tab. A3 a: Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel der Ampulle (Faltenspitze)

Stadium	3 x 100 Zellen												MW gesamt	Stabw
	1. Schwein			2. Schwein			3. Schwein			MW	MW			
	MW			MW			MW							
Zyklus Tag 0	8	12	9	10	35	37	43	38	27	24	31	27	25	12,9
Zyklus Tag 2-3	19	28	32	26	8	10	16	11	44	44	48	45	28	15,3
Zyklus Tag 10-13	15	0	8	8	0	0	0	0	19	20	18	19	9	9,1
Zyklus Tag 18	18	13	14	15	25	27	24	25	27	28	26	27	22	5,9
2-3 Tag p.insem.	32	41	34	36	40	34	37	37	29	36	32	32	35	3,9
Trächtigkeitstag 14	31	39	35	35	41	40	42	41	0	0	0	0	25	4,2
Trächtigkeitstag 23	44	38	43	42	0	0	0	0	29	32	30	30	24	18,7
Trächtigkeitstag 65-71	22	18	19	20	0	0	0	0	29	30	23	27	14	15,2

MW: Mittelwert
Stabw: Standardabweichung

Tab. A3 b: Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel der Ampulle (Faltenbasis)

Stadium	3 x 100 Zellen												MW gesamt	Stabw
	1. Schwein			2. Schwein			3. Schwein			MW	MW			
	MW			MW			MW							
Zyklus Tag 0	35	30	41	35	43	39	43		41	32	33	35	37	5,0
Zyklus Tag 2-3	27	35	31	31	37	18	29		51	47	42	47	35	10,4
Zyklus Tag 10-13	23	12	18	18	17	21	23		30	27	29	29	22	5,9
Zyklus Tag 18	18	12	15	15	32	15	32		33	41	31	35	25	10,4
2-3 Tag p.insem.	45	37	33	38	37	38	32	36	32	29	31	31	35	4,9
Trächtigkeitstag 14	35	26	17	26	44	38	42	41	0	0	0	0	34	10,3
Trächtigkeitstag 23	47	38	42	42	5	4	16	8	33	27	39	33	15	16,0
Trächtigkeitstag 65-71	22	33	30	28	5	3	2	3	9	16	19	15	15	11,5

MW: Mittelwert
Stabw: Standardabweichung

Tab. A4: Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel der Ampulle

Stadium	Intensität Falten spitze				Intensität Faltenbasis			
	1.-3. Schwein		MW	Stabw	1.-3. Schwein		MW	Stabw
Zyklus Tag 0	2	2	2,0	0,00	3	3	3,0	0,00
Zyklus Tag 2-3	1	1	1,3	0,58	2	1,5	2,2	0,76
Zyklus Tag 10-13	1	0,5	0,8	0,29	1	1	1,3	0,58
Zyklus Tag 18	1	1	1,3	0,58	1,5	2	1,8	0,29
2-3 Tag p.insem.	1,5	2	1,5	0,50	3	3	3,0	0,00
Trächtigkeitstag 14	1	1	1,0	0,00	1,5	2	1,8	0,35
Trächtigkeitstag 23	2	0	1,3	1,15	2	1	1,7	0,58
Trächtigkeitstag 65-71	1	2	1,7	0,58	2	3	2,3	0,58

MW: Mittelwert
Stabw: Standardabweichung

Tab. A5: Anzahl GH-R positiver Zellen im Eileiterepithel des Isthmus

Stadium	3 x 100 Zellen												MW gesamt	Stabw
	1. Schwein			2. Schwein			3. Schwein			MW				
	MW			MW			MW							
Zyklus Tag 0	43	35	43	40	29	34	18	27	18	25	15	19	29	10,6
Zyklus Tag 2-3	36	26	38	33	18	19	15	17,3	25	35	33	31	27	8,6
Zyklus Tag 10-13	17	18	16	17	16	29	26	23,7	9	18	25	17	19	6,2
Zyklus Tag 18	29	34	31	31	14	16	15	15	38	32	35	35	27	9,4
2-3 Tag p.insem.	8	7	6	7	33	30	35	32,7	35	32	34	34	24	13,2
Trächtigkeitstag 14	27	32	30	30	37	32	35	34,7	21	19	16	19	28	7,4
Trächtigkeitstag 23	30	32	21	28	10	7	16	11	31	19	28	26	22	9,3
Trächtigkeitstag 65-71	29	16	28	24	34	17	13	21,3	29	19	21	23	23	7,3

MW: Mittelwert

Stabw: Standardabweichung

Tab. A6: Intensität der DAB-Reaktion für GH-R im Schleimhautepithel des Isthmus

Stadium	Intensität		MW Intensität	Stabw
Zyklus Tag 0	1,5	1,5	1,5	0,0
Zyklus Tag 2-3	2	1,5	2	0,3
Zyklus Tag 10-13	1,5	1,5	2	0,3
Zyklus Tag 18	2	1,5	2	0,3
2-3 Tag p.insem.	1,5	2,5	2	0,5
Trächtigkeitstag 14	1,5	2	1	0,5
Trächtigkeitstag 23	2	0,5	1,5	0,8
Trächtigkeitstag 65-71	1	1,5	2	0,5

MW: Mittelwert

Stabw: Standardabweichung

Tab. A7: Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel des Infundibulum

Stadium	Intensität		MW Intensität	Stabw
Zyklus Tag 0	2	1	1,5	0,5
Zyklus Tag 2-3	2	1,5	2	0,3
Zyklus Tag 10-13	1,5	2	2	0,3
Zyklus Tag 18	2,5	2	1	0,8
<hr/>				
2-3 Tag p.insem.	2	2,5	2	0,3
Trächtigkeitstag 14	2,5	2,5	2,5	0,0
Trächtigkeitstag 23	2	2	2	0,0
Trächtigkeitstag 65-71	2	1	1,5	0,7

MW: Mittelwert

Stabw: Standardabweichung

Tab. A8: Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel der Ampulle

Stadium	Intensität		MW Intensität	Stabw
Zyklus Tag 0	2,5	2	1	0,8
Zyklus Tag 2-3	2	1	2	0,6
Zyklus Tag 10-13	2,5	2	2	0,3
Zyklus Tag 18	2	2,5	3	0,5
<hr/>				
2-3 Tag p.insem.	1,5	2	2,5	0,5
Trächtigkeitstag 14	2	2	2	0,0
Trächtigkeitstag 23	2	2	3	0,6
Trächtigkeitstag 65-71	2,5	2	2	0,3

MW: Mittelwert

Stabw: Standardabweichung

Tab. A9: Intensität der DAB-Reaktion für PRL-R im Schleimhautepithel des Isthmus

Stadium	Intensität		MW Intensität	Stabw
Zyklus Tag 0 Zyklus Tag 2-3 Zyklus Tag 10-13 Zyklus Tag 18	1	1	1,0	0
	1	2	1,5	0,4
	2	1	1,7	0,5
	2	1,5	1,8	0,2
2-3 Tag p.insem. Trächtigkeitstag 14 Trächtigkeitstag 23 Trächtigkeitstag 65-71	1,5	1,5	1,3	0,2
	1	1,5	1,2	0,2
	1,5	1,5	1,7	0,2
	1,5	1	1,3	0,2

MW: Mittelwert

Stabw: Standardabweichung

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Amselgruber danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung und die stets gewährte, persönliche Unterstützung bei der Durchführung meiner Doktorarbeit.

Gleichermaßen gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Stangassinger für die Übernahme und Vorlage der Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

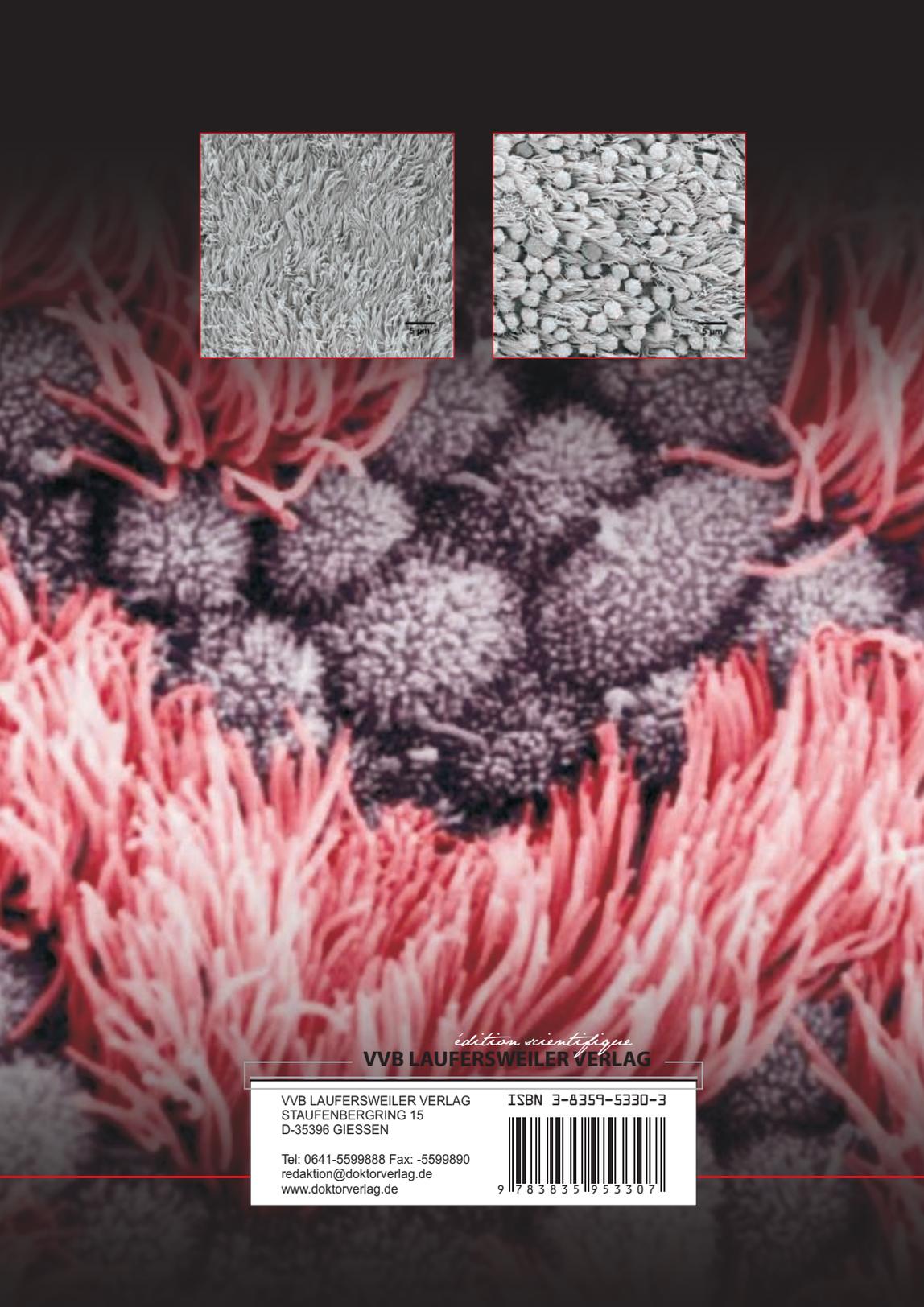
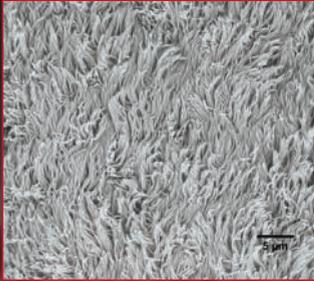
Ganz herzlich möchte ich Herrn Dr. Steffl für seinen fachkundigen, freundlichen Rat, die Korrektur der Arbeit und die Unterstützung bei der Gewinnung des Probenmaterials danken.

Für die Anleitung bei den PCR-Untersuchungen möchte ich mich sehr bei Herrn Dr. Schweiger und Frau Dr. Falter bedanken. Ebenso gilt mein Dank Frau Müller und Frau Holzäpfel für die Hilfe bei den labortechnischen Arbeiten.

Ein herzliches Dankeschön an Herrn Hageloch und Herrn Reichenäcker von der Versuchstation „Unterer Lindenhof“ der Universität Hohenheim für die Überlassung der Tiere und die stets sehr gute Zusammenarbeit.

Meinen Promotionskolleginnen und -kollegen sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts und der Tierklinik bin ich für das angenehme Arbeitsklima sehr dankbar.

Patrick danke ich besonders für seine konstruktiven Anregungen und seine tatkräftige Unterstützung. Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir schon immer alle Freiheit und allen Rückhalt gewährt haben, um meine Ziele zu verwirklichen. Danke!



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

ISBN 3-8359-5330-3

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



9 17838351953307