

Aus dem Institut für Tieranatomie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Tieranatomie II
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur pränatalen
Entwicklung des bovinen Nabelstrangs
(*Bos taurus*)**

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

von
Yvonne Hirle
aus
Schöngeising

München 2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr. F. Sinowatz
1. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Hermanns
2. Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. hc. mult. H.-G. Liebich
3. Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. P. Kölle
4. Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Ch. Grund

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Meiner Mutter und meiner Schwester

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1. Embryologie	3
2.1.1. Pränatale Entwicklung der Nabelschnur	3
2.1.2. Fetalen Kreislauf	5
2.1.3. Umstellung des Kreislaufes nach der Geburt	7
2.2. Anatomie	8
2.3. Mikroskopischer Aufbau	12
2.3.1. Nabelgefäße	12
2.3.2. Wharton Sulze	17
2.3.3. Amnionepithel	20
2.4. Intermediärfilamente und kontraktile Proteine in der Nabelschnur	23
2.4.1. Nabelgefäße	25
2.4.2. Wharton Sulze	26
2.4.3. Amnionepithel	27
2.5. Zuckerstrukturen in der Nabelschnur	27
2.5.1. Glykogen	27
2.5.2. Glykosaminoglykane	28
2.5.3. Lektine	29
2.6. Metabolische Aktivität und Syntheseleistungen der Nabelschnur	30
2.7. Die Regulation des umbilikalen Blutflusses	33
2.7.1. Fehlende Innervation der Nabelgefäße	33
2.7.2. Die funktionelle Bedeutung der Wandstruktur der Nabelgefäße	34
2.7.3. Vasoaktive Substanzen	35
2.7.3.1. Die Steroidhormone Progesteron und Östrogen	36
2.7.3.2. Weitere vasoaktive Substanzen und physikalische Faktoren	38
2.7.4. Die Bedeutung der WS für die umbilikale Blutflussregulation	42
2.8. Die Nabelschnur als mögliche Stammzellquelle	43
2.8.1. Hämatopoietische Stammzellen (HSCs) in der Nabelschnur	43
2.8.2. Mesenchymale Stammzellen (MSCs) in der Nabelschnur	45
3. Material und Methoden	46
3.1. Untersuchungsmaterial	46

3.2. Probennahme und Fixierung	46
3.2.1. Probennahme während spontaner Vaginalgeburt.....	46
3.2.2. Probennahme auf dem Schlachthof.....	47
3.2.3. Fixierung Lichtmikroskopie.....	47
3.2.4. Fixierung Elektronenmikroskopie.....	48
3.3. Konventionelle lichtmikroskopische Färbungen.....	48
3.4. Immunhistochemische Färbungen.....	50
3.5. Glykohistochemische Färbungen	53
3.6. Elektronenmikroskopie	55
4. Ergebnisse	56
4.1. Makroskopische Betrachtung.....	56
4.2. Konventionelle Färbungen	58
4.2.1. Übersichtsfärbungen (Hämatoxylin-Eosin und Trichromfärbung nach Masson-Goldner)	59
4.2.2. PAS-Färbung.....	65
4.2.3. Elastika-Färbung nach Weigert (mit Resorcinfuchsin).....	67
4.2.4. Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0.....	69
4.2.5. Versilberung nach Gomori	70
4.2.6. Toluidinblau-Färbung.....	71
4.3. Immunhistologische Färbungen	72
4.3.1. Immunzytochemischer Nachweis von bovinem Progesteronrezeptor (bPR).....	72
4.3.2. Immunzytochemischer Nachweis von bovinem Östrogenrezeptor α (bER α).....	73
4.3.3. Immunzytochemischer Nachweis von α -smooth-muscle-Aktin (α SMA).....	73
4.3.4. Immunzytochemischer Nachweis von Pan-Cytokeratin (Pan-CK).....	77
4.3.5. Immunzytochemischer Nachweis von Vimentin	79
4.3.6. Immunzytochemischer Nachweis von Desmin	80
4.3.7. Immunzytochemischer Nachweis von S100	82
4.4. Glykohistochemische Färbungen	84
4.4.1. Canavalia ensiformes Agglutinin (Con A).....	84
4.4.2. Triticum vulgare Agglutinin (WGA)	84
4.4.3. Erythrina cristagalli Agglutinin (ECA).....	86
4.4.4. Griffonia simplicifolia Agglutinin I (GSA I)	86
4.4.5. Arachis hypogaea Agglutinin (PNA).....	87
4.4.6. Glycine max Agglutinin (SBA).....	87

4.4.7. Lotus tetragonolobus Agglutinin (LTA)	87
4.4.8. Ulex europaeus Agglutinin (UEA I)	88
4.4.9. Vicia villosa Agglutinin (VVA).....	88
4.5. Elektronenmikroskopie	89
4.5.1. Nabelgefäße.....	89
4.5.2. Wharton Sulze	98
4.5.3. Amnionepithel	105
4.5.4. Urachus.....	109
5. Diskussion	115
5.1. Makroskopische Aspekte	115
5.2. Charakterisierung der Nabelbestandteile nach histologischen und immun histochemischen Aspekten.....	120
5.2.1. Nabelgefäße.....	120
5.2.2. Wharton Sulze	123
5.2.3. Amnionepithel	126
5.2.4. Urachus.....	128
5.3. Vorkommen und Verteilung von Glykokonjugaten und Glykogen in der bovinen Nabelschnur.....	129
5.4. Die Regulation des umbilikalen Blutflusses	133
5.5. Die bovine Nabelschnur als Stammzellquelle?	139
6. Zusammenfassung.....	143
7. Summary	146
8. Verzeichnisse	148
8.1. Literaturverzeichnis.....	148
8.2. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	170
8.3. Abkürzungsverzeichnis	174
9. Anhang	177
9.1. Ergebnistabellen.....	177
9.2. Rezepte	207
10. Danksagung.....	211
11. Lebenslauf.....	212

1. EINLEITUNG

Die Nabelschnur stellt die Verbindung zwischen Fetus und Mutter dar und ist somit für die fetale Entwicklung essentiell. Lange Zeit wurde sie nur als „blutführendes Rohr“ angesehen, das für die Anlieferung von O₂ und Nährstoffen sowie für den Abtransport von CO₂ und Stoffwechselprodukten verantwortlich ist. Inzwischen ist jedoch klar, dass es sich bei der Nabelschnur um ein metabolisch aktives Gewebe handelt, welches unter anderem an der Hormonproduktion beteiligt ist (Gunasegaram et al., 1991). Die Nabelschnur spielt auch im klinischen Bereich eine wichtige Rolle, da der Zusammenhang zwischen einigen pathologischen Krankheitszuständen während der Schwangerschaft und Veränderungen der Nabelschnur auf makroskopischer, mikroskopischer und molekularbiologischer Ebene bekannt ist. So können beispielsweise bei einem verminderten Gehalt an Wharton Sulze (WS), dem Bindegewebe des Nabelstrangs, Wachstumsretardierungen und fetale Hypoxien während der Geburt beobachtet werden, wohingegen ein erhöhter Gehalt an WS bei Schwangerschaftsdiabetes vorkommt (Ghezzi et al., 2001). Weiterhin wurde eine Korrelation zwischen Leukozyteninfiltration der Nabelschnur mit später auftretenden Infektionskrankheiten im Säuglingsalter registriert (Overbach und Cassidy, 1970). Auch eine Veränderung der Glykokonjugate sowie des Fasergehalts spielen bei pathologischen Prozessen, unter anderem bei der Schwangerschaftsgestose, eine wichtige Rolle (Bankowski et al., 1996; Sgambati et al., 2003). Die Untersuchung der Nabelschnur ermöglicht folglich die Erkennung einiger pathologischer Zustände. Dabei sind noch viele Funktionen, Syntheseleistungen und Mechanismen der Nabelschnur, wie beispielsweise die Regulation des Blutflusses in den Nabelgefäßen, noch nicht vollständig geklärt. In den letzten Jahren gelang es aus der Nabelschnur des Menschen, der Maus und des Schweins, Zellen mit hämatopoietischen und mesenchymalen Stammzellcharakter zu isolieren, weshalb die Nabelschnur auch im Rahmen der Stammzellforschung an Bedeutung gewann (de Bruijn et al., 2000; Mitchell et al., 2003).

Die meisten Studien über die Nabelschnur stammen allerdings aus der Humanmedizin, so dass nur wenig über die Nabelschnur der Haussäugetiere, einschließlich der des Rindes bekannt ist. Die Kenntnisse aus der Humanmedizin können jedoch nicht einfach auf das Rind übertragen werden, da schon auf den ersten Blick größere anatomische Unterschiede bestehen. Ziel dieser Studie ist es deshalb, die bovine Nabelschnur anatomisch, licht- und elektronenmikroskopisch zu charakterisieren. Dabei sollen vor allem die Veränderungen während der pränatalen Entwicklung untersucht werden. Die Arbeit kann als Basis für weitere

Studien an der Nabelschnur des Rindes, auch im Rahmen der Stammzellforschung und für die Erkennung pathologischer Prozesse, dienen.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Embryologie

2.1.1. Pränatale Entwicklung der Nabelschnur

Die Bildung des Nabelstrangs ist ein komplexer Vorgang, der früh in der Embryonalphase beginnt. Ausführliche Beschreibungen dazu stammen hauptsächlich aus dem humanmedizinischen Bereich, weshalb die folgenden Beschreibungen größtenteils auf den menschlichen Embryo zutreffen. Der Nabelstrang wird aus dem Haftstiel, dem Allantoisgang (Urachus), dem Dottersackstiel, den Allantois- und Dottersackgefäßen sowie aus dem Nabelzölom und dem Amnion gebildet (Benirschke und Kaufmann, 2000).

Zirka am 10. Tag besteht der Embryoblast aus der zweikeimblättrigen Keimscheibe (Ektoderm/Entoderm), dem Amnion und dem primären Dottersack. Um den Embryoblast befindet sich der ektodermale Trophoblast (späteres Chorion), wobei sich zwischen Embryoblast und Trophoblast lückenlos das extraembryonale Mesoderm einschleibt (Moore, 1996). In diesem entstehen ab dem 12. Tag Spalten, die bereits am 13. Tag zu einem großen Hohlraum, dem sogenannten extraembryonalen Zölom zusammenfließen, aus welchem sich später die Chorionhöhle formiert (Moore, 1996). Durch die Hohlraumbildung kommt es zu einer Spaltung des ursprünglich einheitlichen Mesoderms in ein viszerales und parietales Blatt. Dabei wird das Amnion und der Dottersack von außen von viszeralem, das Chorion von innen von parietalem Mesoderm umgeben, so dass die Fruchthüllen nun einen epithelialen und mesodermalen Anteil aufweisen. Am basalen Pol des Amnions bleibt die Hohlraumbildung aus, weshalb die mesodermalen Anteile des Amnions und Chorions mittels einer Mesodermbrücke in Kontakt bleiben. Durch die Ausdehnung der Zölomhöhle wird der Embryo immer weiter vom Chorion getrennt, bleibt aber über die oben erwähnte Mesodermbrücke mit dem Chorion, dem fetalen Teil der Plazenta, verbunden. Diese Mesodermbrücke zwischen Amnion und Chorion wird als Haftstiel bezeichnet und kann beim Menschen als primitiver Vorläufer der Nabelschnur angesehen werden (Starck, 1975; Moore, 1996; Benirschke und Kaufmann, 2000). Die Ausweitung des Zöloms geht nicht nur mit der Bildung des Haftstiels, sondern beim Menschen auch mit der Bildung des sekundären aus dem primären Dottersack einher (Heuser et al., 1945; Starck, 1975). Die Bildung des sekundären Dottersacks ist auf den Menschen beschränkt. Beim Rind bleibt der primäre Dottersack als definitiver Dottersack bestehen (Rüsse et al., 1992). Am Tag 16 bildet sich eine Epithelausstülpung aus der kaudalen Dottersackwand weit in den Haftstiel hinein (Moore, 1996). Sie wird als Allantoisdivertikel bezeichnet und entwickelt sich zum Allantoisgang

(Urachus) sowie zur Allantois, die bei den Haussäugetieren den fetalen Harnsack darstellt. Bei den Haussäugetieren bleiben die Allantois und der Allantoisgang bis zur Geburt erhalten, während die beiden Strukturen beim Menschen bald zurück gebildet werden (Noden und De Lahunta, 1985; Rüsse und Sinowatz, 1991). Die Gefäßbildung beginnt im menschlichen Embryo ca. ab dem 13. Tag im Mesoderm von Dottersack und Chorion sowie im Haftstielgewebe um das Allantoisdivertikel. Die im Haftstiel gebildeten Gefäße formieren sich zu den Allantoisgefäßen, die eine Verbindung zwischen Chorion und Fetus herstellen und somit zu den Nabelgefäßen werden (O’Rahilly und Müller, 1987; Moore 1996). Zunächst handelt es sich um zwei Nabelarterien (*Arteriae umbilicales*) und zwei Nabelvenen (*Venae umbilicales*), wobei eine der beiden Nabelvenen speziesspezifisch rückgebildet werden kann (Rüsse und Sinowatz, 1991).

Ähnlich der Bildung des extraembryonalen Zöloms entsteht durch die Spaltung des Seitenplattenmesoderms, das einen Bestandteil des intraembryonalen Mesoderms darstellt, das intraembryonale Zölom. Vor der abgeschlossenen Abfaltung des Embryos gehen extra- und intraembryonales Zölom ineinander über (Hinrichsen, 1990; Moore, 1996, Benirschke und Kaufmann, 2000). Beim menschlichen Embryo beginnt die Abfaltung ca. am Tag 18. Die durch sie hervorgerufenen Form- und Lageveränderungen tragen wesentlich zur Bildung des Nabelstrangs bei. Dabei wölbt sich der Embryo in die ständig wachsende Amnionblase hinein und die Begrenzungsfurchen, welche den Übergang zwischen Amnion und embryonalen Ektoderm markieren, rücken konzentrisch immer weiter nach ventral Richtung zukünftiger Nabelregion. Ein Teil des Dottersacks wird durch die Dorsalkrümmung des Embryos in den Embryo verbracht, wobei der primitive Darm entsteht. Intra- und extraembryonaler Anteil des Dottersacks stehen über den zunächst noch breiten Dottersackstiel (*Ductus omphaloentericus*) miteinander in Verbindung. Durch das weitere Vorrücken der Begrenzungsfurchen wird der Dottersackstiel jedoch immer weiter eingeengt (Hinrichsen, 1990). Im Rahmen der Abfaltung wölbt sich der Embryo mit dem Kaudalende über den Haftstiel nach ventral, so dass der Haftstiel mitsamt seinen Gefäßen und dem Allantoisdivertikel von dorsokaudal auf die Ventralseite des Embryos verlagert wird (Starck, 1975; Moore, 1996). Zusätzlich wird auch die Verbindung zwischen intra- und extraembryonalem Zölom immer schmaler, wobei sie jedoch vorerst im Nabelstrang bestehen bleibt und als Nabelstrangzölom den Dottersackstiel enthält (Hinrichsen, 1990). Das ständig wachsende Amnion reicht schließlich bis an die Ventralseite des Embryos, so dass es sich in unmittelbarer Nachbarschaft zum Haft- und Dottersackstiel befindet (Benirschke und Kaufmann, 2000). Durch Fortschreiten der Wachstums- und Krümmungsprozesse nähern sich die einzelnen Strukturen immer weiter an,

bis schließlich die Mesodermbestandteile des Amnions, der Dottersackstiel und der Haftstiel mitsamt Urachus und Gefäßen aufeinander treffen. Der so entstandene Strang wird vom Amnionepithel umgeben und jetzt als Nabelstrang bezeichnet, wobei die ursprünglich getrennten Mesenchymbestandteile nun als einheitliche Wharton Sulze das gemeinsame Bindegewebe des Nabelstrangs darstellen (Starck, 1975; Hinrichsen, 1990; Moore, 1996; Benirschke und Kaufmann, 2000).

Im Rahmen der Wanderung der Primordialkeimzellen muss einzelnen Bestandteilen Nabelstrangs Bedeutung beigemessen werden. Die ersten Primordialkeimzellen werden in der kaudalen Wand des Dottersacks in der Nähe des Allantoisabgangs gebildet (Witschi, 1948; O'Rahilly und Müller, 1987). Beim Rind wurden die ersten Keimzellen am Tag 18 in der Dottersackwand nachgewiesen (Wrobel und Suss, 1998). Sie wandern aktiv amöboid über den Dottersackstiel, über den primitiven Darm und über das dorsale Mesenterium zur Keimleiste (Rüsse und Sinowatz, 1991). Auch die Wanderung der Primordialkeimzellen über den Haftstiel wird beim Menschen beschrieben (Hinrichsen, 1990).

2.1.2. Fetaler Kreislauf

Das erste funktionierende Organsystem des Embryos wird durch den Dottersackkreislauf präsentiert. Parallel dazu entstehen im Mesenchym der Allantois Gefäße, die sich zu den Nabelgefäßen formieren und den Plazenta- oder Allantoiskreislauf bilden (Starck, 1975; Rüsse und Sinowatz, 1991).

Die beiden Kreisläufe bleiben nur kurze Zeit unabhängig voneinander bestehen, denn es finden komplexe Rück- und Umbildungsvorgänge des Gefäßsystems statt, die in enger Beziehung zur Entwicklung der Leber stehen. Diese Vorgänge resultieren in einer Ablösung des Dottersackkreislaufes durch den Plazentakreislauf, der bis zur Geburt bestehen bleibt. Die Nabelvenen ziehen zunächst getrennt von den Dottersackgefäßen zum Sinus venosus des Herzens. Sie bilden aber bald Anastomosen mit den Dottersackvenen im Bereich des Kapillargebiets der Leber aus, wobei beim Menschen die gesamte rechte Nabelvene, bei den Haussäugetieren Teile davon sowie der proximale, d.h. posthepatische Abschnitt der linken Nabelvene verödet. Es bleibt also nur der prähepatische Teil der linken Nabelvene bestehen, der direkt in die Leber zieht. Dort wird eine bogenförmige Verbindung zur Pfortader ausgebildet. Zusätzlich kommt es zur Ausbildung von drei für den fetalen Kreislauf essentiellen Shuntverbindungen (Edelstone et al., 1978; Rüsse und Sinowatz, 1991):

- Der Ductus venosus Arantii verbindet die Nabelvene mit der Vena cava caudalis, die zum Herzen führt und stellt somit eine Kurzschlussverbindung zwischen den beiden Gefäßen unter Umgehung der Mikrozirkulation der Leber dar.
- Beim Foramen ovale handelt es sich um ein Loch in der Vorhofswand, das einen Übertritt des Blutes direkt von der rechten in die linke Vorkammer zulässt.
- Der Ductus arteriosus Botalli stellt eine Gefäßverbindung zwischen Lungenarterie (Arteria pulmonalis) und Aorta descendens dar, so dass der Lungenkreislauf umgangen werden kann.

Nach Ausbildung dieser Gefäßverläufe und Shuntverbindungen ist der definitive Plazentakreislauf (oder auch Nabel- und Allantoiskreislauf) entstanden.

Das mit Sauerstoff und Nährstoffen angereicherte Blut wird von der Plazenta über die Nabelvene zunächst zur Leber geführt. Das Blut kann dort einerseits zunächst über die Nabelvenen- und Portalvenenäste in das Kapillargebiet der Leber und schließlich in die Vena cava caudalis geleitet werden oder andererseits über den Ductus venosus unter Umgehung der Mikrozirkulation der Leber direkt in Vena cava caudalis und somit zur rechten Vorkammer gelangen. Da im Fetus der Druck in der rechten Herzhälfte größer als in der linken ist, wird ein Teil des Blutes über das Foramen ovale in die linke Vorkammer gepresst, so dass es schließlich über den linken Ventrikel in die Aorta ascendens fließen kann. Der andere Teil des Blutes fließt nicht über das Foramen ovale, sondern gelangt über den rechten Ventrikel in die Arteria pulmonalis. Von dort fließt ein kleiner Teil des Blutes zur nutritiven Versorgung in die Lunge, während das meiste Blut unter Umgehung der Lunge die Arteria pulmonalis über den Ductus arteriosus Botalli verlässt und somit direkt in die Aorta descendens zur Versorgung der Organe geleitet wird. Das Blut erreicht schließlich die von den Arteriae iliacae internae abzweigenden Nabelarterien, wobei diese paarig rechts und links der Harnblase und des Urachus nach kranial zum Nabel ziehen und extraabdominal in die Nabelschnur eintreten. Das mit Kohlendioxid angereicherte Blut erreicht somit wieder die Plazenta, an der der Gasaustausch erfolgt (Noden und De Lahunta, 1985; Rüsse und Sinowatz 1991).

Der fetale Kreislauf zeichnet sich also durch das Vorhandensein von Shuntverbindungen aus, woraus eine Vermischung von O₂-reichem und O₂-armem Blut resultiert. Das O₂-reichste Blut befindet sich in der Nabelvene (85% O₂-Sättigung) und wird der Leber zugeführt. Eine erste Vermischung mit O₂-armem Blut findet in der Leber statt, wenn Portalvenenblut (30% O₂-Sättigung) und Nabelvenenblut aufeinander treffen. Eine zweite Vermischung erfolgt an der Einmündungsstelle des Ductus venosus (85% O₂-Sättigung, da er fast ausschließlich Blut

aus der Nabelvene führt) in die Vena cava caudalis (35% O₂-Sättigung, da sie O₂-armes Blut aus der kaudalen Körperpartie des Fetus transportiert). Eine weitere Vermischung ergibt sich, wenn das O₂-arme Blut aus der kranialen Körperhälfte über die Vena cava cranialis (35% O₂-Sättigung) in den rechten Vorhof mündet und mit dem Gemisch aus Nabelvenen- und Vena cava caudalis-Blut in Berührung kommt. Sobald das Blut aus dem Ductus arteriosus Botalli in die Aorta descendens einmündet, kommt es nochmals zu einer Vermischung von Blut unterschiedlichen O₂-Gehalts (Edelstone et al., 1978; Rudolph, 1985; Macara et al., 1993). Das Blutflussmuster innerhalb des Fetus ist sehr komplex und wurde an Schaffeten untersucht. O₂-reiches Blut aus der Umbilikalvene, aus dem Ductus venosus Arantii und der linken Vena hepatica gelangen über das Foramen ovale in die linke Herzkammer und somit über die Aorta ascendens zum Gehirn und Myocard, während das O₂-arme Blut aus der Vena cava caudalis (hintere Körperregion), der Vena cava cranialis (vordere Körperregion) und der rechten Vena hepatica in der rechten Herzhälfte bleibt und über den Ductus arteriosus Botalli in die Aorta descendens gelangt, von dort aus es schließlich in die kaudalen Körperpartien fließt und über die Nabelarterien die Plazenta erreicht. (Edelstone und Rudolph 1979; Reuss et al., 1981; Rudolph, 1985). Im Laufe der Trächtigkeit ändert sich die Verteilung des Blutes im fetalen Körper. Der prozentuale Anteil des vom Herzen ausgestoßenen Blutes („cardiac output“) durch die Nabelarterien zur Plazenta sinkt von 50% auf 40%, während der „cardiac output“ für die Lunge und den Darm ansteigt. In frühen Trächtigungsmonaten muss folglich der fetoplazentare Gefäßwiderstand kleiner als der im Fetus sein. Wie die Umverteilung des Blutflusses reguliert wird, ist unklar, wobei jedoch bezweifelt wird, dass sie allein auf einer Tonusveränderung der Nabelarterien und der Plazentagefäße beruht (Rudolph und Heymann, 1970; Macara et al., 1993).

2.1.3. Umstellung des Kreislaufes nach der Geburt

Bei der Geburt finden weitreichende Veränderungen im Kreislaufsystem statt. Mit dem Abreißen der Nabelschnur wechselt der Ort des Gasaustausches von der Plazenta zur Lunge und die fetalen Shuntverbindungen und Nabelgefäße müssen verschlossen werden. Daraus ergibt sich eine strikte Trennung von O₂-reichem und O₂-armen Blut (Rudolph, 1985). Mit Abriss der Nabelschnur wird die feto-maternale Verbindung getrennt, wodurch der CO₂-Gehalt im Fetus ansteigt. Infolgedessen wird das Atemzentrum in der Medulla oblongata gereizt und der erste Atemzug induziert. Dabei steigt das Lungenvolumen an und der pulmonale Blutkreislauf wird angeregt, wobei nun vermehrt Blut über die Venae pulmonales in die linke Vorkammer fließt. Dies hat eine Änderung der Druckverhältnisse im fetalen

Herzen zur Folge, so dass nun im Gegensatz zur intrauterinen Fetalzeit im linken Vorhof ein größerer Druck als im rechten herrscht. Dadurch wird das Septum primum gegen das Septum secundum gedrückt und das Foramen ovale somit funktionell verschlossen. Das mit O₂ angereicherte Blut gelangt von der Lunge in die linke Herzhälfte und schließlich über die Aorta zu den Organen. Der Ductus arteriosus Botalli wird reflektorisch verschlossen, so dass das O₂-arme Blut nicht mehr in die Aorta, sondern vollständig in die Lunge transportiert wird. Die Nabelgefäße und der Ductus venosus kontrahieren sich und obliterieren (Rüsse und Sinowatz, 1991). Der Verschluss der Shuntverbindungen und der Nabelgefäße ist zunächst rein funktionell. Erst später kommt es zu Verödungen, so dass beispielsweise die Nabelvenen des Menschen erst in der dritten Woche vollständig verschlossen werden (Noden und De Lahunta, 1985). Die ehemaligen Shunts und Nabelgefäße können dann als strangartige Gebilde nachgewiesen werden. Die Nabelvene wird zum Ligamentum teres hepatis, die Nabelarterien stellen sich als Ligamenta teres vesicae in den seitlichen Harnblasenbändern dar. Der Ductus arteriosus Botalli wird zum fibrösen Ligamentum arteriosum und der Ductus venosus zum Ligamentum venosum (Noden und De Lahunta, 1985).

2.2. Anatomie

Der Grundaufbau der Nabelschnur ist bei den Haussäugetieren und dem Menschen gleich. Dabei werden die im Zentrum der Nabelschnur lokalisierten Nabelgefäße von der Wharton Sulze (WS) eingebettet. Nach außen wird die Nabelschnur von einem Epithelüberzug umgeben (Young, 1972; Arvy und Pilleri, 1976; Franc et al., 1998; Pennati, 2001). Zusätzlich sind in der Nabelschnur der Allantoisgang (Urachus) und der Dottersackstiel vorhanden, wobei diese beiden Strukturen jedoch altersabhängige und speziesspezifische Variationen aufweisen.

Die nach ihrem Erstbeschreiber Thomas Wharton (1656) benannte, weißlich bis durchsichtig erscheinende WS stellt das spezielle Bindegewebe der Nabelschnur dar. Sie verbindet die Bestandteile der Nabelschnur und verleiht ihr ihre komprimierbare, aber dennoch feste Konsistenz. Die Menge der WS variiert speziesspezifisch. So besitzen einige Carnivore und der Elefant ausgesprochen wenig WS, während die Nabelschnur großer Wale sehr reich an WS ist (Arvy und Pilleri, 1976). Die Ausdehnung der WS bei verschiedenen Füllungszuständen der Nabelgefäße unterscheidet sich ebenfalls, wie vergleichende Studien bei Schaf und Mensch zeigten. Beim Menschen weist der Querschnitt der dilatierten und kollabierten Nabelschnur große Unterschiede auf. Bei blutleeren, kollabierten Nabelgefäßen

nimmt die locker geschichtete WS mehr Fläche in Anspruch als die Gefäße. Bei mit Blut gefüllten Nabelgefäßen wird die nun dicht und kompakt erscheinende WS als dünne Schicht an den Rand gepresst. Beim Schaf hingegen existieren kaum Volumenschwankungen der WS bei dilatierten und kollabierten Nabelschnurgefäßen. Sie nimmt eine Zwischenstellung der beiden Extreme des Menschen ein. Die Konsistenz und Komprimierbarkeit der WS scheint folglich speziesspezifischen Unterschieden zu unterliegen (Reynolds, 1952).

Das Nabelstrangepithel besteht beim Rind, Schwein und Mensch ausschließlich aus einem Amnionüberzug, während es beim Pferd und Hund aus einem Amnion- und einem Allantoisteil besteht (Rüsse und Sinowatz, 1991). Das gesamte Amnionepithel des Rindes und der kleinen Wiederkäuer weist zahlreiche weißliche, papillenförmige Epithelwucherungen auf, die als Plaques oder Warzen bezeichnet werden (Rüsse und Sinowatz, 1991). Beim Menschen kommen Plaques nur am fetalen Ende der Nabelschnur vor, so dass die Oberfläche überwiegend glatt erscheint (Benirschke und Kaufmann, 2000).

Der Allantoisgang, der zumindest bei den Haussäugetieren während der gesamten pränatalen Entwicklung in der Nabelschnur vorhanden ist, stellt die Verbindung zwischen der Harnblase des Fetus und der Allantois her. Er ist im Nabelstrang zwischen den beiden Arterien lokalisiert. Beim Menschen, bei dem die Allantois nur rudimentär vorhanden ist, obliteriert er normalerweise bis zur 15. Gestationswoche (Janosco et al., 1977). Es können aber bei 14,6% der reifen Nabelschnüre des Menschen Epithelreste des Urachus nachgewiesen werden (Jauniaux et al., 1989b).

In frühen Gestationstadien lässt sich zentral noch der Dottersackstiel (Ductus omphaloentericus) nachweisen, der jedoch atrophiert. Beim Menschen beginnt die Degeneration des Dottersacks und des Dottersackstieles in der 10. Woche und ist bis zur 16. Woche abgeschlossen (Janosco et al., 1977; Jones et al., 1993). Allerdings sind in zirka 1,5% der reifen Nabelschnüre noch Reste des Dottersackstiels vorhanden (Jauniaux et al., 1989a). Beim Schaf sind ab einer SSL von 4,2 cm die Rückbildungsvorgänge abgeschlossen (Rüsse et al., 1992).

Die Anzahl der Gefäße variiert speziesspezifisch. Ursprünglich werden zwei Nabelarterien und zwei Nabelvenen angelegt. Diese vier Gefäße bleiben bei Rind, Schaf und Katze erhalten (Comparative Placentation, Online, 2004). Bei Mensch, Schwein, Hund und Pferd atrophiert eine der beiden Nabelvenen, so dass im Nabelstrang zwei Nabelarterien und nur eine Nabelvene vorkommen (Pennati, 2001; Comparative Placentation, Online, 2004). Beim Menschen wird öfters das „single umbilical artery“-Phänomen (SUA) dokumentiert, bei dem nur eine Nabelarterie im Nabelstrang existiert. Es kann von zahlreich anderen fetalen

Anomalien begleitet werden (Benirschke et al., 1960). Auch bei Kälbern wurde vom SUA-Phänomen berichtet, wobei die Kälber zusätzlich intraabdominale Gefäßanomalien, eine Rektalatresie sowie einseitige Anorchie und Nierenmissbildungen aufwiesen (Stein und Martin, 1985).

Auch der Verlauf der Nabelgefäße unterscheidet sich bei den einzelnen Spezies. Dabei können sie gerade verlaufen oder spiralisiert vorliegen. Mit der Windung der Gefäße ist auch eine Verdrillung der ganzen Nabelschnur verbunden (Fletcher, 1993). Beim Schaf liegt beispielsweise zum Geburtszeitpunkt ein gerader Gefäßverlauf vor, während die Nabelgefäße des Menschen vielfach spiralisiert sind (Reynolds, 1952). Über die Anzahl der Windungen des menschlichen Fetus existieren verschiedene Angaben, wobei Werte zwischen 11 und 40 Helices dokumentiert wurden. (Strong, 1997; Benirschke und Kaufmann, 2000) Beim Menschen können im Zusammenhang mit unspiralisierten Nabelgefäßen erhöhte perinatale Sterblichkeitsraten, Chromosomenfehler sowie Mekoniumverhaltung beobachtet werden (Strong et al., 1993; Strong et al., 1994). Über die Ursachen der Spiralisierung existieren verschiedene Ansichten. In der älteren Literatur wird hauptsächlich der bestehende intravasale Druck für die Verdrillung der Nabelgefäße verantwortlich gemacht (Hyrtl, 1870; Shordania, 1929). Daneben wird die Spiralisierung der Nabelgefäße mit der aktiven Beweglichkeit des Fetus in Verbindung gebracht (Benirschke und Kaufmann, 2000). Es existiert jedoch auch die Theorie, dass die Gefäßwindungen nicht sekundär entstehen, sondern auf der genetisch festgelegten Spiralisierung der Muskelzellen und Fasern basieren und folglich von Anfang an determiniert sind. Eine genetische Determination der Windungsanzahl wurde vermutet, da die Nabelschnur des Menschen schon in frühen Gestationsstadien vollständig spiralisiert vorliegt (Malpas und Symonds, 1966).

Das Vorkommen von Anastomosen zwischen den Nabelarterien des Menschen wurde bereits 1737 von Hebenstreit erwähnt. Hyrtl fertigte bereits 1870 eine genaue Studie über die verschiedenen Möglichkeiten der Gefäßverbindung zwischen den beiden Nabelarterien des Menschen an, wobei er in 90,5% der Fälle einen verbindenden Gefäßast beschrieb. Auch bei Schaf und Rind wurde das regelmäßige Vorkommen einer Anastomose zwischen den Nabelarterien dokumentiert (Bacsich et al., 1961; Young et al., 1963, Steven, 1968). Laut Young et al. (1963) kamen bei 54% der geburtsreifen Rinderfeten derartige Gefäßverbindungen vor, wobei 27% davon „effizient“ erschienen. Bei frühen Feten (zirka ab einer SSL von 4 mm) war sogar in 75% der Fälle eine „effiziente“ Anastomose auffindbar. Demnach findet beim Rind im Laufe der Trächtigkeit eine Rückbildung der funktionstüchtigen anastomosierenden arteriellen Gefäßverbindungen statt. Die Anzahl der

Anastomosen scheint bei allen Spezies zu variieren. Einige Autoren dokumentieren nur eine einzige Anastomose (Hyrtl, 1870; Shordania, 1929), andere Autoren finden zwei (Priman, 1959; Patten, 1946). Beim Rind konnten bei 24,7% der untersuchten Feten, beim Schaf bei 1,6% Doppelanastomosen festgestellt werden (Young et al., 1963). Die meisten Arbeiten über die Nabelschnur des Menschen beschreiben eine zwischen den beiden Hauptästen der Nabelarterie verlaufende Anastomose, die ca. 1,5 cm vor dem Eintritt der Nabelschnur in die Plazenta liegt. Alle Autoren stimmen überein, dass das Fehlen einer Anastomose sehr selten ist (1-2%).

Die „Hoboken'schen Klappen“ (oder Hobokschen Klappen) sind ein weiteres anatomisches Merkmal der Nabelarterien. Sie konnten bisher nur beim Mensch beobachtet werden. Der holländische Anatom Hoboken beschrieb erstmals 1669 in postpartalen, kollabierten Nabelarterien transverse Falten der Muskelwand und bezeichnete sie als „Klappen“. Er vermutete ihre Beteiligung am postpartalen Gefäßverschluss. Diese Strukturen stellten lange Zeit ein stark umstrittenes Thema in der Literatur dar. Einige Autoren sahen in ihnen reine Artefaktbildungen im Rahmen der Austrocknung nach der Geburt (Bondi, 1902). Andere Autoren hielten sie für funktionstüchtige, physiologische Strukturen, waren sich aber nicht einig, ob sie nur in Arterien, nur in Venen oder in beiden Nabelgefäßen vorkommen (Hyrtl, 1870; Shordania, 1929; Spivack, 1946; Reynolds, 1952; Hughes, 1966; Scharl, 1986). Shordania (1929) erkannte zwar auch in der Vene ins Lumen ragende Falten, hielt diese aber auf Grund ihrer geringen Höhe und Lokalisation für Artefaktbildungen, die nicht in der Lage waren den Blutstrom zu stoppen. Die Falten der Arterien hingegen verschlossen das Lumen weitgehend und ließen in keiner Richtung einen Blutfluss zu. Shordania spricht deshalb nicht von Klappen, sondern von Falten, da eine Klappe durch die Verhinderung des Blutflusses in nur einer Richtung definiert ist. Ihrer Meinung nach wird das Neugeborene auf diese Weise kurz vor der Abnabelung noch optimal mit Blut versorgt, da venöses Nabelschnurblut ungehindert über die Nabelvene zum Kind gelangen kann. Der Abfluss über die Nabelarterien wird jedoch durch die das Lumen verschließende Falten verhindert. Da sich im distalen, plazentaren Anteil der Arterie mehr Falten befinden, wird das Blut aus der Nabelarterie Richtung Fetus gepresst (Shordania, 1929). Makroskopisch lassen sich ca. 30 Sekunden nach der Geburt an der Gefäßinnenwand ringförmige, quergestellte Falten erkennen, denen von außen betrachtet Einfurchungen entsprechen. Zwischen diesen Einfurchungen liegen stark mit Blut gefüllte knotenartige Areale, die als Hoboken'sche Knoten bezeichnet werden (Spivack, 1946; Scharl, 1986). Reynolds (1952) dokumentiert bei Menschen kleine ins Lumen ragende

Falten sogar in noch nie kollabierten Nabelarterien. In der A. umbilicalis des Schafes hingegen konnte er in keinem Fall derartige Strukturen erkennen.

Bei Rind, Schwein, Schaf, Pferd und Hund ist die WS von zahlreichen kleinen Gefäßen durchzogen. Sie kommen gehäuft in der Nähe des Urachus vor. Dabei handelt es sich meist um Allantoisgefäße, wobei sie beim Hund eher vitellinen Ursprung haben (Comparative Placentation, Online, 2004). Beim Menschen kommen neben den Nabelgefäßen keine weiteren Gefäße in der WS vor (Reynolds, 1952).

Wie aus zahlreichen Arbeiten ersichtlich, kann die Länge der Nabelschnur des Menschen beträchtlich variieren (30 cm bis 129 cm). Die durchschnittliche Länge liegt bei 59 cm bis 61 cm (Shordania, 1929; Malpas, 1964; Benirschke und Kaufmann, 2000). Die Nabelschnurlänge scheint im Zusammenhang mit fetaler Aktivität zu stehen. Je aktiver der Fetus, desto länger die Nabelschnur. Kurze Nabelschnüre werden zusammen mit neonatalen Problemen und beim Down-Syndrom beobachtet (Benirschke und Kaufmann, 2000). Naeye und Tafari (1983) vermuten, dass Kinder mit extrem langer Nabelschnur in utero sehr aktiv sind und auch im späteren Leben „hyperaktiv“ sein können. Über die Nabelschnurlängen der Haussäugetiere gibt es weniger detaillierte Arbeiten. Beim Pferd wurden durchschnittliche Nabelschnurlängen von 55 cm gemessen (Whitwell, 1975). Für die Katze werden 4 cm, für den Hund 6 cm angegeben. Das Schwein hat eine ca. 26 cm lange Nabelschnur und das Rind besitzt mit durchschnittlich 35 cm eine verhältnismäßig kurze Nabelschnur (Arvy und Pilleri, 1976).

2.3. Mikroskopischer Aufbau

2.3.1. Nabelgefäße

Die meisten Arbeiten über den licht- und elektronenmikroskopischen Aufbau der Nabelgefäße stammen aus dem humanmedizinischen Bereich (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Nur wenige Autoren untersuchten die Nabelgefäße von anderen Spezies, beispielsweise die der Ratte (Leeson und Leeson, 1965) und des Schafes (Sheppard und Bishop, 1973). Die älteren lichtmikroskopischen Arbeiten beschäftigen sich hauptsächlich mit dem Wandaufbau der Nabelarterie, um Erkenntnisse über den Mechanismus des postpartalen Gefäßschlusses zu gewinnen. Im Gegensatz zur makroskopischen Betrachtung, bei der die muskelstarken Nabelarterien und -venen große Ähnlichkeit aufweisen, lassen sich schon bei grober mikroskopischer Betrachtung Unterschiede zwischen den beiden Gefäßen feststellen. Das Lumen der Arterien ist meist klein und sternförmig, das der Venen dilatiert und rund

(Gebrane-Younes et al., 1986). Obwohl die Vena umbilicalis eine verhältnismäßig dicke Wand besitzt, scheint die Arteria umbilicalis mehr Muskelzellschichten zu besitzen (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Prinzipiell liegen die einzelnen Muskelzellen der Arterie dichter zusammen als bei der Vene. In der Arterie sind sie kaum durch Bindegewebe voneinander getrennt und scheinen verflochten. Nur die inneren Zellen sind relativ locker geschichtet (Meyer et al., 1978; Scharl, 1986). In der Vene hingegen liegen die einzelnen Muskelzellen durch Bindegewebe weit voneinander entfernt (Shordania, 1929; Gebrane-Younes et al., 1986).

Das einschichtige Endothel der Nabelgefäße ist vom kontinuierlichen Typ (Parry und Abramovich, 1972; Sheppard und Bishop, 1973; Asmussen und Kjeldsen, 1975). Im Laufe der verschiedenen Gestationsphasen verändern die Endothelzellen der Ratte und des Menschen ihre äußere Form. Die meist rundlich geformten, unreifen Endothelzellen variieren in ihrer Größe und ragen teilweise ins Lumen. Später kommt es zur Abflachung und Elongation (Leeson und Leeson, 1965; Sexton et al., 1996). Die Endothelzellen der Nabelvene des Menschen besitzen zahlreiche mikrovilliähnliche Zytoplasmafortsätze (Gebrane-Younes et al., 1986; Kagawa und Fujimoto, 1987). Das Zytoplasma der Endothelzellen der Nabelgefäße ist bei Mensch (Parry und Abramovich, 1972; Asmussen und Kjeldsen, 1975; Osterkamp-Baust et al., 1980; Gebrane-Younes et al., 1986; Kagawa und Fujimoto, 1987; Sexton et al., 1996), Ratte (Leeson und Leeson, 1965) und Schaf (Sheppard und Bishop, 1973) sehr organellenreich. Die Organellen (raues endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparat, Mitochondrien) sind charakteristisch für eine metabolisch aktive, synthetisierende Zelle (Sexton et al., 1996). Besonders auffällig stellt sich das stark dilatierte raue endoplasmatische Retikulum (rER) dar, welches bei allen untersuchten Spezies gefunden wurde. Seine Ausdehnung nimmt in der Nabelarterie des Menschen stetig zu. In den Nabelvenen hingegen wird sowohl eine Zunahme als auch eine Abnahme des ER-Gehaltes ab Mitte der Schwangerschaft beschrieben (Parry und Abramovich, 1972; Takagi et al., 1984; Kagawa und Fujimoto, 1987). Pinocytotische Vesikel und „Weibel-Palade Bodies“, die besonders in der Nabelvene vorkommen, wurden ebenfalls in den Endothelzellen der Nabelgefäße beobachtet (Leeson und Leeson, 1965; Gebrane-Younes et al., 1986). In den Endothelzellen der menschlichen Nabelarterie befindet sich am basalen Zellpol eine organellenfreie Zone mit einer den Muskelzellen ähnlichen Myofilamentstruktur, weshalb ihnen die Fähigkeit zur Eigenkontraktion zugeschrieben wird (Majno et al., 1970; Parry und Abramovich, 1972; Asmussen und Kjeldsen, 1975; Gebrane-Younes et al., 1986). Glykogen ist regelmäßig in allen Endothelzellen der Nabelgefäße des Menschen vorhanden. Dabei gibt

es keine einheitlichen Angaben über den zeitlichen Verlauf des Glykogengehalts, da sowohl von einer Abnahme als auch von einer Zunahme im Laufe der Schwangerschaft berichtet wurde (Parry und Abramovich, 1972; Sexton et al., 1996). Zellverbindungen existieren zwischen den Endothelzellen sowie mit den darunter liegenden Muskelzellen. Bei den interendothelialen Zellverbindungen handelt es sich um zahlreiche Interdigitationen, zwischen denen immer wieder „gap und tight junctions“ ausgebildet werden (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Endothelzellen und glatte Muskelzellen treten über lange Fortsätze miteinander in Kontakt (Nikolov und Schiebler, 1973; Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996).

Bezüglich der Anordnung der glatten Muskelzellen in der Tunica media existieren für die Vena und Arteria umbilicalis verschiedene Meinungen. Zusammenfassend kann über die Nabelarterie gesagt werden, dass die Tunica media einen zweischichtigen Bau aufweist. Neben Beschreibungen von innerer Längs- und äußerer Ringmuskulatur (Shordania, 1929) existieren auch Beschreibungen spiralig angeordneter Muskelzellen, wobei je nach Steigungswinkel der Spiraltouren die Muskulatur längs (außen) oder zirkulär (innen) angeordnet erscheint (v. Hayek, 1935; Gänshirt, 1949; Goertler, 1951; Gebrane-Younes et al., 1986). Auch abwechselnd längs, schräg und ringförmig verlaufende Muskelzellen (Sexton et al., 1996) sowie eine „scherengitterartige Anordnung“ (Scharl, 1986) wurden erwähnt. Meyer et al. (1978) konnten das Vorkommen von Längsmuskulatur nicht bestätigen. Die von ihnen beschriebene zweischichtige Tunica media besteht peripher aus einer zirkulär verlaufenden Muskelschicht aus vollständig ausdifferenzierten Muskelzellen und innen aus einer Schicht ungeordneter und locker liegender Zellen. Es handelt sich ihrer Meinung nach bei der inneren Schicht nicht um ausdifferenzierte Muskelzellen, sondern um kontraktionsunfähige Mesenchymzellen (Meyer et al., 1978). Beim Schaf werden sowohl eine spiralige (Roach, 1973) als auch eine abwechselnd zirkuläre und longitudinale Anordnung der Muskelzellen in der Nabelarterie beschrieben (Sheppard und Bishop, 1973). Die Muskelzellschichtung der Vena umbilicalis des Menschen wird ähnlich der Nabelarterie verschieden dokumentiert. Neben einer inneren breiten zirkulären Schicht und einer äußeren Längsmuskelschicht (Shordania, 1929) existieren Beschreibungen über spiralig angeordnete Muskelzellen (Gebrane-Younes et al., 1986). Beim Schaf scheinen nur zirkuläre Muskelschichten vorhanden zu sein (Sheppard und Bishop, 1973). Auf elektronenmikroskopischer Ebene wurden in reifen Nabelgefäßen des Menschen zwei verschiedene Zelltypen in der Media dokumentiert. Neben ausdifferenzierten Muskelzellen

mit Myofilamenten, zahlreichen Mikropinocytosevesikeln sowie mit einer vollständig umgebenden Basallamina existieren Myofibroblasten, die nur unvollständig von basallaminaartigem Material umgeben sind und sich durch einen geringen Myofilamentgehalt, jedoch durch einen fibroblastenähnlichen Organellenreichtum auszeichnen. Die klassischen Muskelzellen scheinen aufgrund ihres relativ hohen Gehalts an rER eine hohe metabolische Aktivität zu besitzen (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Bei der Ratte wurde im Laufe der Entwicklung eine von innen beginnende allmähliche Differenzierung von Muskelzellen aus konzentrisch angeordneten Mesenchymzellen beobachtet (Leeson und Leeson, 1965). Die glatten Muskelzellen der Nabelgefäße beinhalten bei allen untersuchten Spezies zahlreiche Glykogenpartikel (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996; Mvumbi et al., 1996). Die Muskelzellen stehen über lange Zytoplasmaausläufer miteinander in Kontakt, ohne aber „gap junctions“ auszubilden (Sexton et al., 1996).

Das interzelluläre Bindegewebe von V. und A. umbilicalis weist Kollagenfasern und elastische Fasern auf, wobei die Kollagenfasern die einzelnen Muskelzellen netzartig umhüllen (Scharl, 1986). Bei allen untersuchten Spezies konnte als Besonderheit der Nabelgefäße die Ausbildung einer Lamina elastica interna in der Nabelvene und ihr Fehlen in der Nabelarterie beobachtet werden (Shordania, 1929; Boyd und Hamilton, 1970; Sheppard und Bishop, 1973; Nikolov und Schiebler, 1973; Arvy und Pilleri, 1976; Scharl, 1986; Gebrane-Younes et al., 1986). Lediglich Sexton et al. (1996) beschreiben auch eine im Gegensatz zur Vene schwächer ausgebildete Lamina elastica interna in der Arterie. Zwischen den einzelnen Muskelzellschichten lassen sich aber in beiden Nabelgefäßen elastische Fasern darstellen, wobei die Anzahl und Dicke der elastischen Fasern peripherwärts deutlich abnimmt (Shordania, 1929; Parry, 1970; Scharl, 1986; Gebrane-Younes et al., 1986). Ob der Gehalt an elastischen Fasern insgesamt in der Nabelarterie oder in der Nabelvene größer ist, ist nicht endgültig geklärt. Die Autoren sind sich jedoch einig, dass die Nabelarterien verglichen mit anderen Arterien entsprechender Größe weniger elastisches Material aufweisen (Shordania, 1929; Sheppard und Bishop, 1973; Nikolov und Schiebler, 1973; Gebrane-Younes et al., 1986).

Über die Ausbildung einer Adventitia um die Nabelgefäße des Menschen herrscht in der Literatur keine Einigkeit. Einige Autoren verneinen das Auftreten einer klassisch ausgebildeten Adventitia um beide Nabelgefäße. Ihrer Meinung nach kommt es um die Nabelgefäße herum lediglich zu einer Kondensierung der in dieser Region zirkulär

angeordneten Kollagenfasern der WS, so dass die WS die Funktion der Adventitia übernimmt (Shordania, 1929; Reynolds, 1952; Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Im Gegensatz dazu existieren Studien, die ein unterschiedliches und unabhängig voneinander bestehendes Kollagenfasergestützte im Hauptteil der WS und im Bereich der Nabelgefäße beschreiben und somit das Vorhandensein einer Adventitia um die Nabelgefäße postulieren (Vizza et al., 1996; Benirschke und Kaufmann, 2000). Auch von Zawisch (1955) wird die Ausbildung einer Adventitia um die menschlichen Nabelgefäße beschrieben, wobei sie sich von der übrigen WS durch einen höheren Zellgehalt sowie durch ihr metachromatisches Färbeverhalten abgrenzt. Dabei ist die Adventitia der Vena umbilicalis schwächer ausgebildet als die der Arteria umbilicalis. Das Volumen der Adventitia nimmt im Laufe der Entwicklung auf Kosten der restlichen WS zu (Zawisch, 1955).

Im Nabelstrang des Lammfetuses fehlt eine Adventitia um die Vena umbilicalis, während die Arteria umbilicalis von einer aus wenigen Fibroblastenschichten bestehenden Adventitia umgeben wird (Sheppard und Bishop, 1973).

Normalerweise besitzen Gefäße dieser Größenordnung eine eigene Gefäßversorgung, die der Ernährung der Gefäße dient. Die sogenannten Vasa vasorum können mikroskopisch zwischen den glatten Muskelzellen der Tunica media gefunden werden. Die Nabelgefäße des Menschen fallen durch die gänzliche Abwesenheit von Vasa vasorum auf (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996; Benirschke und Kaufmann, 2000). Im Gegensatz zum Menschen konnten sie in den Nabelgefäßen von Ratte und Schaf nachgewiesen werden (Leeson und Leeson, 1965; Sheppard und Bishop, 1973). Beim Schaf beschränken sie sich allerdings auf die peripheren Bereiche der Nabelarterie, während in der Nabelvene keine Vasa vasorum erkennbar waren.

Die bisherige Beschreibung des mikroskopischen Aufbaus der Nabelgefäße trifft nur auf den im Nabelstrang verlaufenden, extraabdominalen Anteil der Nabelgefäße zu. Sie kann nicht auf die intrafetalen Gefäßabschnitte übertragen werden, da sich die intra- und extraabdominalen Anteile deutlich voneinander unterscheiden. So kommen in der intraabdominalen Nabelarterie eine andere Muskelzellenanordnung, eine gut ausgebildete Lamina elastica interna sowie Vasa vasorum vor. Des Weiteren ist der intraabdominale Anteil der Nabelarterie im Gegensatz zum extraabdominalen Anteil innerviert (Spivack, 1943; Clarke, 1965; Kreutz et al., 1971).

2.3.2. Wharton Sulze

Die Wharton Sulze (WS) ist ein spezielles embryonales Bindegewebe von lockerer, gelatinöser Struktur, welches die Nabelgefäße schützend umgibt. An ihrer Oberfläche wird die WS speziesspezifisch von Amnion- und Allantoisepithel überzogen (Takechi et al., 1993; Nanaev et al., 1997).

Von einigen Autoren wird die WS als einheitliches Gewebe beschrieben, das gleichsam einer gemeinsamen Adventitia die Nabelgefäße umgibt (Di Naro et al., 2001). Andere Autoren hingegen unterteilen die WS in verschiedene Zonen, wobei ein zentraler und ein subamniotischer Bereich sowie eine Adventitia um die Nabelgefäße unterschieden werden können (Nanaev et al., 1997). Wie im Kapitel „2.2. Anatomie“ beschrieben, wird die WS bei einigen Spezies (z.B. Haussäugetieren) von zahlreichen kleinen Gefäßen durchzogen, während sie bei anderen Spezies (z.B. Mensch) nicht vaskularisiert erscheint (Wislocki et al., 1947; Reynolds, 1952).

Es existieren bis jetzt kaum Arbeiten über den mikroskopischen Aufbau der WS bei Tieren, so dass die meisten Informationen aus dem humanmedizinischen Bereich stammen. Prinzipiell besteht die WS aus Zellen, Fasern und einer amorphen Grundsubstanz (Zawisch, 1955; Schoenberg et al., 1958; Schoenberg et al., 1960; Catini und Gheri, 1983; Nanaev et al., 1997).

Die WS ist relativ zellarm, so dass die Zellen weitgehend separiert voneinander liegen (Eyden et al., 1994). Unter dem Amnionepithel sowie konzentrisch um die Gefäße kommt es jedoch zu einer Anhäufung von Zellen (Takechi et al., 1993). Bau und Funktion der Stromazellen in der WS werden kontrovers diskutiert. Lichtmikroskopisch werden die Stromazellen in kollabierten Nabelschnüren meist als fusiform oder sternförmig mit langen Zytoplasmaausläufern beschrieben (Parry, 1970; Takechi et al., 1993; Eyden et al., 1994; Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997; Kobayashi et al., 1998). Bei starker Blutfüllung der Nabelgefäße besitzen die Zellen jedoch elongierte, muskelzellähnliche Gestalt (Parry, 1970).

Bei Betrachtung der Ultrastruktur gehen die Meinungen auseinander, da nicht vollständig klar ist, ob es sich bei den Stromazellen um Fibroblasten, um Myofibroblasten oder um Muskelzellen handelt. Es werden einfache (Schoenberg et al., 1960; Boyd und Hamilton, 1970) und modifizierte Fibroblasten beschrieben (Parry, 1970), die neben typischen Fibroblastenmerkmalen (viel dilatiertes rER, ausgedehnter Golgi-Apparat) auch muskelzelltypische Eigenschaften aufweisen (kontraktile Mikrofilamente mit fokalen

Verdichtungen, Basallamina-ähnliches Material an der Oberfläche, „gap junctions“, elongierter Kern mit zahlreichen Indentationen). Derartige Zellen wurden erstmalig von Gabbiani und Mitarbeitern (1972) im Granulationsgewebe gefunden und als Myofibroblasten bezeichnet. Sie sind sowohl zur Produktion von extrazellulärer Matrix (EZM) als auch zur Zellkontraktion befähigt. Seit der Einführung des Begriffes „Myofibroblast“ sprechen auch die meisten Autoren in der Nabelschnur von Myofibroblasten (Takechi et al., 1993; Nanaev et al.; 1997; Kobayashi et al., 1998). Eyden (1994) hingegen findet die Bezeichnung „Myofibroblast“ für die WS-Zellen (WSZ) nicht zutreffend, da den Zellen seiner Meinung nach der für den Myofibroblasten charakteristische „Fibronexus“ fehlt. Er stellt eine „cell to matrix“-Spezialisierung dar und wird durch das Zusammentreffen der intrazellulären Myofilamente und den extrazellulären Fibronektinfibrillen an der Zelloberfläche definiert. Durch diese Verbindung kann die Kraft einer Zellkontraktion auf die EZM übertragen werden. Im Gegensatz zu der die glatten Muskelzellen umgebenden Basallamina reagiert der Fibronexus des Myofibroblasten mit Fibronektinantikörpern und nicht mit Lamininantikörpern positiv. Die Zellen der WS besitzen jedoch an ihrer Oberfläche Laminin-positives, basallaminaartiges Material, moderat entwickeltes rER sowie über das gesamte Zytoplasma verteilte Aktinfilamente, so dass es sich laut Eyden (1994) bei den Zellen der WS eher um glatte Muskelzellen handelt. Myofibroblasten weisen dagegen ein ausgeprägtes dilatiertes rER und nur am Zytoplasmarrand lokalisierte Mikrofilamente sowie einen Fibronexus auf und treten laut Eyden nur in traumatisierten (Granulationsgewebe) oder pathologischen Geweben (Tumoren) auf (Eyden, 2001). Die zwischen den langen Zytoplasmaausläufern ausgebildeten „gap junctions“ und die Glykogenansammlungen in den WS-Zellen weisen ebenfalls auf einen Muskelzellcharakter hin (Eyden et al., 1994; Kobayashi et al., 1998).

Eine Erklärung für die unterschiedlichen ultrastrukturellen Beschreibungen der Stromazellen liefern die Studien von Kohnen et al. (1996), Nanaev et al. (1997) und Kobayashi et al. (1998), die allesamt eine Reifung der WS-Zellen beschreiben. So wird beispielsweise das zunächst in den WS-Zellen des Menschen massiv vorhandene dilatierete rER im Laufe der Schwangerschaft reduziert, während bei späteren Stadien eine Zunahme des Glykogen- und Mikrofilamentgehalts, die Ausbildung des basallaminaartigen Überzugs sowie eine Elongation des Zellkerns beobachtbar ist (Kobayashi et al., 1998). Neben den zeitlichen Reifungsgradienten existieren bei frühen Entwicklungsstadien in der WS des menschlichen Nabelstrangs auch räumliche Differenzierungsgradienten. Während die zentral gelegenen WS-Zellen normalen Fibroblastencharakter aufweisen, handelt es sich im peripheren

subamniotischen Bereich um Myofibroblasten, in der Gegend der Adventitia um Zellen mit Myozytencharakter (Nanaev et al., 1997).

Neben den Stromazellen der WS sind vereinzelt Mastzellen vorhanden, wobei eine Anhäufung in Gefäßnähe erkennbar ist (Moore, 1958; Schoenberg et al., 1960; Durst-Zivkovic, 1973; Engberg-Damsgaard et al., 1992; Erpek, 1998). Ihre genaue Funktion ist unklar. Bezüglich der Anzahl der Mastzellen konnte weder ein Unterschied entlang der Nabelschnur noch zwischen normal und kompliziert verlaufenden Schwangerschaften (z.B. Schwangerschaftsgestose, Infektionen, Diabetes) festgestellt werden (Engberg-Damsgaard et al., 1992; Erpek, 1998). Die Nabelschnur enthält mehr Mastzellen als die Plazenta oder das Amnionmesenchym (Engberg-Damsgaard et al., 1992).

Kollagenfasern sind ein wichtiger Bestandteil der menschlichen Nabelschnur und machen zirka 50 % der WS aus (Schoenberg et al., 1960; Meyer et al., 1978; Takechi et al., 1993; Vizza et al., 1995; Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997; Nanaev et al., 1997). In der WS befindet sich viermal mehr Kollagen als in den Nabelgefäßen (Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997). Die Kollagenfaserbündel, die mit steigendem Gestationsalter zahlreicher und dicker werden, durchziehen die WS als ein durchgehendes Netzwerk, wobei sie in der Peripherie dichter als in zentralen Bereichen liegen (Schoenberg et al., 1960). Zwischen den Bündeln verlaufen verbindende freie retikuläre Fasern. Die Kollagenfasern ordnen sich in Zugrichtung an und können kinetische Energie speichern, während die freien, stabilisierend wirkenden retikulären Fasern die Kollagenfaserbündel vor Überdehnung bewahren (Vizza et al., 1995). In einigen älteren lichtmikroskopischen Studien wurde ein rein zirkulärer Verlauf der Kollagenfaserbündel in der WS beschrieben (Reynolds, 1952; Zawisch, 1955; Schoenberg et al., 1960). Mazerationsstudien von Vizza et al. (1996) lassen jedoch einen zirkulären Verlauf ausschließlich in Gefäßnähe erkennen, wobei dieser Bereich von einigen Autoren als Adventitia definiert wird (Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997; Nanaev et al., 1997). In der WS kommen hauptsächlich die Kollagentypen I, III und IV vor. Im Gegensatz zur Adventitia und den Nabelgefäßen, bei denen Kollagentyp I dominiert, besteht der größte Anteil des WS-Kollagens aus Typ III, gefolgt von Typ IV. Auch das Vorkommen von Kollagentyp V wird gelegentlich beschrieben (Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997; Franc et al., 1998).

Über das Vorkommen von elastischen Fasern in der WS wird kontrovers diskutiert. Laut Parry (1970) sind mit Orcein anfärbbare elastische Fasern in der WS vorhanden, die jedoch sehr fein und spärlich verteilt sind. In anderen Studien können keine elastischen Fasern,

jedoch ein neben dem Kollagengerüst bestehendes, unabhängiges Netzwerk aus Glykoproteinmikrofibrillen gefunden werden, welche die Funktion der fehlenden elastischen Fasern ersetzen sollen (Meyer et al., 1983; Franc et al., 1998).

In der Nabelschnur des Menschen befinden sich zwischen den Kollagenfasern Räume und Spalten, die zell- und faserfrei sind und nur von amorpher Grundsubstanz ausgefüllt werden (Nanaev et al., 1997). Sie werden weder durch epithelartig angeordnete Zellen noch durch eine kompakte „Kollagenfaserwand“ begrenzt, so dass sie nicht mit Blut- oder Lymphgefäßen verwechselt werden können. Diese Räume haben zentral kanalikulären, peripher eher kavernösen Charakter. Zusätzlich existieren um die Nabelgefäße weite perivaskuläre Räume, die einen Übergang zwischen WS und Adventitia markieren (Vizza et al., 1995; Vizza et al., 1996).

2.3.3. Amnionepithel

Über den ultrastrukturellen Aufbau des Amnionepithels liegen zahlreiche Beschreibungen bei verschiedenen Spezies vor. Es existieren unter anderem Arbeiten über das Amnionepithel des Menschen (Wynn und French, 1968; Hoyes 1969; Sinha, 1971; Hempel, 1972), der Ratte (Leeson und Leeson, 1965; Wynn und French, 1968), des Meerschweinchens (Wynn und French, 1968), der Katze (Tiedemann 1979b), des Schweines (Tiedemann, 1979a), des Schafes (Tiedemann, 1972), des Rindes (Tiedemann, 1982) und des Virginiahirsches (Sinha et al. 1970). Die Struktur des Amnionepithels ist bei den einzelnen Spezies sehr ähnlich. Die meisten Arbeiten beinhalten ausschließlich den strukturellen Aufbau der Epithelzellen des Amnions und nur wenige Autoren beschreiben den Amnionepithelüberzug des Nabelstrangs. Aus den Arbeiten wird jedoch ersichtlich, dass sich das Epithel des Amnions und des Nabelstrangs nur geringfügig voneinander unterscheiden (Leeson und Leeson, 1965; Hoyes, 1969; Tiedemann, 1972; Hempel, 1972). Die Ähnlichkeiten lassen sich auf ihren gemeinsamen Ursprung vom Ektoderm zurückführen. Aus diesem Grunde existieren auch Homologien zwischen der fetalen Haut und den mehrschichtigen Amnionepithelbereichen, da auch die Epidermis vom Ektoderm abstammt und der Amnionüberzug des Nabelstrangs direkt in die Epidermis des Fetus übergeht (Hoyes, 1969).

Prinzipiell muss zwischen einschichtigen und mehrschichtigen Bereichen des Amnionepithels unterschieden werden. Die genau begrenzten mehrschichtigen Areale werden als Warzen oder Plaques bezeichnet. Ihre Funktion ist unklar. Die Häufigkeit ihres Auftretens variiert bei den einzelnen Spezies sehr stark. In den meisten Säugetierarten werden sie als physiologisch angesehen (Amoroso, 1952). So sind sie beispielsweise beim Wiederkäuer sowohl auf dem

Amnion als auch auf dem Nabelepithel zahlreich vorhanden (Tiedemann, 1982). Die Plaques der Säugetiere erinnern makroskopisch an das Amnion nodosum des Menschen, welches oft im Zusammenhang mit pathologischen Prozessen beobachtet wird (Bourne und Lacy, 1960). Es darf jedoch nicht mit physiologisch vorkommenden amniotischen Metaplasien verwechselt werden, die in der Nabelschnurregion bei 60% der normalen Geburten gesehen werden (Benirschke und Kaufmann, 2000).

Die Amnionzelle des einschichtigen Epithels weist bei allen Spezies gemeinsame Charakteristika auf. Das zunächst flache Amnionepithel wird im Laufe der Trächtigkeit kubisch bis hochprismatisch (Sinha et al., 1971; Tiedemann, 1972). An der Zelloberfläche befinden sich zahlreiche Mikrovilli (Wynn und French, 1968; Tiedemann, 1972; Tiedemann, 1982). Beim Rind existieren zusätzlich korallenartige Zytoplasmafortsätze, die im Gegensatz zu den Mikrovilli Organellen, Glykogen und Filamente enthalten (Tiedemann, 1982). Auffällig sind laterale, fingerartig gefaltete Zytoplasmafortsätze, die mit zunehmendem Gestationsalter Mikrovilli tragen (Tiedemann, 1972; Tiedemann, 1982). Die lateralen Zytoplasmafortsätze nehmen miteinander Kontakt auf, wobei es zur Ausbildung zahlreicher Desmosomen kommt. Zwischen den Zellen befinden sich weite hohlraumartige Interzellularspalten, die durch die lateralen Zytoplasmafortsätze unterbrochen werden. Apikal kommen beim Menschen Schlussleisten in Form von Zonulae occludentes vor. Nach basal werden Fußfortsätze mit Hemidesmosomen zur darunterliegenden Basallamina ausgebildet. Im Laufe der Trächtigkeit steigt die Anzahl der lateralen Fortsätze, der Mikrovilli, der Desmosomen, der Hemidesmosomen und der Fußfortsätze kontinuierlich an und die Interzellularräume werden weiter (Wynn und French, 1968; Hoyes, 1969; Tiedemann, 1972; Hempel, 1972; Tiedemann, 1982). Der Organellengehalt der Amnionepithelzellen weist keine auffälligen Besonderheiten auf. Es wird das Vorkommen von Mitochondrien, von leicht dilatiertem rER und von Golgi-Komplexen beschrieben. Im Laufe der Trächtigkeit kommt es zu einer Zunahme der Mikropinocytosevesikel an der apikalen Zellmembran und zu einem Anstieg des Filamentgehalts auf Kosten der Organellen (Wynn und French, 1968; Hoyes, 1969; Sinha, 1970; Tiedemann, 1972; Tiedemann, 1982). Glykogen ist bei allen Spezies in den Amnionepithelzellen vorhanden, wobei tendenziell eine Zunahme des Glykogengehalts im Laufe der Entwicklung zu vermerken ist (Sinha, 1970; Hempel, 1972; Tiedemann, 1972; Tiedemann, 1982). Immer wieder wird das Vorkommen von hellen und dunklen Zellen im Amnionepithel beschrieben. Thomas (1965) erkennt dabei zwei Zelltypen, wobei er den hellen Golgi-Zelltyp mit ausgeprägten Golgi-Apparat und den dunklen Filamenttyp mit einer Vielzahl an Filamenten beschreibt. Eine derartige Unterscheidung in verschiedene Zelltypen

machen andere Autoren nicht, da es sich ihrer Meinung nach entweder um Fixierungsartefakte (Hoyes, 1969; Sinha et al., 1970; Tiedemann, 1972) oder um denselben Zelltyp mit unterschiedlichem physiologischem Status handelt (Wynn und French, 1968).

Die mehrschichtigen Plaques, die beim Hirsch und beim Menschen genau beschrieben wurden, sind amniotischen Ursprungs. Kleine Plaques entstehen durch mitotische Aktivität im einschichtigen Epithel. Durch weitere Teilungen in den Basalzellen der kleinen Plaques entstehen große Plaques, die über 25 Zellschichten aufweisen können (Sinha et al., 1970, Sinha, 1971). Die Warzen stellen also keine Anheftung von abgeschilferten fetalen Hautzellen dar, wie es für das Amnion nodosum des Menschen postuliert wird (Bourne und Lacy, 1960). Die Zellschichtung der größeren Plaques erinnert an den Aufbau der Epidermis. Von basal nach apikal können folgende Zellen beobachtet werden (Sinha et al., 1970; Sinha, 1971):

Stratum basale (1-2 Zellschichten)

Die kubischen Zellen besitzen einen runden Kern und sind sehr organellen- und filamentreich. Mitosefiguren sind häufig. Nach basal haben sie zahlreiche Fußprozesse mit Hemidesmosomen, die weit in das Bindegewebe hineinreichen.

Stratum spinosum (3-5 Zellschichten)

Die Zellen werden polygonal, wobei die Anzahl der Organellen abnimmt, die der Pinocytosevesikel jedoch zunimmt. Laterale Zellinterdigitationen werden tiefer und es entstehen zahlreiche Desmosomen.

Stratum granulosum (4-6 Zellschichten)

Die Kerne flachen ab und die Zellen werden organellenarm. In den Zellen befinden sich zahlreiche Keratohyalin granula sowie Tonofilamente und Glykogen. Die Anzahl der lateralen Zellprozesse und Desmosomen nimmt wieder ab.

Stratum corneum (3-10 Schichten)

Es sind keine Organellen mehr vorhanden. Der Gehalt an Keratohyalin granula, Glykogen und Tonofibrillen nimmt zu. Apikal verhornen die Zellen und schilfern ins Lumen ab.

Die Epithelzellen des Nabelstrangs entsprechen weitgehend in ihrem strukturellen Aufbau den Epithelzellen des restlichen Amnions. Beim Schaf (Tiedemann, 1972) und beim Menschen (Hempel, 1972) werden dennoch kleine Unterschiede beschrieben. Beim Schaf ist die Anzahl der Epithelwarzen im Nabelstrangepithel deutlich größer als im Amnionepithel selbst. Bei dicht stehenden Epithelwarzen stellt sich das dazwischen liegende Epithel mehrschichtig und verhornt dar. Die Basalzellen der Plaques sind kubisch bis hochprismatisch, während apikal platte Zellen aufliegen. Die Mikrovilli sind kürzer und plumper. Beim Schaf stellen sich die

Interzellularräume weiter, beim Mensch hingegen enger dar als im restlichen Amnion. Hemidesmosomen treten unter den Warzen sehr früh auf. Die Epithelzellen der mehrschichtigen Bereiche sind glykogenreicher, aber organellenärmer als die Epithelzellen des restlichen Nabelstrangs (Tiedemann, 1972). Im Epithel des Nabelstrangs wird im Gegensatz zum restlichen Amnionepithel eine Abnahme des Glykogengehalts im Laufe der Gestation beschrieben (Hempel, 1972).

2.4. Intermediärfilamente und kontraktile Proteine in der Nabelschnur

Das Zytoskelett einer Zelle besteht aus Mikrofilamenten (7 nm Durchmesser), Intermediärfilamenten (10 nm Durchmesser) und Mikrotubuli (25 nm Durchmesser). Es spielt unter anderem eine Rolle bei der Aufrechterhaltung der Zellform, bei Zellbewegungsvorgängen sowie bei Transport-, Teilungs- und Differenzierungsprozessen (Hees und Sinowatz, 1992). Zytoskelettproteine dienen auch als Differenzierungsmarker und können somit herangezogen werden, um die Herkunft einer Zelle zu bestimmen. Dies gilt sowohl für die Intermediärfilamente als auch für die verschiedenen Aktin-Isoformen (Franke et al., 1979a; Skalli et al., 1986; Schürch et al., 1987).

Intermediärfilamente stellen eine Gruppe zytoplasmatischer Filamente dar, die bezüglich ihrer Größe (10 nm Durchmesser) zwischen den Mikrotubuli (25 nm Durchmesser) und den Mikrofilamenten (7 nm Durchmesser) liegen. Innerhalb dieser Gruppe lassen sich 5 verschiedene Proteinklassen unterscheiden: Cytokeratin (CK), Vimentin, Desmin, Neurofilamente und Gliafilamente (Lazarides, 1980; Steinert et al., 1984). Anhand des Expressionsmuster der Intermediärfilamente lässt sich ein zelltypischer Differenzierungspfad ablesen. So wird Cytokeratin in Epithelzellen exprimiert, während Vimentin in Zellen mesenchymalen Ursprungs und Desmin in Zellen myogenen Ursprungs vorkommen (Lazarides, 1980; Gabbiani et al., 1981). Neurofilamente werden in peripheren und zentralen Nerven und Gliafilamente in Gliazellen gefunden (Van Muijen et al., 1987). Die strenge Beschränkung der einzelnen Intermediärfilamente auf spezielle Zelltypen wurde durch einige Studien allerdings in Frage gestellt. So wurde CK auch in mesenchymalen Zellen gefunden, beispielsweise im Mesenchym des Amniochorions (Khong et al., 1986) und in fetalen Gefäßmuskelzellen (Slomp et al., 1997; Johansson et al., 1999). In den fetalen Gefäßmuskelzellen wird die CK-Expression allerdings im Laufe des Differenzierungsprozesses zugunsten kontraktiler Proteine (Aktin, Myosin) herab reguliert (Slomp et al., 1997). Das Vorkommen von CK-negativen und Vimentin-positiven Epithelien

ist ebenfalls möglich, wobei Endothelzellen von Säugetieren zu dieser Gruppe gehören (Franke et al., 1979b). Des Weiteren wird die Coexpression von verschiedenen Intermediärfilamenten beschrieben. CK und Vimentin treten gemeinsam in fetalen Nierentubuli des Menschen und im parietalen Mausentoderm auf (Franke et al., 1978; Lane et al., 1983; Czernobilsky et al., 1985). Vimentin und Desmin werden gleichzeitig in fetalen Nierenmarkszellen exprimiert (Schmidt et al., 1982).

Aktin, das zu den Mikrofilamenten gehört, und Myosin stellen kontraktile Proteine dar. In Muskelzellen sind die Aktin- und Myosinfilamente derartig angeordnet, dass ihr Ineinandergleiten eine Kontraktion verursacht. In den Geweben von Säugetieren können insgesamt sechs verschiedene Aktin-Isoformen unterschieden werden. Dabei kommen vier muskuläre α -Aktin-Isoformen (α -skeletal-actin im Skelettmuskel, α -cardiac-actin im Herzmuskel, α -smooth-muscle-actin und γ -smooth-muscle-actin in glatten Muskelzellen) und zwei nicht-muskuläre, zytoplasmatische Aktin-Isoformen (β - und γ cytoplasmic-actin) vor (Vandekerckhove und Weber, 1978; Vandekerckhove und Weber, 1981).

Obwohl die einzelnen Zellarten ein typisches Expressionsmuster von kontraktile Proteinen und Intermediärfilamenten aufweisen, kommt es dennoch gelegentlich innerhalb einer Zellart, z.B. in den glatten Muskelzellen, zu Unterschieden im Zytoskelett. Während in Gefäßmuskelzellen Vimentin und α -Aktin dominieren, kommen in anderen glatten Muskelzellen des Körpers hauptsächlich Desmin und γ -Aktin vor (Gabbiani et al., 1981). Aber auch die Gefäßmuskelzellen stellen keine homogene Gruppe dar. Sie unterscheiden sich je nach Lokalisation und Entwicklungsstadium. Ob die Heterogenität innerhalb der glatten Muskelzellen ein Hinweis auf den unterschiedlichen embryologischen Ursprung gibt oder ob sie Ausdruck verschiedener Funktionen ist, konnte noch nicht vollständig geklärt werden (Johansson et al., 1999). Weiterhin existieren hinsichtlich einiger Zellarten kontroverse Meinungen über die Expression von Zytoskelettproteinen. Als Beispiel sei hier der Myofibroblast erwähnt, der sowohl Desmin-positiv (Kohnen et al., 1995) als auch Desmin-negativ (Schürch et al., 1984) beschrieben wird.

Immunhistologische Untersuchungen über das Vorkommen und die Verteilung von Intermediärfilamenten und kontraktile Proteinen in der Nabelschnur stammen hauptsächlich aus dem humanmedizinischen Bereich. Literaturstellen über derartige Studien beim Rind konnten nicht gefunden werden.

2.4.1. Nabelgefäße

Die Muskelzellen der Nabelgefäße des Menschen sind ausnahmslos Vimentin-positiv (Nanaev et al., 1991). Bezüglich der Desminexpression herrscht keine einheitliche Ansicht. Einige Autoren konnten Desmin nur in den mittleren und äußeren Schichten der Nabelgefäße nachweisen, während die inneren Mediaschichten Desmin-negativ waren (Bader et al., 1988; Nanaev et al., 1991; Johansson et al., 1999). Van Muijen und Mitarbeiter (1987) hingegen befanden alle glatten Muskelzellen der Nabelgefäße für Desmin-positiv. Eine Besonderheit stellt die CK-Expression in den Muskelzellen der menschlichen Nabelgefäße dar. Es werden allerdings nur Cytokeratine vom einfachen Epitheltyp und auch nur in geringem Ausmaß exprimiert (Van Muijen et al., 1987; Bader et al., 1988; Kasper et al., 1988; Slomp et al., 1997). In den Gefäßmuskelzellen der Nabelgefäße ist folglich eine ungewöhnliche „Trippelexpression“ von Vimentin, Desmin und Cytokeratin zu beobachten (Van Muijen et al., 1987, Kasper et al., 1988; Bader et al., 1988). Die Endothelzellen der Nabelgefäße sind Vimentin-positiv, exprimieren aber kein Desmin oder CK (Kasper et al., 1988; Nanaev et al., 1991).

In den Gefäßmuskelzellen der Nabelgefäße wird ausnahmslos α -smooth-muscle-Aktin (α SMA) und Muskel-Myosin exprimiert. Nicht-muskuläre Myosin-Isoformen, wie sie in anderen fetalen Gefäßen vorkommen, konnten nicht nachgewiesen werden (Bader et al., 1988; Takechi et al., 1993; Johansson et al., 1999). Die Nabelgefäße nehmen folglich bezüglich ihres Gehalts an kontraktilen Proteinen eine Zwischenstellung zwischen fetalen und adulten Gefäßen ein. Adulte Gefäßmuskelzellen sind vom „kontraktilen Phänotyp“, wobei α SMA und ausschließlich muskuläre Myosin-Isoformen exprimiert werden. Diese Muskelzellen sind zur starken Kontraktion befähigt. In systemischen fetalen Gefäßen ist bis zur Geburt ein unreifer „synthetisierender Phänotyp“ mit deutlich weniger kontraktilen Proteinen und nicht-muskulären Myosin-Isoformen vorhanden. Der synthetisierende Typ ist zur Replikation und Synthese befähigt, wobei die Kontraktionskraft eher schwach ausfällt (Owens, 1995; Arens et al., 1998). Die Nabelgefäße des Menschen ähneln eher dem adulten, kontraktilen Gefäßtyp, weil sie verglichen mit anderen fetalen Gefäßen dreimal mehr Aktin und muskuläre Myosin-Isoformen, jedoch keine nicht-muskulären Myosin-Isoformen besitzen (Arens et al., 1998). Das zum Geburtszeitpunkt bestehende Proteinmuster spricht für hochdifferenzierte Nabelgefäße, die eine frühzeitige Reifung vollzogen haben (Cavaillé et al., 1995).

2.4.2. Wharton Sulze

Wie bereits aus dem Kapitel „2.3.2. Mikroskopischer Aufbau der Wharton Sulze“ ersichtlich ist, herrscht keine einheitliche Auffassung über die genaue Charakterisierung der Wharton Sulze-Zellen (WSZ). Ultrastrukturell werden Fibroblasten, Myofibroblasten und glatte Muskelzellen beschrieben. Einige Autoren versuchten mittels immunhistologischer Studien die WSZ genauer zu charakterisieren. Allerdings ist dies mit Schwierigkeiten verbunden, da die genaue Abgrenzung und Definition einiger Zellarten auch durch ihr Zytoskelett nicht einheitlich ist. So werden beispielsweise Myofibroblasten als Desmin-negativ oder Desmin-positiv beschrieben.

In der Studie von Nanaev und Mitarbeitern (1997) kann die WS der Nabelschnur des Menschen zu frühen Gestationsstadien aufgrund der unterschiedlichen ultrastrukturellen Struktur und des unterschiedlichen Zytoskeletts der Zellen in eine periphere subamniotische Zone, in einen zentralen WS-Bereich und in die Gefäßadventitia unterteilt werden. Die entsprechenden ultrastrukturellen Merkmale der verschiedenen WSZ spiegeln sich dabei im Expressionsmuster ihrer Zytoskelettproteine wider. In unreifen Nabelschnüren des Menschen haben die Zellen der subamniotischen Zone das Aussehen von Myofibroblasten und exprimieren Vimentin, Desmin und α SMA. In den restlichen WSZ, die ultrastrukturell Fibroblasten entsprechen, ist zu diesen frühen Stadien lediglich Vimentin nachweisbar. Erst später kommt es zusätzlich zu einer α SMA-Expression. Die Adventitiazellen weisen ähnlich zu Gefäßmuskelzellen ein sehr komplexes Zytoskelett auf, da sie beim Nachweis von Vimentin, Desmin, α SMA, γ -smooth-muscle-Aktin und nicht-muskulären Myosin-Isoformen positiv reagieren. Im Laufe der Schwangerschaft schreitet die Differenzierung der Zellen weiter fort, so dass in der geburtsreifen Nabelschnur auch die zentral gelegenen Zellen wie die subamniotischen Zellen Vimentin, Desmin, α SMA und γ -smooth-muscle-Aktin exprimieren und somit eher den Myofibroblasten zugeordnet werden können (Nanaev et al., 1997). Eine genaue Abgrenzung zwischen Fibroblast, Myofibroblast und glatten Muskelzellen ist dennoch nicht möglich, da auch Übergangsformen existieren können (Kohnen et al., 1996). Kobayashi et al. (1998) beschreiben ebenfalls eine Reifung der WSZ, da sie erst im zweiten Trimester eine Expression von α -smooth-muscle-Aktin zeigen. Eyden und Kollegen (1994) ordnen die WSZ auf Grund ihrer Desminexpression den glatten Muskelzellen und nicht den Myofibroblasten zu. Ihrer Meinung nach kommt es nur in pathologisch proliferierenden Myofibroblasten zur Desminexpression. Diese Aussage ist kontrovers zu der von Kohnen (1996), der eine Desminexpression in Fibroblasten beschreibt.

In einigen WSZ lässt sich Cytokeratin nachweisen, so dass die in den Nabelgefäßen beschriebene ungewöhnliche „Tripplexexpression“ von Vimentin, Desmin und Cytokeratin auch in der Wharton Sulze auftritt (Van Muijen et al., 1987; Kasper et al., 1988; Nanaev et al., 1997).

2.4.3. Amnionepithel

Immunhistologische Studien liefern übereinstimmende Ergebnisse für das Amnionepithel des menschlichen Fetus. Das Amnionepithel exprimiert verschiedene Cytokeratine, wobei in einer Subpopulation von Epithelzellen zusätzlich Vimentin vorhanden ist. Desmin, α SMA oder Myosin-Isoformen können nicht nachgewiesen werden (Khong et al., 1986; Kasper et al., 1988; Kobayashi et al., 1998). Einschichtige und mehrschichtige Amnionepithelstellen weisen größtenteils dasselbe Zytoskelett auf, wobei in mehrschichtigen Bereichen noch zusätzliche Cytokeratine gefunden werden können. Diese Cytokeratine lassen sich auch in vollständig differenzierten Epidermiszellen nachweisen. Dies deutet wiederum auf die Verwandtschaft zwischen mehrschichtigen amniotischen Plaques und der fetalen Epidermis hin (Regauer et al., 1985).

2.5. Zuckerstrukturen in der Nabelschnur

2.5.1. Glykogen

Glykogen ist das wichtigste Speicherpolysaccharid in tierischen Zellen und stellt die energiereiche Speicherform der Glukose dar (Lehninger et al., 1994).

In der Nabelschnur finden sich stellenweise große Mengen an Glykogen (Mvumbi et al., 1996). Mittels biochemischer Analyseverfahren konnte folgendes Verteilungsmuster in postnatal gewonnenen Nabelsträngen des menschlichen Fetus gefunden werden: Die mittlere Nabelschnur-Region weist die größte Menge an Glykogen auf, gefolgt von dem distalen, plazentanahen Abschnitt. Der fetusnahe, proximale Teil enthält post partum die geringste Menge an Glykogen. Die mit der PAS-Färbung dargestellten Glykogengranula befinden sich dabei hauptsächlich im Zytoplasma der glatten Muskelzellen der Nabelgefäße und nur vereinzelt in den Zellen der WS (Mvumbi et al., 1996). Dieses Ergebnis wurde mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen bestätigt. Zahlreiche Glykogengranula sind in den Endothelzellen und in den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße enthalten, wobei die Nabelarterien glykogenreicher erscheinen als die Nabelvenen (Parry und Abramovich, 1972; Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Eine Zunahme (Sexton et al., 1996) oder

eine Abnahme (Parry und Abramovich, 1972) des Glykogengehalts der glatten Muskelzellen im Laufe der Schwangerschaft wird kontrovers diskutiert. Verglichen mit den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße kommt in den Myofibroblasten der WS deutlich weniger Glykogen vor (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996; Mvumbi et al., 1996). Die Amnionepithelzellen des Nabelstrangs sind bei allen Spezies stark glykogenhaltig, wobei der Gehalt im Laufe der Trächtigkeit noch ansteigt. Die Epithelzellen der mehrschichtigen Bereiche sind tendenziell glykogenreicher als die der einschichtigen Bereiche (Sinha et al., 1970; Hempel, 1972; Tiedemann, 1972; Tiedemann, 1982).

2.5.2. Glykosaminoglykane

Die extrazelluläre Matrix (EZM) eines Gewebes besteht aus verschiedenen Kollagenen, Ankerproteinen (Laminin, Fibronectin) und Heteropolysacchariden. Die Heteropolysaccharide werden als Glykosaminoglykane (GAG) bezeichnet, da sie acetylierte Aminogruppen enthalten. Zu den GAG zählen sulfatierte GAG (z.B. Chondroitinsulfat, Heparansulfat oder Keratansulfat) und Hyaluronsäure (HA) (Lehninger et al., 1994). Die Hyaluronsäure stellt ein sehr wichtiges GAG dar. Sie wird häufig in embryonalen Geweben gefunden, da sie regulativ auf Zellmigrations- und Zelldifferenzierungsprozesse einwirken kann (Toole, 1982). Zusammen mit anderen GAG bestimmt sie die Struktur und Permeabilitätseigenschaften eines Bindegewebes und fungiert als Bindungsprotein für zellspezifische Wachstumsfaktoren und Enzyme in der EZM (Jackson et al., 1991). GAG bilden die Hauptkomponenten der extrazellulären Matrix der Nabelschnur. In der Nabelschnur des Menschen existieren 19,8 mg GAG pro Gramm Trockengewicht. Das am häufigsten vorkommende GAG ist dabei die HA, wobei sie besonders in der WS nachweisbar ist. Sulfatierte GAG, die in der Nabelschnur in geringeren Mengen als HA vorliegen, befinden sich dagegen vermehrt in den Nabelgefäßen (Catini und Gheri, 1983). Über das Vorkommen von Heparin herrscht keine einheitliche Auffassung. Einige Autoren beschreiben das Vorkommen von Heparin in minimalen Mengen (Sobolewski et al., 1997), während anderen ein Nachweis nicht gelingt (Catini und Gheri, 1983). Die richtige biochemische Zusammensetzung der EZM ist für die normale Morphologie und Funktion der Nabelschnur essentiell. Einige pathologische Prozesse gehen mit einer Veränderung der EZM-Zusammensetzung in der Nabelschnur einher. Bei der Schwangerschaftsgestose der Frau beispielsweise kann neben einer Zunahme des Kollagenfasergehalts, ein Abfall des HA- sowie ein Anstieg des sulfatierten GAG-Gehalts beobachtet werden. Der Ersatz der HA durch sulfatierte GAG stellt eigentlich ein häufiges

Prinzip in der embryonalen und fetalen Entwicklung dar. Bei der Schwangerschaftsgestose findet dieser Vorgang in der Nabelschnur verglichen mit normal verlaufenden Schwangerschaften jedoch sehr früh in der Entwicklung statt, so dass die genannten biochemischen Veränderungen in der Nabelschnur bei der Schwangerschaftsgestose als frühzeitige „Alterungsprozesse“ gedeutet werden können (Bankowski et al., 1996).

2.5.3. Lektine

Lektine werden definiert als zuckerbindende Proteine ohne enzymatische Aktivität, die keine Homologie zu Antikörpern aufweisen (Gabius und Gabius, 1992; Rüdiger und Gabius, 2001). Nach neueren Erkenntnissen werden auch Rezeptoren freier Mono- und Disaccharide, die dem Transport oder der Chemotaxis dienen, definitionsgemäß von den Lektinen ausgeschlossen (Gabius et al., 2002). Erste Beschreibungen der Lektine gehen auf H. Stillmark (1888) zurück. Er beobachtete, dass wässrige Extrakte aus dem Samen der Rizinuspflanze eine Agglutination von Erythrozyten hervorrufen. Die Lektine erhielten (nach lateinisch *legere* = auswählen) ihren Namen 1954 durch William Boyd aufgrund ihrer Fähigkeit, verschiedene Blutgruppenantigene zu unterscheiden, also „auszuwählen“ (Boyd und Shapleigh, 1954). Die Agglutination von Zellen ist möglich, da Lektine aus mehreren zuckerbindenden Untereinheiten aufgebaut sind (Lis und Sharon, 1986; Sharon und Lis, 2004). Zunächst wurden Lektine nur aus Pflanzen, später auch aus Viren, Bakterien, Pilzen und tierischen Geweben isoliert (Ashwell und Morell, 1974; Gabius, 1997; Gabius et al., 2002; Loris, 2002). Aufgrund ihrer spezifischen Bindung an Kohlenhydrate werden Lektine zur Identifizierung von Zuckerstrukturen auf der Zelloberfläche verwendet (Gabius et al., 1988). Dadurch finden sie in der Histologie, in der Biochemie und im zunehmenden Maße auch in der Medizin bei diagnostischen Verfahren Anwendung. Die Lektin histochemie hat sich zu einer wertvollen Methode entwickelt, die eine genaue Studie verschiedener Aspekte der Zelldifferenzierung, der Zellwanderung sowie der Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktion ermöglicht (Ertl und Wrobel, 1992; Gabius et al., 2002).

Über Lektinbindungsstellen speziell im Nabelschnurgewebe ist nur sehr wenig bekannt. Eine genaue Studie über die Bindung der Lektine Con A, WGA, PNA, SBA, DBA, LTA und UEA I an der Nabelschnur des Menschen liegt von Sgambati und Mitarbeitern (2003) vor. Dabei reagieren Con A, WGA, PNA, LTA und UEA I mit der WS (Fasern und Zellen), mit den Gefäßen (Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Fasern) sowie mit den Amnionepithelzellen. Eine positive SBA-Reaktion kann nur in Amnionepithelzellen und in den Endothelzellen der Nabelgefäße nachgewiesen werden. Die Nabelschnur besitzt keine

Bindungsstellen für DBA. Die einzelnen Zellen der Nabelschnur binden dabei die eingesetzten Lektine nicht einheitlich, so dass innerhalb der Zelle mehrere Bindungsregionen, nämlich die Zelloberfläche, der apikale Bereich, der perinukleäre Bereich und das Zytoplasma selbst unterschieden werden müssen. Weiterhin variiert die Stärke der Reaktionen beträchtlich. Con A, WGA, PNA, LTA und UEA I zeigen in der WS eine stärkere Reaktion als in der Adventitia. Con A und UEA I reagieren verglichen mit den Nabelarterien in den Nabelvenen stärker. Auffällig ist die Abschwächung (WGA, SBA, LTA, UEA I) beziehungsweise das Verschwinden (PNA) der Reaktion gegen Ende der Schwangerschaft (39.- 41. Woche) (Sgambati et al., 2003).

2.6. Metabolische Aktivität und Syntheseleistungen der Nabelschnur

Die Nabelschnur wurde lange Zeit nur als blutführendes Rohr angesehen. Die ultrastrukturelle Aufklärung der Nabelschnur des Menschen lieferte jedoch zahlreiche Hinweise auf die metabolische Aktivität dieses Gewebes (Sexton et al., 1996). Der hohe Organellengehalt sowie besonders das in den Endothelzellen, Gefäßmuskelzellen und WSZ stark dilatierte ER sprechen für eine hohe Proteinsynthese (Parry und Abramovich, 1972; Gebrane-Younes et al., 1986; Takechi et al., 1993). Die zahlreichen Pinocytosevesikel der Muskel- und Amnionepithelzellen, die langen Zytoplasmafortsätze der Endothelzellen der Nabelvene sowie der starke Besatz des Amnionepithels mit Mikrovilli erleichtern einen Stofftransport durch die gesamte Nabelschnur des Menschen (Hoyes, 1969; Sinha, 1970; Gebrane-Younes et al., 1986). Neben der Produktion der extrazellulären Matrix (z.B. Kollagen) der Nabelschnur (Takechi et al., 1993), werden noch zahlreiche weitere Substanzen im Nabelstranggewebe synthetisiert, zu denen beispielsweise Steroidhormone und Eicosanoide gehören.

Das Nabelgewebe besitzt die enzymatische Fähigkeit, Cholesterin de novo aus Acetat zu synthetisieren und es weiterhin zu Pregnenolon zu metabolisieren (Loganath et al., 1990; Gunasegaram et al., 1990). Pregnenolon stellt ein Ausgangsprodukt für die Steroidhormonsynthese dar. In Nabelschnurhomogenisaten des Menschen konnte eine hohe Aktivität von Schlüsselenzymen nachgewiesen werden, welche die Transformation von Pregnenolon zu Progesteron katalysieren. (Gunasegaram et al., 1991). Weiterhin wurden Enzymsysteme detektiert, die die Umwandlung von Pregnenolon zu Dehydroepiandrosteron, das schließlich zu Testosteron metabolisiert wird, bewirken. Testosteron ist für die Aromatisierung von Östrogen bedeutungsvoll (Gunasegaram et al., 1991; Loganath et al.,

1992). Steroiddehydrogenaseaktivität wurde in Amnionepithelzellen, in WSZ und in den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße beschrieben (Benedetti et al., 1973). Die Fähigkeit zur Steroidhormonsynthese wurde lange Zeit nur den Zellen der Nebenniere, der Gonaden und der Plazenta zugesprochen. Durch den Nachweis entsprechender Enzymsysteme und Metabolite muss jedoch auch die Nabelschnur des Menschen als Syntheseort von Steroidhormonen angesehen werden (Gunasegaram et al., 1991).

Eicosanoide sind autokrin oder parakrin wirkende biologische Signalmoleküle. Sie können von vielen Zellen aus Arachidonsäure, einem Bestandteil der Plasmamembran, gebildet werden. Sie stellen eine große Gruppe von Mediatoren unterschiedlicher Wirkungen dar. Dazu zählt die Kontrolle über die Kontraktion glatter Muskelzellen (Uterus, Blutgefäße), die Regulation der Hormonausschüttung, die Beeinflussung des Knochenstoffwechsels und des Immunsystems sowie die Steuerung der Zellwanderung und -aggregation. Weiterhin sind sie am Entzündungsgeschehen und an der Schmerzwahrnehmung beteiligt. Zu den Eicosanoiden zählen Prostaglandine, Prostacycline, Thromboxane und Leukotriene (Lehninger et al., 1994). Im Nabelschnurgewebe des Menschen konnte die Synthese von verschiedenen Eicosanoiden nachgewiesen werden. In den Nabelgefäßen werden Thromboxan (Tuvemo und Wide 1973; Tuvemo, 1980; Mäkilä et al., 1983; Mück et al., 1992) und Prostaglandine synthetisiert (Mäkilä et al., 1982; Siegel et al., 1987; Mück et al., 1992) synthetisiert. Die Synthese findet sowohl in den Endothelzellen als auch in den Myozyten der Nabelgefäße statt (Bjoro et al., 1986; Templeton et al., 1993). Einige Autoren erkennen zwischen Nabelarterie und Nabelvene keinen Unterschied in der Produktionsmenge (Terragno et al., 1980; Mäkila et al., 1983), andere schreiben der Nabelvene eine höhere Produktionsrate zu (Mück et al., 1992). Das Amnionepithel der Nabelschnur produziert große Mengen an PGE₂ und stellt dabei die Hauptquelle für das in der Amnionflüssigkeit vorhandene PGE₂ dar (McCoshen et al., 1989). Neuere Untersuchungen vermuten auch eine Beteiligung der Myofibroblasten des Amnionmesenchyms an der Prostaglandinsynthese, da diese Zellen eine Cyclooxygenase 2 - Aktivität aufweisen und dieses Enzym einen wichtigen Schritt in der Prostaglandinsynthese katalysiert (McParland et al., 2000).

Neben den für die Steroidhormon- und Eicosanoidsynthese nötigen Enzymsystemen können in der Nabelschnur eine Vielzahl weiterer enzymatischer Aktivitäten und ihre Produkte nachgewiesen werden. So wurde in den Endothelzellen der Nabelgefäße eine hohe Aktivität von NOS (Nitric-Oxid-Synthase) festgestellt. NOS ist an der Konversion von L-Arginin zu

Citrullin beteiligt, wobei der gefäßwirksame „endothelium-derived-relaxing factor“ EDRF (=NO) entsteht (Myatt et al., 1993).

Die Synthese des atrialen natriuretischen Peptids (ANP) in den Endothelzellen der menschlichen Nabelgefäße konnte durch den Nachweis der entsprechenden mRNA gezeigt werden (Cai et al., 1993c).

Leptin wird in einigen Geweben, besonders aber in weißen Fettzellen produziert. Meist weisen die leptinproduzierenden Zellen auch den entsprechenden Rezeptor auf (Harris, 2000). In der Nabelschnur des Menschen konnte die Expression von Leptin und seiner langen Rezeptorform, die klassische energieregulierende Effekte vermittelt, in den Endothelzellen und glatten Muskelzellen der Nabelgefäße sowie in WSZ und Amnionepithelzellen nachgewiesen werden. Insgesamt sind Leptin und seine Rezeptoren im Nabelgewebe genauso zahlreich wie im Fettgewebe enthalten (Akerman et al., 2002).

Insulin-like growth factor (IGF) stellt einen wichtigen Faktor für Wachstum, Proliferation und Differenzierung dar (Sara und Hall, 1990). Er stimuliert die Bildung von Kollagen und sulphatierten GAG (Moran et al., 1991; Feld et al., 1995). IGF ist meistens an IGF-bindende Proteine (IGF-BPs) gebunden, die somit einen wichtigen Regulator für die Aktivität von IGF darstellen (Clemmons, 1997). In der WS konnten große Mengen von IGF und BPs nachgewiesen werden. Dabei könnte das dort gespeicherte IGF die verhältnismäßig wenigen WSZ zur Produktion von Kollagen und sulfatierten GAG stimulieren. Weiterhin kann es eine Rolle bei der Schwangerschaftsgestose spielen, bei der es zu einer vermehrten Bildung von Kollagen und sulfatierten GAG kommt (Palka et al., 2000).

In der Nabelschnur befinden sich zahlreiche weitere Enzyme und Rezeptoren, deren biologische Funktion in der Nabelschnur noch nicht vollständig geklärt werden konnte. So werden beispielsweise von den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße, von den Amnionepithelzellen sowie von den WS-Zellen hCG-Rezeptoren exprimiert, die markiertes hCG binden können. Die genaue Bedeutung dieser Rezeptoren in der Nabelschnur ist noch nicht vollständig geklärt. Sie scheinen jedoch eine Rolle in der Eicosanoidsynthese zu spielen, weshalb hCG indirekt an der Tonusregulation der Nabelgefäße beteiligt sein könnte (Rao et al., 1993; Wasowicz et al., 1999).

2.7. Die Regulation des umbilikalen Blutflusses

Die Aufrechterhaltung des ungestörten fetoplazentaren Blutflusses in utero ist eine Grundvoraussetzung für die normale Entwicklung des Fetus. Weiterhin ist der rasche postpartale Kompletverschluss der Nabelarterie essentiell, um ein Verbluten des Neugeborenen zu verhindern.

Normalerweise sind die Blutgefäße des Körpers innerviert, so dass die Regulation der Lumenweite und des Gefäßtonus und somit auch die Regulation des Blutflusses neural gesteuert wird. Die extrakorporalen Nabelgefäße stellen diesbezüglich eine Ausnahme dar, da bisher keine Innervation nachgewiesen werden konnte. Zahlreiche Studien beschäftigen sich deshalb damit, durch welche Faktoren und Mechanismen der Blutfluss und der postpartale Gefäßschluss beeinflusst werden.

2.7.1. Fehlende Innervation der Nabelgefäße

Zur Klärung der Frage, ob sich in der Nabelschnur und deren Gefäße Nerven befinden, wurden zahlreiche Studien an verschiedenen Spezies durchgeführt. Trotz Anwendung verschiedener Techniken konnten bei den meisten Spezies (Mensch, Meerschweinchen, Kaninchen, Maus, Affe) keine neuralen Strukturen in der Nabelschnur nachgewiesen werden (Shordania, 1929; von Euler, 1938; Spivack, 1943; Somlyo et al., 1965; Ehinger et al., 1968; Boyd und Hamilton, 1970; Hülsemann, 1971; Lachenmeyer, 1971; Walker et al., 1971; Roach, 1987; Reilly und Russel, 1977; Fox und Khong, 1990; Sexton et al., 1996). Dies gilt jedoch nicht für den intraabdominalen Abschnitt der Nabelgefäße, da dort sowohl in der Nabelarterie als auch in der Nabelvene nicht-myelinisierte Nervenfasern vorkommen (Spivack, 1943; Ehinger et al., 1968; Hülsemann, 1971; Lachenmeyer, 1971; Reilly und Russel, 1977).

Über die fehlende nervale Innervation des externen Anteils bei den genannten Spezies herrscht heute weitgehend Einigkeit. Dennoch existieren einige Arbeiten, die das Vorhandensein von Nervenfasern in der Nabelschnur postulieren (Ten Berge, 1963; Jacobson und Chapler, 1967; Fox und Jacobson, 1969). So wurden ein nervales Fasernetzwerk um die Gefäße und in der WS sowie ein subamniotischer Nervenplexus beschrieben (Fox und Jacobson, 1969). Weiterhin gelang der Nachweis Acetylcholinesterase-positiver Nervenendigungen in den ersten proximalen 15 cm der Nabelschnur des Menschen, die zum Geburtszeitpunkt jedoch starke Degenerationserscheinungen aufwiesen. Damit dürften sie beim postpartalen Gefäßschluss eine sehr geringe Rolle spielen (Ellison, 1971). Das Vorhandensein von Nervenfasern im proximalen Teil der Nabelschnur (10 cm) wird auch

schon von Zaitev (1959) beschrieben. Nadkarni (1970) entdeckte in einer elektronenmikroskopischen Studie myelinisierte Nervenfasern in den glatten Muskelzellen der Nabelarterie. Seine Ergebnisse wurden jedoch von anderen Autoren als Fehlinterpretation aufgefasst, wobei es sich ihrer Meinung nach um „myelin figures“ handelt, die im Zytoplasma von Gefäßmuskelzellen vorkommen können (Hülsemann, 1971).

Eine Ausnahme stellt die Nabelschnur der Ratte dar, bei der ein Nervenplexus in der gesamten Nabelschnur existiert (Ellison, 1971; Jutte et al., 1977).

Da die extrakorporalen Anteile der Nabelgefäße nicht innerviert sind, muss der Gefäßtonus durch andere Faktoren reguliert werden. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Anordnung der Muskelzellen in der Gefäßwand. Von besonderer Bedeutung sind in diesem Zusammenhang auch vasoaktive Substanzen, die entweder über die Zirkulation zu den Nabelgefäßen gelangen oder lokal in den Nabelgefäßen synthetisiert und freigesetzt werden. Weiterhin können physikalische und mechanische Faktoren (z.B. Sauerstoff, Temperatur, Fruchtbewegungen) sowie intrinsische myogene Mechanismen (myogener Baylissreflex) eine Tonusänderung in den Nabelgefäßen bewirken.

2.7.2. Die funktionelle Bedeutung der Wandstruktur der Nabelgefäße

Der Aufbau der Muskelwand der Nabelgefäße wurde im Kapitel 2.3.1 „Mikroskopischer Aufbau der Nabelgefäße“ beschrieben. Dabei wurde ersichtlich, dass die Meinungen über die genaue Anordnung der Muskelzellen divergieren. Dem Wandaufbau der Gefäße wird aber einheitlich eine adaptive funktionelle Bedeutung in der Regulation der Lumenweite zugesprochen.

Von Hayek (1935) zeigt, dass mit der von ihm postulierten schneckenförmigen Anordnung der Muskelzellen eine sehr starke Lumenverengung (bis hin zum Verschluss) durch eine relativ geringe Faserverkürzung möglich ist. Im Falle eines rein zirkulären Verlaufs würde eine entsprechende Muskelfaserverkürzung nur eine geringgradige Lumenverengung verursachen, wobei ein Kompletverschluss außerhalb des physiologisch möglichen Bereichs liegen würde (v. Hayek, 1935). Neben dem lumenverengenden Kontraktionseffekt bei flachen („zirkulären“) Schneckenförmigen, tritt bei Steilstellung der schneckenförmigen Muskelzellen („längsorientiert“) im Falle der Kontraktion eine Lumenerweiterung ein. Ein und dasselbe muskuläre Gefäßwandssystem kann somit erweiternd und verengend auf das Lumen wirken (Gänshirt, 1949; Goerttler, 1951).

Meyer und Mitarbeiter (1978) beschreiben in der Nabelarterie peripher eine Ringmuskelschicht und zentral undifferenzierte Mesenchymzellen. Ihrer Meinung nach

basiert der Nabelgefäßverschluss auf der lokalen Kontraktion der zirkulären Muskelschicht, wobei die inneren, nicht kontraktionsfähigen Zellschichten als „füllende, plastische Masse“ in das Lumen gedrückt werden und somit indirekt zum Gefäßschluss beitragen (Meyer et al., 1978).

Den bisher nur beim Menschen beschriebenen, viel umstrittenen Hobokschen Klappen wird eine maßgebliche Beteiligung am postpartalen Verschluss der Arteria umbilicalis zugeschrieben. Ihr genauer mikroskopischer Aufbau und ihre funktionelle Bedeutung werden jedoch kontrovers diskutiert. Für viele Autoren stellen sie lokalisierte Kontraktionsstellen dar, die als Ausgangspunkte für einen Komplettverschluss der Nabelarterie dienen (Shordania, 1929; Reynolds, 1952; Scharl, 1986). Dabei kann auf die Hobokschen Klappen die Burton-Theorie angewendet werden, die besagt, dass die Weite des Gefäßlumens gleich bleibt, solange sich die kontrahierend wirkende Wandspannung und der dilatativ wirkende transmurale Blutdruck im Gleichgewicht befinden. Zum Gefäßschluss kommt es, wenn entweder die Wandspannung (Kontraktionskraft) den transmuralen Druck übersteigt oder der transmurale Blutdruck abfällt (Burton, 1968). Die zirkulären, lokalen Kontraktionen in der Nabelarterie führen nicht nur zu einer Erhöhung der Wandspannung sondern erniedrigen auch den Blutfluss und somit den Blutdruck. Die Gefäßwandspannung übersteigt dadurch den transmuralen Blutdruck. Aus diesen Gegebenheiten resultiert der Gefäßschluss der Nabelarterie (Meyer et al., 1978). Auch myogene intrinsische Reflexe (Bayliss-Reflex) spielen bei der Kontraktion der Nabelarterien eine Rolle. Der Bayliss-Reflex stellt die autoregulatorische Kontraktion einer glatten Gefäßmuskelzelle als Antwort auf eine Dehnung dar (Bayliss, 1902). Da die Nabelarterien jedoch nicht innerviert sind, muss die Kontraktion von den glatten Muskelzellen selbst ausgehen. Als Besonderheit bei den Nabelgefäßen bemerkten Davignon und seine Mitarbeiter eine weitere Kontraktion einer bereits vorkontrahierten Nabelarterie infolge mechanischer Stresseinwirkung. Im Gegensatz dazu trat in solch einem Fall bei anderen vorkontrahierten Arterien eine Relaxation ein (Davignon et al., 1965).

2.7.3. Vasoaktive Substanzen

Es existiert eine große Anzahl vasoaktiver Substanzen, die auf Gefäße einen konstriktorischen oder dilatativen Effekt ausüben. Da die Nabelgefäße nicht innerviert sind, dürften diese Agentien bei der Regulation des umbilikalen Blutflusses eine besonders große Rolle spielen. In zahlreichen Studien wurde der Effekt einiger Substanzen auf den Tonus der Nabelgefäße überprüft. Dabei ist zu beachten, dass die Antwort auf die untersuchten Substanzen

tierartige Unterschiede aufwies. Weiterhin unterschieden sich die Reaktionen der einzelnen fetoplazentaren Gefäße, so dass eine Substanz einen unterschiedlichen Effekt auf Nabelarterie und Nabelvene besitzen kann (Dyer et al., 1972). Dabei dürften während der Trächtigkeit bzw. Schwangerschaft vasodilatative Mechanismen und Agentien überwiegen, um in den Nabelgefäßen eine hohe Flussrate zu gewährleisten. Nach der Geburt überwiegen wahrscheinlich vasokonstriktorisches Effekte, um durch einen festen Verschluss der Nabelgefäße das Verbluten des Fetus oder auch der Mutter zu verhindern (Boura und Walters, 1991). Zu den vasoaktiven Substanzen gehören unter anderem die Steroidhormone Progesteron und Östrogen, Katecholamine, Eicosanoide und Peptide (Boura und Walters, 1991; Miller und Vanhoutte, 1991; Mugge et al., 1993). Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Wirkung vasoaktiver Substanzen auf die Nabelgefäße.

2.7.3.1. Die Steroidhormone Progesteron und Östrogen

Die Steroidhormone Östrogen und Progesteron sind während der Trächtigkeit und Schwangerschaft in hohen Konzentrationen im Blut vorhanden (Baker et al., 1997). Sie sind essentiell für die Aufrechterhaltung der Gravidität. Für beide Hormone ist eine allgemeine Gefäßwirkung nachgewiesen. Progesteron hemmt die Proliferation von Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen (Vázquez et al., 1999). Außerdem senkt es den Tonus glatter Muskelzellen von Gefäßen und Myometrium (Gill et al., 1985; Miller und Vanhoutte, 1991). Östrogen hingegen fördert die Endothel- und Muskelzellproliferation von Gefäßen (Vázquez et al., 1999). Weiterhin hat Östrogen eine kardio- und vasoprotektive Wirkung (Stampfer et al., 1991). Es besitzt einen direkten vasodilatativen Effekt, wodurch der Widerstand in Gefäßen drastisch reduziert werden kann (de Ziegler et al., 1991; Mugge et al., 1993). Die Wirkung der beiden Hormone wird klassischerweise durch die Bindung an einen Kernrezeptor vermittelt (Baker et al., 1997). In einigen Arbeiten konnten die Rezeptoren jedoch auch im Zytoplasma der Zellen nachgewiesen werden (Younes et al., 1981; Bergqvist et al., 1993).

Nur in sehr wenigen Arbeiten wurde die Wirkung von Östrogen und Progesteron auf die Nabelgefäße untersucht, so dass noch nicht vollständig geklärt ist, ob die hohen Konzentrationen von Östrogen und Progesteron im Nabelschnurblut einen direkten Einfluss auf den Nabelgefäßtonus haben. Zudem werden die Effekte kontrovers diskutiert. So konnte in einer Studie gezeigt werden, dass mit ansteigendem Östrogenspiegel im Nabelschnurblut der Widerstand in der Nabelarterie sinkt (Bonatz et al., 1996). Bei einer anderen Studie hatte ein verminderter Östrogenspiegel keinen negativen Effekt auf die Durchblutungsrate der

Nabelgefäße und auf das fetale Wachstum (Conte et al., 1994). Die Beteiligung von Östrogen an der Regulation des Nabelblutflusses ist somit umstritten.

Die meisten Arbeiten zur Klärung der Beteiligung dieser Hormone am fetoplazentaren Blutfluss beschäftigen sich mit Uterus- und Plazentagefäßen. Zudem stammen sie aus dem humanmedizinischen Bereich. Da die Hormonwirkung meist über ihre Rezeptorbindung erfolgt, wurde oft die Expression und Verteilung von Östrogenrezeptoren (ER) und Progesteronrezeptoren (PR) in diesen Geweben untersucht.

Progesteron und Progesteronrezeptor (PR)

Das Vorhandensein von PR in der Plazenta des Menschen wird kontrovers diskutiert. In einigen Untersuchungen gelang der immunhistologische Nachweis von PR im Kern und im Zytoplasma (Rivera und Cano, 1989), andere Untersuchungen fielen hingegen negativ aus (Wang et al., 1992). In den Myozyten der Spiralarterien konnte PR sowohl auf mRNA-Ebene als auch immunhistologisch gefunden werden (Wang et al., 1992; Perrot-Applanat et al., 1994). Die intensive positive Reaktion der Myozyten während der gesamten Schwangerschaft gibt einen Hinweis auf die Beteiligung von Progesteron an der fetoplazentaren Blutflussregulation (Perrot-Applanat et al., 1994). Einen weiteren Beweis für die Rolle von Progesteron in der Tonuskontrolle dieser Gefäße liefert die Tatsache, dass Progesteron eine Endothel-unabhängige Vasodilation von Plazentagefäßen verursacht und somit an der Aufrechterhaltung des niedrigen Widerstands und an der Regulation des Blutflusses teilnehmen kann (Omar et al., 1995).

Auf die Nabelgefäße des Menschen hingegen konnte bislang kein tonusverändernder Effekt von Progesteron nachgewiesen werden (Fausett et al., 1999), obwohl die mRNA des PR mittels PCR in den Gefäßmuskelzellen von Nabelarterie und Nabelvene gefunden wurde (Belfort et al., 1996b).

Östrogen und Östrogenrezeptor (ER)

Auch über das Vorkommen von ER herrscht keine einheitliche Meinung. In einigen Studien wird die Expression von ER in der Plazenta beschrieben (Younes et al., 1981), in anderen Fällen konnte ER nicht nachgewiesen werden (Rivera und Cano, 1989; Perrot-Applanat et al., 1994). In den Myozyten der Spiralarterien wird ER im Gegensatz zu PR nur zu Beginn der Schwangerschaft und in geringen Mengen exprimiert (Perrot-Applanat et al., 1994).

Über das Vorkommen von ER in den Nabelgefäßen des Menschen existieren ebenfalls verschiedene Angaben. Einigen Autoren gelang der Nachweis von ER nicht (Belfort et al.,

1996b; Baker et al., 1997; Jensen et al., 1998), während in anderen Studien die Anwesenheit von ER auf mRNA- und Proteinebene in den Endothelzellen und Myozyten der Nabelgefäße gezeigt werden konnte (Pertschuk, 1990).

Bei Studien über die Wirkung der verschiedenen biologischen Östrogene auf Nabelgefäße kommen die einzelnen Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. Laut Silva de Da und Meirelles (1977) konnte im Perfusionsmodell mit Östron, Östradiol und Östriol eine deutliche Vasodilation in den Nabelarterien hervorgerufen werden. Dabei reichten die im Nabelschnurblut physiologisch vorkommenden Dosen aus (Silva de Da und Salles-Meirelles, 1977). In einer anderen Studie stellte 17β -Östradiol das einzige Steroidhormon dar, welches einen vasodilatativen Effekt auf die Nabelgefäße ausübte, während Östriol, Östron, Testosteron und Progesteron keine Wirkung zeigten. Der vasodilatorische Effekt von 17β -Östradiol konnte jedoch nur bei supraphysiologischen Dosen erreicht werden. Die Nabelarterie reagierte dabei etwas sensibler als die Nabelvene. ER-Blocker hatten keinen abschwächenden Effekt, weshalb eine nicht Rezeptor-vermittelte Reaktion vermutet wurde (Fausett et al., 1999).

2.7.3.2. Weitere vasoaktive Substanzen und physikalische Faktoren

Serotonin gilt als ein potenter Vasokonstriktor der Nabelvene und der Nabelarterie bei zahlreichen Spezies (Mensch, Schaf, Meerschweinchen, Affe) (Dyer, 1970; Dyer et al., 1972; Nair und Dyer, 1974; Tulenko, 1979; Van der Voorde et al., 1987; Macara et al., 1993). Es ist sehr wahrscheinlich, dass Serotonin am postpartalen Gefäßschluss beteiligt ist, da es im Gegensatz zu vielen anderen vasoaktiven Agentien eine hohe Rezeptoraffinität aufweist, keine Desensibilisierung, jedoch einen lang anhaltenden Effekt zeigt (Nair und Dyer, 1974; White, 1989; Hemsén et al., 1991). Eine effektive Wirkung konnte bereits durch im Nabelschnurblut physiologisch vorkommende Dosen erzielt werden (Mak et al., 1984). Auch Thromboxan (Tx) hat einen stark konstriktorischen Effekt auf Nabelarterie und Nabelvene (Templeton et al., 1993; Macara et al., 1993). Die im Nabelschnurblut verzeichneten Konzentrationen reichen für eine potente Vasokonstriktion aus (Mak et al., 1984).

Fast alle Prostaglandine (PG) können Nabelgefäße kontrahieren. (Hillier und Karim, 1968; Tuvemo et al., 1976; Tulenko, 1981). Die Kontraktion fällt schwächer als beispielsweise die von Serotonin aus, da eine maximale Kontraktion nur durch einen höheren als im Nabelschnurblut vorkommenden Prostaglandinspiegel ausgelöst werden kann. (Mak et al., 1984). Allerdings steigt die Empfindlichkeit gegenüber der Prostaglandine im Laufe der Schwangerschaft an, so dass am Geburtstermin die stärkste Kontraktion erzielt werden kann.

Damit ist bewiesen, dass eine Reifung der Rezeptoren in der Nabelschnur für verschiedene Substanzen möglich ist (White, 1989). Neben den vasokonstriktorisches Eigenschaften wird den Prostaglandinen von einzelnen Autoren auch ein vasodilatatorischer Effekt zugeschrieben (Benirschke und Kaufmann, 2000).

Prostacyclin besitzt einen vasodilatatorischen Effekt. Es wird in den Endothelzellen der Nabelgefäße gebildet (Benedetto et al., 1987; Mück et al., 1992). Seine Rolle in der umbilikalen Blutflussregulation ist umstritten, da einige Autoren einen starken Effekt auf die Nabelgefäße dokumentieren (Macara et al., 1993), andere hingegen nach Hemmung der Prostacyclinsynthese keine Veränderung der Nabelgefäßperfusion feststellen können (Templeton et al., 1993).

Der Effekt von Bradykinin (BK) weist speziesspezifische Unterschiede auf. Beim Schaffetus zeigt BK keine Wirkung auf die Nabelgefäße (Dyer, 1970), während beim Mensch in der Nabelvene und in der Nabelarterie eine deutliche, aber mit Desensibilisierung einhergehende, nicht anhaltende Kontraktion verzeichnet werden kann (Altura et al., 1972; Tulenko, 1979; White, 1989). Eine im Nabelschnurblut physiologisch vorkommende Konzentration reicht aus, um eine vollständige Kontraktion auszulösen (Mak et al., 1984). Einige Autoren berichten über einen vasodilatatorischen Effekt von BK (Van der Voorde et al., 1987; Pinto et al., 1991; Chaudhuri et al., 1991).

Endothelin-1 (ET-1) gilt als starker Vasokonstriktor der gesamten fetoplazentaren Zirkulation (Haegerstrand et al., 1989; White, 1989; Hemsén et al., 1991; Macara et al., 1993; Cai et al., 1993b). Immunhistologisch kann ET-1 in den Endothelzellen der Nabelgefäße, in den WS-Zellen und in den Amnionepithelzellen nachgewiesen werden (Hemsén et al., 1991; Gu et al., 1991). Rezeptoren für ET-1 befinden sich an den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße. ET-1 verursacht einen lang anhaltenden Kontraktionseffekt, weshalb seine Beteiligung an der Tonusregulation der Nabelgefäße vermutet wird (Rath et al., 1993).

Da das Neuropeptid Y (NPY) in hohen Konzentrationen im Nabelschnurblut vorkommt (Hemsén et al., 1991) und es auf fetale und adulte Gefäße einen vasokonstriktorisches Effekt ausübt (Burnstock, 1990), wurde dessen mögliche Beteiligung an der fetoplazentaren Blutflussregulation untersucht. Immunhistologisch sind 32% der Endothelzellen der Nabelgefäße positiv (Cai et al., 1993a). NPY löst an den Nabelgefäßen des Menschen eine nur sehr schwache Kontraktion aus (White, 1989; Cai et al., 1993b).

Angiotensin II (Ang II) hat einen starken vasokonstriktorisches Effekt auf die Nabelgefäße des Schafes (Dyer, 1970). Beim Menschen gehen die Meinungen darüber auseinander: Einige Autoren können gar keinen oder nur einen minimalen Effekt auf die Nabelgefäße finden.

Andere beschreiben einen deutlichen Kontraktionseffekt, wobei die unreifen Nabelgefäße die stärkste Reaktion zeigen (Tulenکو, 1979; Macara et al., 1993; White, 1989; Kaiser et al., 1998). Nabelgefäße reagieren verglichen mit anderen systemischen fetalen Gefäßen sensibler auf ANG II.

Atriales natriuretisches Peptid (ANP) wird hauptsächlich im fetalen Herz gebildet und vermittelt im Fetus einen vasodilatorischen, natriuretischen und diuretischen Effekt (Goetz, 1988). Immunhistologisch stellen sich 44% der Endothelzellen der Nabelgefäße positiv dar (Cai et al., 1993a; Cai et al., 1993b). Die Anzahl der Rezeptoren für ANP steigt im Laufe der Entwicklung an, so dass sie in der geburtsreifen Nabelschnur des Menschen am häufigsten vorkommen (McQueen et al., 1990; Salas et al., 1991). Die im Nabelschnurblut physiologisch vorkommenden Konzentrationen von ANP reichen aus, um eine Relaxation zu bewirken (Macara et al., 1993).

Der „endothelium-derived-relaxing factor“ (EDRF), der als NO identifiziert wurde, bewirkt eine Relaxation von Gefäßmuskelzellen (Palmer et al., 1987) und wurde in den Endothelzellen der Nabelgefäße gefunden (Van der Voorde et al., 1987; Myatt et al., 1993). EDRF übt nachweislich einen vasodilatorischen Effekt auf die Nabelgefäße des Menschen aus (Macara et al., 1993). Eine maßgebliche Beteiligung am fetoplazentaren Gefäßtonus wird vermutet (Pinto et al., 1991).

In einigen Arbeiten wurde auch die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin (NA) auf die Nabelgefäße untersucht. Es konnte sowohl beim Schaf (Dyer, 1970) als auch beim Mensch (Mak et al., 1984) ein leicht konstriktorischer Effekt nachgewiesen werden. Dieselben Ergebnisse wurden auch mit Acetylcholin (Ach) erzielt (Dyer, 1970; White, 1989).

Die Wirkung von Histamin auf den Nabelgefäßtonus wird nicht einheitlich beschrieben. Beim Schaf kann nur eine konstriktorische Wirkung auf die Vena umbilicalis festgestellt werden (Dyer et al., 1972). Beim Menschen hingegen werden konstriktorische und vasodilatorische Effekte auf beide Nabelgefäße beschrieben (White, 1989; Van der Voorde et al., 1987).

Oxytocin, welches in hohen Konzentrationen im Nabelschnurblut vorkommt, beeinflusst ebenfalls den Tonus der Nabelgefäße. Es stellt einen relativ schwachen Konstriktor für Nabelarterie und -vene dar, wobei in unreifen Nabelgefäßen ein größerer konstriktorischer Effekt hervorgerufen werden kann (Somlyo et al., 1965; White, 1989).

Noch zahlreiche weitere vasoaktive Agentien können immunhistologisch in den Endothelzellen der Nabelgefäße nachgewiesen werden. Dazu gehören SP (Substanz P), VIP (vasoaktives intestinales Polypeptid), CGRP (calcitonin gene-related peptide) und AVP

(Arginin-Vasopressin). Deren physiologische Bedeutung bei der Regulation des Nabelgefäßtonus muss noch geklärt werden (Haegerstrand et al., 1990; Cai et al., 1993b).

Tab. 1: Übersicht über die Wirkung vasoaktiver Substanzen auf die Nabelgefäße.

vasokonstriktorisch	Serotonin
	Thromboxan
	Endothelin 1
	Neuropeptid Y
	(Nor)adrenalin,
	Acetylcholin
	Angiotensin II
	Oxytocin
	Histamin (Schaf)
vasodilatorisch	Prostacyclin
	Atriales natriuretisches Peptid
	EDRF
	Östrogen
vasokonstriktorisch und vasodilatorisch	Prostaglandine
	Bradykinin (nur Mensch, keine Wirkung beim Schaf)
	Histamin (Mensch)
für zahlreiche in der Nabelschnur vorkommende vasoaktive Substanzen (z.B. Progesteron, SP, VIP, CGRP, AVP) konnte bislang noch kein Effekt auf die Nabelgefäße nachgewiesen werden	

Neben vasoaktiven Substanzen können auch physikalische Faktoren den Widerstand der Nabelgefäße beeinflussen. Dabei werden der postpartale Abkühlungsreiz, der ansteigende O₂-Gehalt des Blutes und Bewegungen des Fetus in Betracht gezogen.

Der Abkühlungsreiz nach der Geburt wird vor allem in älteren Studien als ein möglicher Auslösefaktor für den postpartalen Gefäßschluss aufgeführt (von Euler, 1938; Gokhale et al., 1966; Lewis, 1968). Über den genauen Mechanismus werden in diesen Arbeiten keinerlei Angaben gemacht.

Dem ansteigenden O₂-Spiegel im Nabelschnurblut nach dem ersten Atemzug wird ebenfalls eine entscheidende Rolle im postpartalen Verschluss der Nabelarterie zugeschrieben. Die Geschwindigkeit der Reaktionsantwort auf O₂ sowie die Kontraktionskraft steigen beim Schaf mit zunehmendem Gestationsalter an (Oberhänsli-Weiss et al., 1972). Die Reaktion gilt allerdings als sehr kurzlebig (Lewis 1968; White 1989).

In den letzten beiden Schwangerschaftswochen zeigen die Nabelgefäße des Menschen eine erhöhte Sensibilität gegenüber mechanischen Reizen, wie sie beispielsweise durch intrauterine Fruchtbewegungen ausgelöst werden können (Shepard, 1968).

2.7.4. Die Bedeutung der WS für die umbilikale Blutflussregulation

Durch ihre extrakorporale Lage sind die Nabelgefäße besonders empfindlich gegenüber von außen einwirkende Kräfte, wie sie beispielsweise durch fetale Bewegungen und Uteruskontraktionen hervorgerufen werden können. Um in utero den Blutfluss aufrecht zu erhalten benötigen die Nabelgefäße eine hoch entwickelte Umgebung (Sepulveda et al., 1999). Deshalb muss nicht nur die Struktur der Nabelgefäße selbst, sondern auch die des umliegenden Gewebes auf den Schutz des Blutflusses ausgerichtet sein. Aus diesem Grunde wird auch der WS eine maßgebliche Beteiligung an der Regulation des umbilikalen Blutflusses zugeschrieben.

Die anatomischen und strukturellen Eigenschaften der WS schaffen für die Nabelgefäße eine protektive Umgebung. Die WS umgibt die Gefäße vollständig und stellt somit einen mechanischen Schutz für die Gefäße dar. Sie polstert die empfindlichen Nabelgefäße ab, die dadurch effektiv vor Kompression geschützt werden. Diese „Kissenfunktion“ der WS wird von Reynolds (1952) beim Menschen allerdings nicht vollständig unterstützt, da die WS von dilatierten Nabelgefäßen an den Rand gedrängt wird und nur noch einen dünnen Saum darstellt. Er schreibt ihr deshalb eher die Funktion einer widerstandsfähigen Scheide zu, die dem Organ einen semi-erektile Charakter verleiht, sobald in den Nabelgefäßen ein hoher Druck herrscht. Beim Schaffetus, bei dem auch die gefüllten Nabelgefäße von einer breiten WS-Schicht umgeben werden, hält er die Kissenfunktion der WS jedoch für wahrscheinlich (Reynolds, 1952).

Die Myofibroblasten der WS des Menschen exprimieren α -smooth-muscle-Aktin und sind zur Kontraktion befähigt. Durch ihre kontraktile Eigenschaften könnten sie aktiv an der Blutflussregulation beteiligt sein (Takechi et al., 1993). Weiterhin synthetisieren die Myofibroblasten einen Großteil der EZM und beeinflussen dadurch die für den Blutfluss wichtige Konsistenz und Struktur der WS (Parry, 1970).

Beim Menschen besteht in der WS zwischen den Fasern der WS ein Raumsystem aus Kavernen (peripher) und Kanälen (zentral). Zusätzlich befindet sich um die Nabelgefäße ein perivaskulärer Spalt. Diese Räume beinhalten Grundsubstanz und stehen miteinander in Verbindung. Dadurch kann sich die WS an Volumenschwankungen und Formveränderungen der gesamten Nabelschnur anpassen, ohne dass der Blutfluss beeinträchtigt wird (Vizza et al.,

1995; Vizza et al., 1996).

Bei Betrachtung der Theorie von Gänshirt (1949) und Goerttler (1951) wird ersichtlich, dass die Funktion der Nabelgefäße und die Regulation ihrer Lumenweite nur im Zusammenhang mit ihrer Einbettung in der WS zu verstehen sind. Die von den beiden Autoren beschriebene lumenerweiternde Kontraktion ist nur bei einer feuchten, wasserhaltigen WS möglich. Da jede Kontraktion nachweislich mit einer Wandverdickung einhergeht, ist zur Erweiterung des Lumens das Ausweichen nach außen Voraussetzung. Dies ist allerdings nur bei einer wasserhaltigen WS, wie sie in utero vorliegt, gegeben. Bei postpartaler Austrocknung der WS ist ein Ausweichen nach außen nicht mehr möglich und jegliche mit Wandverdickung einhergehende Kontraktion führt zur Lumenverengung (Gänshirt, 1949; Goerttler, 1951). Zusammenfassend gilt, dass in der menschlichen Nabelschnur durch die kontraktile WS-Zellen, durch die Zusammensetzung der EZM sowie durch die Kanäle und Kavernen ein System gebildet wird, welches den Turgor der Nabelschnur und somit auch den Blutfluss reguliert. Die Gefäße werden so vor Kompression und Verdrillung geschützt (Schoenberg et al., 1958, Schoenberg et al., 1960; Takechi et al., 1993; Nanaev et al., 1997).

2.8. Die Nabelschnur als mögliche Stammzellquelle

Die Stammzellforschung stellt ein zentrales Thema der heutigen Wissenschaft dar. Neben dem möglichen Entwicklungspotential der Stammzellen und ihrer klinischen Bedeutung wird vor allem auch an der Herkunft und der Isolierung der Stammzellen geforscht. In den letzten Jahren gelang es einigen Forscherteams aus der Nabelschnur verschiedener Spezies, Zellen mit hämatopoietischen und mesenchymalen Stammzellcharakter zu gewinnen.

2.8.1. Hämatopoietische Stammzellen (HSCs) in der Nabelschnur

Bei den HSCs handelt es sich um Zellen, die für die kontinuierliche Produktion aller reifen Blutzellen während des ganzen Lebens eines Individuums verantwortlich sind (Spangrude et al., 1991). Experimentell werden sie definiert als Zellen, die in der Lage sind, bei einem bestrahlten Empfänger das gesamte hämatopoietische System wieder herzustellen. Die Entwicklung des hämatopoietischen Systems bei den Säugetieren ist charakterisiert durch die zeitlich aufeinanderfolgende Aktivität einzelner hämatopoietischer Organe. Die ersten hämatopoietischen Zellen entstehen dabei entweder im Dottersack oder in der AGM-Region (AGM= Aorta-Gonaden-Mesonephros). Danach wird die Blutbildung in der fetalen Leber, Thymus und Milz und schließlich im Knochenmark fortgesetzt. Zunächst galt der Dottersack

als ursprünglichste Quelle für die HSCs, von wo aus die anderen hämatopoietischen Organe besiedelt werden (Moore und Metcalf, 1970). Neben dieser extraembryonalen HSC-Quelle wurde in der Maus mit der AGM-Region auch eine intraembryonale HSC-Bildungsstätte gefunden (Medvinsky et al., 1993). Da die AGM-Region ein komplexes Gebiet darstellt, aus dem mehrere Organsysteme (Aorta und andere große Gefäßstämme, Gonaden und Urnierenth) hervorgehen, war es von Interesse in welchem Teilgebiet die ersten HSCs nachgewiesen werden können. De Bruijn und Kollegen (2000) konnten bei der Maus zeigen, dass HSCs zuerst in der Region der dorsalen Aorta (Tag 9) und erst anschließend in der urogenitalen Region auftauchen. Sie untersuchten daraufhin die anderen beiden großen Gefäßstämme, die zu diesem Zeitpunkt neben der Aorta im Embryo vorkommen. Dabei handelte es sich um die Dottersack- und Nabelarterien. Am Tag 10.5 konnten aus diesen beiden Gefäßstämmen Zellen mit HSC-Aktivität nachgewiesen werden, da diese Zellen im Transplantationsversuch das komplette hämatopoietische System eines bestrahlten Empfängertieres rekonstituieren konnten. Die Ergebnisse zeigen, dass Nabelarterien und Dottersackarterien HSCs beherbergen. Dabei konnte bisher nur für die Aorta und die Dottersackarterien bewiesen werden, dass die HSCs in diesen Gefäßen autonom entstehen. Da aber zwischen Tag 10 und 12 weder im Gewebe noch im zirkulierenden Blut des murinen Embryos HSCs gefunden werden können, gilt es jedoch als sehr wahrscheinlich, dass auch die Nabelarterien eine potente Quelle für HSCs darstellen (Tavian et al., 1999; de Bruijn et al., 2000). Als weitere Bildungsstätte für HSCs kann die Allantois des Vogels angesehen werden (Caprioli et al., 2001). Alvarez-Silva und Kollegen (2003) untersuchten die Plazenta der Maus hinsichtlich ihrer Beteiligung an der Hämatopoese, wobei die hämatopoietische Aktivität der Plazenta bestätigt wurde. Dabei konnten in der Plazenta Progenitorzellen zu einem früheren Zeitpunkt und in größeren Mengen als in der Leber gefunden werden. Da das Auftreten dieser Progenitoren kurz nach dem Erscheinen dieser Zellen in der embryonalen Aorta, den Nabelarterien und den Dottersackarterien stattfindet, wird vermutet, dass der Prozess von den erwähnten Gefäßen auf die Plazenta ausgedehnt wird. Die in der Plazenta und in den Nabelarterien gefundenen Progenitorzellen besitzen große Ähnlichkeit mit denen des Nabelschnurblutes. Eine Abstammung der Nabelschnurblutprogenitoren von der Plazenta oder den Nabelgefäßen ist deshalb wahrscheinlich (Alvarez-Silva et al., 2003).

2.8.2. Mesenchymale Stammzellen (MSCs) in der Nabelschnur

MSCs besitzen die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Differenzierung in verschiedene Zelllinien. Sie sind für die Zelltherapie von großer Bedeutung (Deans und Moseley, 2000). Die bisherige Hauptquelle der MSCs stellt das leicht zugängliche Knochenmark dar (Deans und Moseley, 2000; Minguell et al., 2000). Allerdings nimmt die Anzahl der MSCs im Knochenmark mit zunehmendem Alter aufgrund geringerer Proliferations- und Differenzierungskapazitäten drastisch ab. Weiterhin besteht oft die Gefahr einer viralen Kontamination. Deswegen hat die Suche nach alternativen MSC-Quellen große Bedeutung (Rao und Mattson, 2001).

Mitchell und Kollegen (2003) untersuchten die WS des Menschen und des Schweines in Hinblick auf eine Isolierung von Zellen mit MSC-Charakter. Sie vermuteten dort eine mögliche Quelle für multipotente Stammzellen, da die WSZ eine primitive Morphologie aufweisen und totipotente Primordialkeimzellen sowie HSCs während der Embryogenese vom Dottersack durch die WS hindurch zu ihren Zielgeweben migrieren. In ihren Untersuchungen waren die WSZ c-kit positiv (CD 117, stem cell factor ligand) und zeigten Telomeraseaktivität, wobei beide Faktoren Merkmale primitiver Stammzellen darstellen. Nach Induzierung zeigten die WSZ innerhalb weniger Stunden einen neuronalen Phänotyp. Die Zellen besaßen ähnlich den neuronalen Stammzellen einen runden Zellkörper und viele neuritenartige Fortsätze. Nach drei Tagen erinnerten die induzierten WSZ an bipolare oder multipolare Nervenzellen. Diese Zellen waren positiv für zahlreiche neuronale Proteine. Auch gliazellspezifische Marker wurden in den induzierten WSZ exprimiert. WSZ besitzen folglich ein neuronales Differenzierungspotential (Mitchell et al., 2003).

Auch das subendotheliale Gewebe der Nabelgefäße kann als mögliche MSC-Quelle angesehen werden, da sich kultivierte Zellen aus diesem Bereich zu fibroblastoiden Kolonien mit mesenchymalen Stammzeleigenschaften entwickelten. Die Zellen waren dabei negativ für Endothelzellmarker sowie Leukozyten-, Monozyten- und Makrophagenmarker, jedoch positiv für α SMA und mesenchymale Zellmarker (Romanov et al., 2003).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungsmaterial

Für die Untersuchungen wurde die Nabelschnur von Feten verschiedener Entwicklungsstadien (2,5 cm bis 89 cm SSL) verwendet. Das Graviditätsstadium wurde anhand der gemessenen Scheitel-Steiß-Längen (SSL) geschätzt (nach Rüsse und Sinowatz, 1998). Tabelle 2 liefert eine Übersicht über die verwendeten Feten für die Untersuchungen.

Tab. 2: Übersicht über die verwendeten Feten

SSL in cm	Geschlecht	Graviditätsstadium	Lichtmikroskopie	Elektronenmikroskopie
2,5	nicht erkennbar	2. Monat	X	
3,4	nicht erkennbar	2. Monat		X
6,5	männlich	2. Monat	X	
11	weiblich	3. Monat	X	X
15	männlich	3. Monat	X	X
20	männlich	4. Monat	X	
26	weiblich	4. Monat	X	X
31,5	männlich	5. Monat	X	
42	weiblich	6. Monat	X	X
53	männlich	7. Monat	X	X
65	männlich	7. Monat	X	X
73	weiblich	8. Monat	X	
89	männlich	9. Monat	X	X
Vene, Geburt	weiblich	9. Monat	X	

Für die makroskopische Beurteilung der Nabelschnüre wurden noch 18 weitere Feten verwendet, die alle innerhalb des in Tab. 2 aufgeführten Größenbereichs lagen.

3.2. Probennahme und Fixierung

3.2.1. Probennahme während spontaner Vaginalgeburt

Unmittelbar vor der Geburt wurde der Nabelstrang noch intravaginal mit einer Hand gefasst und versucht, ihn während des Geburtvorgangs zu fixieren. Der Nabel riss aber größtenteils mit Strukturverlust unter den letzten Wehentätigkeiten spürbar immer mehr ein und zog sich

aufgrund der hohen Spannung in den Uterus zurück. Es konnte lediglich die Nabelvene bis nach der Geburt intravaginal ohne größere Läsionen fixiert werden. Das Gefäß wurde so weit es ging aus der Scheide herausgezogen und schließlich ein Stück abgetrennt.

Eine Probennahme am Kalb scheint nicht geeignet, da sich die Rissstelle sehr nah an der Bauchwand des Kalbes befindet und somit die Infektionsgefahr für das Kalb zu groß wäre. Zudem sind nicht mehr alle Bestandteile des Nabelstrangs am Kalb erkennbar.

3.2.2. Probennahme auf dem Schlachthof

Die Probennahme für die Nabelstränge unterschiedlicher Entwicklungsstadien erfolgte auf dem städtischen Schlachthof in München. Dabei wurden die Uteri frisch geschlachteter, trächtiger Rinder zirka 10 bis 20 Minuten nach der Tötung an der großen Krümmung aufgeschnitten und die Fruchthüllen eröffnet, um den Nabelstrang freizulegen. Anschließend wurde je nach Größe des Fetus entweder der ganze Nabel oder ein kleiner Teil davon abgetrennt, wobei stets darauf geachtet wurde, dass alle Bestandteile des Nabels erhalten waren.

3.2.3. Fixierung Lichtmikroskopie

Als Fixiermittel für die Lichtmikroskopie (konventionelle routinehistologische Färbungen, Immun- und Lektin histochemie) wurden 3 verschiedene Lösungen verwendet (nach Romeis, 1989). Es handelte sich dabei um Bouin'sche Lösung, Methanol-Eisessig-Lösung und Formalin.

Die Nabelschnurstücke wurden größtenteils als Ganzes in die Lösungen verbracht. Ab einer SSL von 65 cm mussten die Proben allerdings geteilt werden, um ein vollständiges Durchdringen der Fixationslösung zu erreichen.

Die Proben wurden 24 h in der jeweiligen Lösung belassen und anschließend im Abstand von 24 h dreimal in 70%igen Alkohol verbracht, um das Fixiermittel auszuwaschen. Die Formalinproben wurden vor der Alkoholbehandlung 1 h unter fließendem Leitungswasser gespült. Anschließend wurden die Proben in einem Einbettungsautomaten (Shandon Duplex Processor, Firma Shandon, Frankfurt) in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, mit flüssigem Paraplast® (Monoject Scientific Inc., Kildare, Irland) infiltriert und anschließend mit einem Histostat Tissue Embedding Center (Firma Reichert-Jung, Wien) in Blöcke gegossen. Von jedem Block wurden mit einem Rotationsmikrotom Typ Microm HM 340 E (Micron Instruments, Kalifornien) 5 µm dicke Schnitte hergestellt und auf unbeschichtete und beschichtete Objektträger gezogen.

Die Paraffinschnitte wurden zur Herstellung der konventionellen Färbungen sowie für die glyko- und immunhistochemischen Nachweisverfahren verwendet.

3.2.4. Fixierung Elektronenmikroskopie

Zuerst wurde der Nabelstrang so auseinanderpräpariert, dass jeweils von der Nabelarterie, der Nabelvene, dem Urachus, der Wharton Sulze und dem Amnionepithel einzeln ein Probenstückchen entnommen werden konnte.

Die einzelnen Proben wurden in kleine Würfel von maximal 1mm Kantenlänge geschnitten. Dabei mussten auch das Gefäßendothel und das Urachusepithel in den Proben enthalten sein. Deshalb wurden das Gefäßendothel und das Urachusepithel ab einer SSL von 20 cm durch Eröffnung des Lumens der Gefäße und des Urachus freigelegt, um sie für die Probenentnahme zugänglich zu machen. Die zurechtgeschnittenen Proben wurden in Karnovsky-Lösung (1965) fixiert und über Nacht bei 4 C° im Kühlschrank belassen. Anschließend wurden sie viermal je 15 Minuten in 0,1 M Cacodylat-Puffer gewaschen. Die Proben wurden in 1,5%igem Kaliumferrocyanid und 1%igem Osmiumtetroxid für 2 h im Dunkeln bei 4 C° kontrastiert und danach dreimal für 20 Minuten in 0,1 M Cacodylat-Puffer gewaschen. Es folgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe und die schrittweise Einbettung in Epon [2 x 15 min Propylenoxid (Merck, Darmstadt), 1 h Propylen-Epon-Gemisch (2:1); über Nacht Propylen-Epon-Gemisch (1:1); 30 min reines Epon (Polysciences, Eppelheim)]. Die Proben wurden in Gelatine kapseln (Plannet, Wetzlar) eingebettet und bei 60 C° über 24 h polymerisiert. Zur Übersicht wurden am Ultramikrotom Ultracut E (Reichert-Jung, Wien) 1 µm dicke Semidünn- Schnitte angefertigt, mit Methylen-Blau (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) gefärbt und lichtmikroskopisch beurteilt. Daraufhin wurden die Blöcke für die ultrastrukturelle Untersuchung ultradünn (60 nm) geschnitten, auf Kupfergrids (SSI, Science Services, München) aufgezogen und mit gesättigtem 2%igem Uranylacetat und mit der Bleizitratlösung nach Reynolds (Reynolds, 1963) nachkontrastiert.

3.3. Konventionelle lichtmikroskopische Färbungen

Die Schnitte wurden in Xylol (2 x 30 min) entparaffiniert, über eine absteigende Alkoholreihe rehydriert und entsprechend gefärbt. Die gefärbten Schnitte wurden dann über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert, in Xylol (2 x 10 min) verbracht und anschließend mit Eukitt® (Riedel de Haen AG, Seelze) eingedeckelt.

Folgende Färbungen wurden nach Romeis (1989) durchgeführt

Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin (H.E.)

In dieser Übersichtsfärbung stellen sich die Zellkerne blau, das übrige Gewebe kräftig rosarot dar.

Trichromfärbung nach Masson-Goldner

Diese Färbung hebt vor allem die kollagenen Bindegewebsfasern (grün) gegenüber den zytoplasmatischen Anteilen (rot) hervor.

Alcianblau 8GX bei pH 1,0 und pH 2,5

In dieser Färbung erscheinen saure Mukosubstanzen leuchtendblau, Kerne hellrot und der Hintergrund zartrosa. Bei einem pH Wert von 1,0 färben sich nur sulfatierte Mukosubstanzen an, bei einem pH von 2,5 reagieren zusätzlich noch karboxylierte Mukosubstanzen.

Perjodsäure-Schiff-Reaktion nach Mc Manus (PAS-Reaktion) mit und ohne Amylaseverdau

Diese Färbung wird zum Nachweis von Aldehydgruppen, die durch die Oxidation von Glykolen mit Perjodsäure gebildet werden, herangezogen. Dies dient der Identifizierung von Kohlenhydraten, bzw. kohlenhydratreichen Makromolekülen (Glykoproteine und Glykogen). Auch Glykoproteine an Basalmembranen, Gitterfasern und kollagene Fibrillen ergeben positive PAS-Reaktionen. Die entstandenen Aldehydgruppen bilden mit der Schiff- Reagenz einen purpurroten Farbkomplex. Der Hintergrund erscheint zart rosa. Zur Identifizierung von Glykogen, kann Amylase hinzugegeben werden, da Glykogen durch Amylase verdaut wird.

Elastika-Färbung nach Weigert mit Resorcinfuchsin

Diese Methode bringt die elastischen Fasern bis in ihre feinsten Verzweigungen zur Darstellung. Elastische Fasern sind schwarzblau angefärbt.

Silberimprägnation nach Gomori

In dieser Färbung stellen sich Neurofibrillen und retikuläre Fasern im braunschwarzen Ton dar.

Toluidinblau-Färbung zur Darstellung von Mastzellen

Bei Anwendung des von Romeis (1989) beschriebenen Protokolls für die wässrige 1%ige Toluidinblaulösung kann es zu einer starken Blaufärbung des gesamten Präparates kommen. Aus diesen Gründen wurde die Methode modifiziert. Die Schnitte verblieben 10 Minuten in einer wässrigen 1%igen Toluidinblaulösung und wurden nach Spülung mit Aqua dest. zur Differenzierung kurz in eine 1%ige Essigsäurelösung getaucht. Nach Spülung in Aqua dest. erfolgte das übliche Verfahren (aufsteigende Alkoholreihe, Eindeckeln). Die Granula der Mastzellen färben sich blau-violett an.

Auswertung

Die Auswertung der Schnitte erfolgte an einem Mikroskop der Firma Leitz, Typ Aristoplan. Die Fotodokumentation wurde unter Verwendung des Kamerasystems Leitz Orthomat E für die automatische Mikrophotografie durchgeführt. Als Filmmaterial diente ein Kodak Ektachrome 64 T Professional-Film.

3.4. Immunhistochemische Färbungen

Bei diesen Untersuchungen wurde nach der „Avidin-Biotin-Complex-Methode“ (ABC-Methode) vorgegangen (Hsu et al., 1981).

Die Methode basiert auf der Fähigkeit des Glykoproteins Avidin, vier Moleküle des Vitamins Biotin zu binden. Dabei kann Avidin durch Streptavidin ersetzt werden, wie es auch für diese Untersuchungen zutrifft. Das erste Reagenz, der Primärantikörper ist gegen das zu bestimmende Antigen auf dem Gewebsschnitt gerichtet. Der Sekundärantikörper, der an den Primärantikörper bindet, ist biotiniert. Es wird ein mit Peroxidase konjugierter Streptavidin-Biotin-Komplex zugegeben, wobei die freien Streptavidinstellen mit dem Biotin des Sekundärantikörpers eine feste Bindung eingehen. Anschließend wird die Peroxidaseaktivität mit einem geeigneten Chromogen, bei diesen Untersuchungen mit 3,3,-Diaminobenzidin (DAB), sichtbar gemacht. DAB ergibt ein braunes Farbprodukt, wodurch die Antigen-Antikörper-Komplexe erkennbar werden.

Für die Immunhistochemie wurden die in Tabelle 3 aufgelisteten Antikörper verwendet.

Tab. 3: Übersicht über die verwendeten Antikörper

Antikörper zum Nachweis von	Bezeichnung	Verd.	Herkunft	Ursprung Primär-AK	Sekundär-AK	Verd.
boviner Progesteron-Rezeptor	Monoclonal antibody to progesterone receptor	1:100	Beckman Coulter, Marseille, France	Maus	Anti Maus biotiniliert aus Kaninchen (Dako, Hamburg)	1:300
boviner Östrogen-Rezeptor α	ER α (H-184) rabbit polyclonal	1:400	Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG(F(ab)2) biotiniliert aus Schwein (Dako, Hamburg)	1:300
α-smooth-muscle-Aktin	MAB Anti Human Alpha Smooth Muscle Actin (SMA)	1:40	Dako, Hamburg	Maus	Anti Maus biotiniliert aus Kaninchen (Dako, Hamburg)	1:300
Desmin	mouse monoclonal antibody to desmin	1:200	Affinity research products, Mamhead, Exeter, U.K.	Maus	Anti Maus biotiniliert aus Kaninchen (Dako, Hamburg)	1:300
Vimentin	monoclonal mouse anti vimentin	1:500	Dako, Hamburg	Maus	Anti Maus biotiniliert aus Kaninchen (Dako, Hamburg)	1:300
Pan-Cytokeratin	monoclonal mouse anti pan-cytokeratin	1:100	Biocarta, Hamburg	Maus	Anti Maus biotiniliert aus Kaninchen (Dako, Hamburg)	1:300
S100	rabbit anti cow S100	1:400	Dako, Hamburg	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG(F(ab)2) biotiniliert aus Schwein (Dako, Hamburg)	1:300

Bei den immunhistologischen Untersuchungen wurde nach folgendem Protokoll vorgegangen:

1. Schnitte über Nacht in Wärmeschrank bei 37 C°.
2. Schnitte in Xylol (2 x 30 min) entparaffinieren und in absteigender Alkoholreihe rehydrieren.
3. In 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen (3 x 5 min).
4. Hemmung der endogenen Peroxidase mittels Hydrogenperoxid bei Raumtemperatur (10 min).
5. Im fließenden Leitungswasser spülen (10 min).
6. In 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen (3 x 5 min).
7. Inkubation der Schnitte mit Protein Block Serum-Free (Dako, Hamburg) bei Raumtemperatur in feuchten Kammern (30 min).

8. Inkubation der Schnitte mit dem Primärantikörper über Nacht bei 4 C° in feuchten Kammern. (Bei α -smooth-muscle-Aktin nur für 1 h, bei S100 nur für 0,5 h jeweils bei Raumtemperatur inkubieren.)
9. In 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen. (3 x 5 min).
10. Inkubation der Schnitte mit dem Sekundärantikörper in feuchten Kammern bei Raumtemperatur (30 min).
11. In 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen (3 x 5 min).
12. Markierung des biotinierten Sekundärantikörpers mit Streptavidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplexe (StreptAB-Komplex/HRP, Dako, Hamburg) in feuchten Kammern bei Raumtemperatur (30 min).
13. In 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen (3 x 5 min).
14. Sichtbarmachung der Antigen-Antikörperreaktion in DAB-Hydrogenperoxid-Lösung (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) bei Raumtemperatur (5-10 min).
15. Im fließenden Leitungswasser spülen (10 min).
16. Eventuell Kerne für 30 sec in Hämalaun gegenfärben, anschließend 10 min im fließenden Leitungswasser bläuen.
17. Dehydrieren in einer aufsteigenden Alkoholreihe und anschließend 2 x 10 min Xylol.
18. Eindeckeln der Schnitte mit Eukitt® (Riedel de Haen GmbH, Seelze).

Bei den meisten immunhistologischen Untersuchungen war zur Demaskierung des Antigens noch ein zusätzlicher Arbeitsschritt nötig.

Für bovinen Östrogenrezeptor α und bovinen Progesteronrezeptor (zwischen Schritt 3 und 4)

Schnitte im Zitratpuffer (pH 6,0) in der Mikrowelle bis zum Kochen erhitzen (3 x 10 min).

Danach 20 min abkühlen lassen und 3 x 5 min in 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen.

Für Desmin und Vimentin (zwischen Schritt 3 und 4)

Andauen der Schnitte mit 0,1%iger Protease (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) bei Raumtemperatur für 30 min und anschließend 3 x 5 min in 0,05 M PBS (pH 7,4) waschen.

Für Pan-Cytokeratin (zwischen Schritt 2 und 3)

Andauen der Schnitte mit Trypsin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) bei Raumtemperatur für 30 min.

Negativ- und Positivkontrollen

Bei allen immunhistochemischen Untersuchungen wurden Negativkontrollen durchgeführt, bei denen der Primärantikörper durch ein Aliquot an Antikörper-Diluent ersetzt wurde. Als Positivkontrollen wurden bovine Milchdrüse (bPR, bER α , Vimentin), boviner Eileiter (α SMA, CK) und boviner Hoden (S100) verwendet.

Auswertung

Die Auswertung der Schnitte erfolgte an einem Mikroskop der Firma Leitz, Typ Aristoplan. Die Fotodokumentation wurde unter Verwendung des Kamerasystems Leitz Orthomat E für die automatische Mikrophotografie durchgeführt. Als Filmmaterial diente ein Kodak Ektachrome 64 T Professional-Film.

3.5. Glykohistochemische Färbungen

Der Nachweis der Lektinbindungsstellen am bovinen Nabelstrang wurde mit den in Tabelle 4 aufgelisteten Lektinen durchgeführt.

Für die Untersuchung wurde die direkte Methode angewendet. Dabei bindet das direkt mit dem Fluoreszenzfarbstoff FITC (Fluoreszeinisothiocyanat) konjugierte Lektin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) an den spezifischen Zucker. Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes wird gebundenes FITC angeregt und es entsteht ein grüner Farbstoff, der als positive Reaktion beurteilt werden kann.

Dabei wurde nach folgendem Protokoll vorgegangen:

1. Entparaffinierung der Schnitte in Xylol (2 x 30 min) und Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe.
2. Waschen der Schnitte in 0,05 M TRIS-Puffer pH 6,8 (3 x 5 min).
3. Inkubation der Schnitte mit der Lektinlösung (33 μ g Lektin-FITC/ml Trispuffer) in feuchten Kammern über Nacht im Kühlschrank bei 4 C°.
4. Waschen der Schnitte in 0,05 M TRIS-Puffer pH 6,8 (3 x 5 min).
5. Eindeckeln der Schnitte mit dem wässrigen Mounting-Medium Gel-Mount (Biomedica, Foster City).

Die Schnitte wurden bis zur Auswertung bei minus 20 C° aufbewahrt.

Negativkontrollen

Um mögliche Eigenfluoreszenzen des Nabelgewebes auszuschließen, wurde für jedes Lektin eine Negativkontrolle durchgeführt, wobei anstelle der FITC-markierten Lektinlösung nur die entsprechende Menge an TRIS-Pufferlösung verwendet wurde.

Kompetitive Hemmung

Außerdem wurde als Spezifitätskontrolle eine kompetitive Hemmung der Lektine mit den jeweils inhibitorischen Zuckern (siehe Tabelle 4) in einer Konzentration von 0,2 M vorgenommen. Dazu wurden die Lektine mit den entsprechenden Hemmzuckern (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) für eine Stunde bei Raumtemperatur und Dunkelheit vorinkubiert und bei Schritt 3 anstelle der normalen Lektinlösung auf die Schnitte pipettiert.

Tab. 4: Übersicht über die verwendeten Lektine

Abkürzung	Lektin	Zuckerspezifität	Herkunft	Hemmung durch
PNA	<i>Arachis hypogaea</i> Agglutinin	β -D-Gal-(1-3)-D-GalNAc	Erdnuss	Galaktose
Con A	<i>Concanavalia ensiformis</i> Agglutinin	α -D-Man > α -D-Glc	Schwertbohne	Mannose
ECA	<i>Erythrina cristagalli</i> Agglutinin	α -D-Gal-(1-4)-GlcNAc	Korallenbaum	Galaktose
SBA	<i>Glycine max</i> Agglutinin	α -D-GalNAc, α -D-Gal	Sojabohne	α -D-GalNAc
GSA	<i>Griffonia simplicifolia</i> Agglutinin	endständiges α -GalNAc > endständiges α -Gal	Griffonia	Galaktose, N-Acetyl-Glukosamin
LTA	<i>Lotus tetragonolobus</i> Agglutinin	endständige α -Fuc	Lotus	L-Fukose
WGA	<i>Triticum vulgare</i> Agglutinin	(D-GlcNAc) ₂ NeuNAc	Weizenkeim	N-Acetyl-Galaktosamin
UEA I	<i>Ulex europaeus</i> Agglutinin I	α -L-Fuc	Stechginstersamen	α -L-Fukose
VVA	<i>Vicia villosa</i> Agglutinin	D-GalNAc	Wicke	N-Acetyl-Glukosamin

Lektindoppelfärbung

Am bovinen Nabelstrang wurde zusätzlich eine Lektindoppelfärbung mit Rhodamin-konjugiertem Con A und FITC-konjugiertem WGA (Vector Laboratories, Burlingame) durchgeführt. Dabei wurden Rhodamin-konjugiertes Con A (15µg/ml) und FITC-konjugiertes WGA (15µg/ml) nacheinander auf die Schnitte pipettiert und jeweils für eine Stunde im Dunkeln bei Raumtemperatur in feuchten Kammern inkubiert. Die Kerne wurden mit dem DNA-Farbstoff DAPI (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen) in einer Verdünnung von 1: 1000 in TRIS-Puffer gegengefärbt. Nach jedem Inkubationsschritt wurde 3 x 5 min in TRIS-Puffer gespült.

Auswertung

Die Auswertung der ausschließlich mit FITC markierten Präparate erfolgte am Auflicht-Fluoreszenzmikroskop Dialux 20 (Leitz GmbH, Wetzlar) bei einer Anregungswelle von 490 nm. Zur Fotografie wurde der Film Kodak Elite 400 verwendet.

Die mit FITC, Rhodamin und DAPI gefärbten Präparate wurden an dem konfokalen Lasermikroskop Zeiss LSM 510 meta (Zeiss, Jena) ausgewertet und digital dokumentiert.

3.6. Elektronenmikroskopie

Die Auswertung der elektronenmikroskopischen Proben erfolgte am Transmissionselektronenmikroskop EM Zeiss 902 (Carl Zeiss, Oberkochen) statt. Als Filmmaterial dienten Maco ort 25c-Filme (Maco Photo Products, Hamburg).

4. ERGEBNISSE

4.1. Makroskopische Betrachtung

Makroskopisch besteht der bovine Nabelstrang aus zwei Nabelarterien, zwei Nabelvenen, dem Urachus, der gefäßreichen Wharton Sulze (WS) und dem Amnionepithel (AE) (Abb. 1 und Abb. 2). Das Nabelzölom und die Reste des Dottersackstiels können mit bloßem Auge nicht erkannt werden.

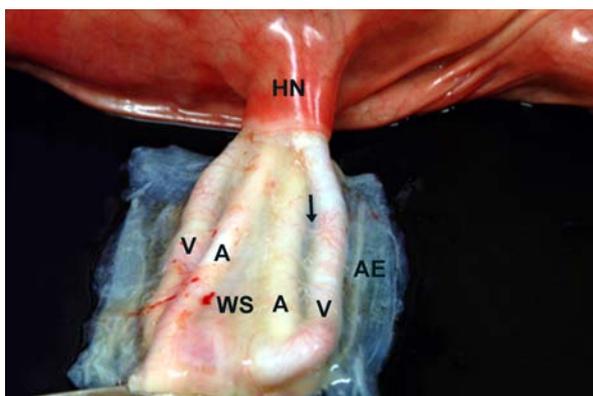


Abb. 1: Nabelstrang nach Entfernung des AE.

Nach Abpräparieren des Amnionepithels (AE) können Nabelarterien (A) und Nabelvenen (V) in der Wharton Sulze (WS) gut identifiziert werden. Deutlich sind auch kleine Gefäße (Pfeil) und der Hautnabel (HN) erkennbar. Fetus mit 53 cm SSL.

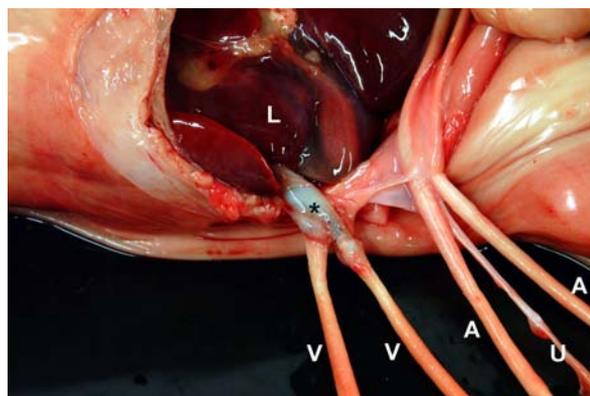


Abb. 2: Nabelstrang nach Entfernung der WS.

Das Bild zeigt die beiden Nabelarterien (A), die einschließlich des Urachus (U) nach kaudal ziehen sowie die beiden Nabelvenen (V), die sich kurz vor dem Eintritt in die Leber (L) vereinigen (Stern). Fetus mit 53 cm SSL.

Das Amnionepithel erscheint bis zu einer SSL von 11 cm durchsichtig, so dass die nadelfeinen Nabelgefäße durch die ebenfalls durchsichtige, gelartige WS von außen sichtbar sind (Abb. 3). Ab diesem Zeitpunkt jedoch wird der Amnionepithelüberzug weißlich und undurchsichtiger. Die Oberfläche des Amnions ist zunächst glatt. Ab einer SSL von zirka 11 cm treten jedoch über die gesamte Oberfläche verteilt zahlreiche, nicht ablösbare, zottenartige Gebilde auf, die der Nabelstrangoberfläche einen rauen Charakter verleihen (Abb. 4 und 5). Ab einer SSL von 73 cm sind nur noch vereinzelt Zotten zu erkennen, so dass der Nabelstrang wieder wie zu Beginn der Trächtigkeit glatt erscheint. Das fetale Ende der Nabelschnur ist durch den Hautnabel gekennzeichnet, wobei die fetale Haut das proximale Endstück des Nabelstrangs umgibt (Abb. 1).

Beim Rind liegt im Nabelstrang meist ein gerader Nabelgefäßverlauf vor. Dabei verlassen die vier Nabelgefäße die Bauchhöhle zusammen am Nabelring. Zunächst liegen die beiden

Nabelvenen und Nabelarterien paarig übereinander. Die Nabelvenen verlaufen dann nach lateral, so dass die zwei Nabelarterien zwischen den beiden Nabelvenen zu liegen kommen (Abb. 1). Eine Spiralisierung der Gefäße konnte nur bei drei Feten unter einer SSL von 15 cm beobachtet werden, wobei es sich um eine helikale Windung handelte (Abb. 3).



Abb. 3: Die Nabelgefäße liegen spiralisiert vor. Wharton Sulze und Amnionepithel sind zu diesem Gestationszeitpunkt nahezu durchsichtig. Fetus mit 9 cm SSL.

Ab einer SSL von 11 cm wurden die Nabelgefäße auf das Vorhandensein von Anastomosen untersucht. Bei jedem untersuchten Fetus existierte zwischen den beiden Nabelarterien zirka 1-3 cm vor dem Eintritt in die Plazenta ein anastomosierendes Gefäß (Abb. 5). Weiterhin verlaufen in der WS regelmäßig zwischen Nabelarterie und Nabelvene feine Gefäße, die sich auf der Oberfläche der Nabelgefäße in zahlreiche feine Äste aufzweigen (Abb. 1).

Nabelarterie und Nabelvene können makroskopisch nur anhand ihrer Lage unterschieden werden, da beide gleich dicke und sehr muskelstarke Gefäße darstellen, die sich anatomisch kaum unterscheiden. Intraabdominal vermindert sich der Gefäßdurchmesser und die Wanddicke der rechten Nabelvene. Sie stößt spitzwinklig auf die linke Nabelvene, so dass es vor dem Eintritt in die Leber zu einer Vereinigung der beiden Nabelvenen kommt (Abb. 1).

Die Nabelvene gelangt dann über die Leberpforte in die Leber. Die beiden Nabelarterien verlaufen im lateralen Blasenband kaudalwärts zur Endaufzweigung der Aorta.

Der Urachus ist beim Rind bis zur Geburt vorhanden. Das Lumen nimmt placentawärts an Größe zu. Der Urachus verläuft stets zwischen den beiden Nabelarterien (Abb. 1).

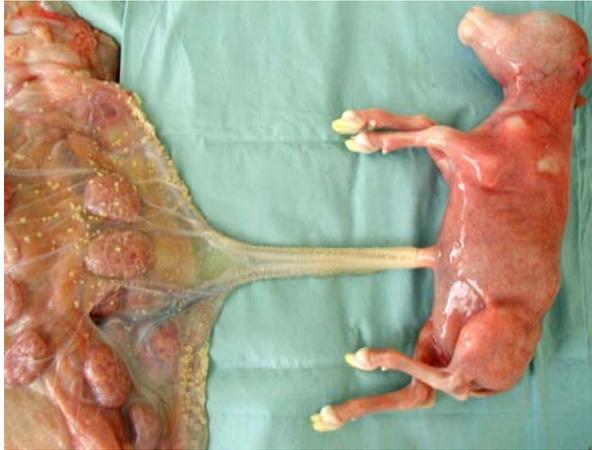


Abb. 4: Verbindung des Fetus (SSL 15 cm) mit der Plazenta über die Nabelschnur (Länge 9 cm).

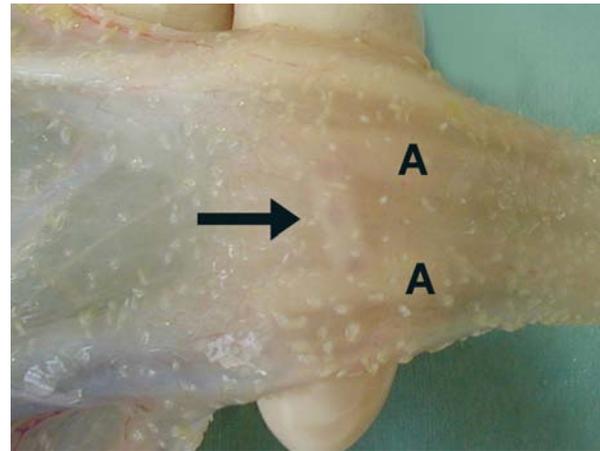


Abb. 5: Anastomose (Pfeil) zwischen den beiden Nabelarterien (A). Auf der Oberfläche sind die zottenartigen Plaques des Amnionepithels sichtbar. Fetus mit 15 cm SSL.

Die WS ist durchscheinend weißlich und macht mehr als die Hälfte des Nabelquerschnitts aus. Sie ist eindrückbar und von elastischer, gelartiger Konsistenz. Die Gefäße sind in ihr auffallend stark beweglich. Die Fixation eines Nabelgefäßes durch die WS hindurch ist sehr schwierig, da das Gefäß sofort unter dem Finger „weg gleitet“. Die Nabelgefäße lassen sich nur schwer vollständig von der WS lösen. In der WS des Rindes ist ein Netzwerk feinsten Gefäße zu erkennen. Sie sind besonders zahlreich im zentralen Anteil der Nabelschnur vorhanden. Die WS stellt makroskopisch eine homogene Einheit dar.

Die durchschnittlich gemessene Länge der bovinen Nabelschnur entspricht zirka 54,4% der Körperlänge (SSL) des Fetus. Die Werte reichen dabei von 34% bis 73%. Es ist jedoch zu beachten, dass die Nabelschnüre von 12 Feten vermessen wurden, so dass die hier angegebenen Daten nur einen Hinweis auf die durchschnittliche Nabelschnurlänge des Rindes geben können (siehe Tabelle A1).

4.2. Konventionelle Färbungen

Um Lokalisationsbeschreibungen in den lichtmikroskopischen Auswertungen zu erleichtern, soll der Bereich zwischen den Venen und dem Amnionepithel als ventral und der Bereich zwischen den Arterien und dem Amnionepithel als dorsal definiert werden. Weiterhin soll gelten, dass in die Beschreibung der kleinen WS-Gefäße die Gefäße in der Adventitia mit eingeschlossen sind.

4.2.1. Übersichtsfärbungen (Hämatoxylin-Eosin und Trichromfärbung nach Masson-Goldner)

Im histologischen Querschnitt lassen sich die einzelnen Bestandteile und der Aufbau des bovinen Nabelstrangs gut erkennen. In der Wharton Sulze eingebettet liegen zwei Nabelvenen und zwei Nabelarterien. Zwischen den Arterien befindet sich der Urachus (Allantoisstiel), der bis zur Geburt vorhanden ist. Der Nabelstrang wird vom Amnionepithel überzogen. Bis zu einer SSL von 6,5 cm, gelegentlich auch bei den Feten der SSL 15 cm und 26 cm, ist der Zölomspalt mit den Resten des Dottersackganges erkennbar. Das extraembryonale Nabelzölom befindet sich entweder zwischen den Nabelvenen oder ventral davon zwischen Nabelvenen und Amnionepithel (Abb. 6 und 7).

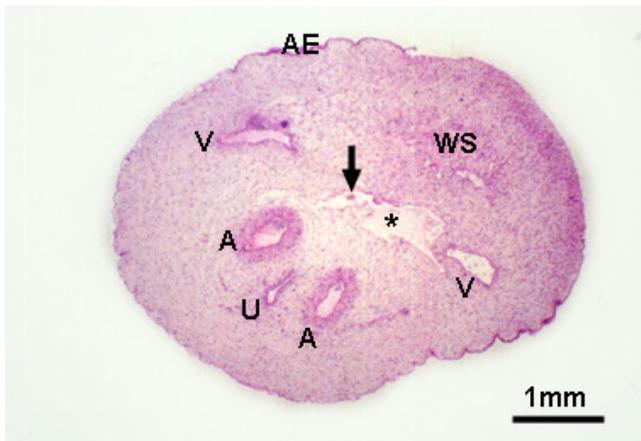


Abb. 6: Übersicht über die Nabelschnur des Rindes. Die beiden Nabelvenen (V) und die beiden Nabelarterien (A) liegen in der Wharton Sulze (WS) eingebettet. Zwischen den Arterien ist der Urachus (U) lokalisiert. Die Nabelschnur wird vom Amnionepithel (AE) umgeben. Zwischen den beiden Nabelvenen befindet sich das Nabelzölom (Stern) mit den Resten des Dottersackganges (Pfeil). Fetus mit 2,5 cm SSL, H.E..



Abb. 7: Reste des Dottersackganges (DS) im Nabelzölom (NZ), das teilweise epithelartig begrenzt wird (Pfeilspitze). Fetus mit 2,5 cm SSL, H.E..

Sowohl die Nabelarterien als auch die Nabelvenen stellen bei der geburtsreifen Nabelschnur des Rindes muskelstarke Gefäße dar, die makroskopisch kaum voneinander zu unterscheiden sind. Bei lichtmikroskopischer Betrachtung sind jedoch Unterschiede zwischen Arterie und Vene erkennbar.

Ab einer SSL von 11 cm können die beiden Gefäße aufgrund ihrer Lumenform unterschieden werden. Nabelvenen weisen ein großes rundes Lumen auf, während die Nabelarterien ein kleineres, sternförmiges Lumen besitzen. Bei einer SSL unter 11 cm ist die Unterscheidung anhand der Lumenform nicht möglich, da das Lumen bei beiden Gefäßen länglich oder rund sein kann.

Die Endothelzellen der Arteriae umbilicales weisen meist typischen Endothelzellcharakter auf. Die flachen Zellen besitzen ein azidophiles Zytoplasma und einen flachen, länglichen Zellkern (Abb. 8). Bis zu einer SSL von 10 cm und seltener auch bei älteren Feten kommen gelegentlich auch runde bis ovale Endothelzellen mit entsprechendem Kern vor. Die Endothelzellen der Venae umbilicales unterscheiden sich stellenweise von denen der Nabelarterien und weisen einige lichtmikroskopische Besonderheiten auf. Neben typischen länglichen Endothelzellen existieren immer wieder tropfenförmige, ins Lumen ragende Endothelzellen. An einigen Stellen entsteht stellenweise der Eindruck, dass sich im Zytoplasma der Venenendothelzellen Hohlräume oder „Riesenvakuolen“ bilden, die das Zytoplasma und den Kern an den Rand drängen. Dabei kommt es zur Ausbildung des „Torbogenphänomens“: Über die Riesenvakuole wölbt sich der nur noch dünne Zytoplasmasaum und der an den apikalen Rand gedrängte abgeflachte Kern (Abb. 8). Ab 73 cm SSL ist dieses Phänomen kaum mehr zu beobachten und die Endothelzellen flachen wieder ab.

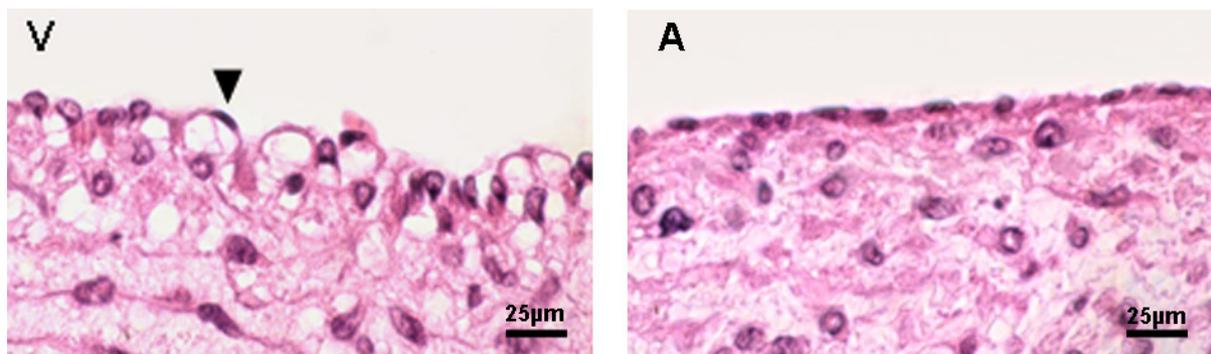


Abb. 8: Endothelzellen der Nabelvene (V) mit „Torbogenphänomen“ (Pfeilspitze). Flache Endothelzellen in der Nabelarterie (A). Fetus mit 20 cm SSL, H.E..

Die Anzahl der Muskelschichten in der Tunica media nimmt bei Nabelvene und Nabelarterie im Laufe der Trächtigkeit kontinuierlich zu. Prinzipiell besitzt die Nabelarterie im Vergleich zur Nabelvene mehr Muskelschichten. Ab einer SSL von 20 cm besitzen Nabelarterie und Nabelvene jedoch annähernd denselben Gefäßwanddurchmesser, wobei dies auf den höheren Gehalt an Interzellulärsubstanz in der Nabelvene zurückzuführen ist. Denn während die

Muskelzellen der Nabelarterie dicht gepackt liegen und nur durch wenig interzelluläre Fasern voneinander getrennt werden, sind die glatten Muskelzellen der Nabelvene durch einen hohen Gehalt an Interzellulärschicht weit voneinander separiert (Abb. 25 und Abb. 39). Tabelle A2 gibt einen Überblick über die durchschnittliche Gefäßwanddicke der bovinen Arteria und Vena umbilicalis sowie über die durchschnittliche Anzahl der Mediaschichten. Es wurden jeweils 3 Schnitte vermessen beziehungsweise ausgezählt. Die angegebenen Werte für die Anzahl der Mediaschichten können jedoch nur als Anhaltspunkte dienen, da die einzelnen Muskelzellschichten, vor allem in der dicht gepackten Arterie, nicht immer gut abgrenzbar sind.

Die Muskelzellen der Tunica media erscheinen im Querschnitt nicht einheitlich, so dass zwei verschiedene Zellformen vorkommen. Einmal handelt es sich um polygonale, oft sternförmige Zellen mit rundem Kern, zum anderen stellen sie sich als typisch lang gestreckte glatte Muskelzellen mit zigarrenförmigem, länglichem Kern dar. Durch das unterschiedliche Aussehen der Mediazellen lässt sich in der Arterie schon ab einer SSL von 6,5 cm eine „Zweischichtung“ in der Media erkennen, die mit zunehmender Größe des Gefäßes deutlicher wird. Dabei befinden sich zentral die polygonalen, wirt angeordneten Zellen, während peripher die zirkulär angeordneten, dicht zusammen liegenden, länglichen Muskelzellen lokalisiert sind (Abb. 26). Sehr vereinzelt treten jedoch zentral zwischen den polygonalen Zellen längliche Gefäßmuskelzellen auf. In den Venen ist eine derartige „Zweischichtung“ undeutlicher, da zentral nur wenige Schichten der polygonalen, ungeordneten Zellen zu erkennen sind und der Großteil der Gefäßwand aus zirkulär angeordneten, lang gestreckten Muskelzellen besteht. Ab einer SSL von 31,5 cm existieren stellenweise ausschließlich längliche Zellen in der Nabelvenenwand. Besonders in der Peripherie der Nabelvenen ist eine Bündelung und Verzweigung der Muskelzellen zu erkennen.

Eine Adventitia ist bei der Nabelarterie lichtmikroskopisch ab einer SSL von 6,5 cm vorhanden. Sie grenzt sich von der umliegenden WS durch die konzentrische Anordnung der Zellen und Kollagenfasern sowie dem erhöhten Zell- und Kollagenfasergehalt ab. Im Laufe der Trächtigkeit gewinnt sie an Zellschichten. Die Adventitia der Nabelvene stellt sich undeutlicher dar. Die peripheren Muskelzellen scheinen in die WS „auszulaufen“.

Vasa vasorum kommen in der Tunica media mit Regelmäßigkeit erst ab einer SSL von 20 cm vor. Die Gefäße liegen zwischen den Muskelzellen und sind zu Beginn zunächst peripher, später auch in mittleren Mediaregionen lokalisiert. Die Anzahl der Vasa vasorum steigt bis zum Geburtszeitpunkt kontinuierlich an (Abb. 25 und Abb. 39).

Kleine Hilfsgefäße im Bereich der Adventitia treten sehr zahlreich bereits ab einer SSL von 11 cm auf. Die Adventitiagefäße liegen meist in Gruppen zusammen und weisen bei älteren Feten eine drei- bis fünfschichtige Tunica media auf. Nervenfasern können in den Nabelgefäßen zu keinem Gestationszeitpunkt gefunden werden.

Die WS, das gallertige Bindegewebe des Nabelstrangs, besteht wie jedes Bindegewebe aus Zellen, Fasern und Grundsubstanz, wobei sich das Verhältnis der einzelnen Bestandteile im Laufe der Trächtigkeit ändert. Bei kleinen SSL stellt sich die WS verglichen mit älteren Feten zellreich und grundsubstanzreich dar. Jedoch kommt es im Laufe der Entwicklung zu einer Abnahme des Grundsubstanz- und Zellgehalts, während der Fasergehalt deutlich ansteigt. Jedoch existieren auch bei den prinzipiell zellärmeren, älteren Feten Bereiche, in denen es zu einer Anhäufung von Zellen kommt, wodurch die WS nicht homogen erscheint. Zellreiche Gebiete stellen die Region um den Urachus und um das Nabelzölom, die Adventitia der Gefäße sowie ein unter dem Amnionepithel befindlicher „subamniotischer“ Bereich dar. In der WS kleinerer SSL (bis 11 cm) kommen hauptsächlich polygonale bis runde Zellen mit rundem Kern vor. Gelegentlich treten jedoch auch längliche Zellen mit dünnen Zytoplasmafortsätzen auf. Bei älteren SSL steigt die Anzahl der länglichen Zellen in der WS an, es sind jedoch auch bei älteren SSL rundliche Zellen vorhanden. Die Zellen des subamniotischen Bereichs liegen sehr dicht und besitzen ab einer SSL von 11 cm das Aussehen von glatten Muskelzellen. Neben den Stromazellen der WS kommen vor allem in Urachus- und Gefäßnähe Mastzellen vor, die in der Toluidinblau-Färbung positiv reagieren (Abb. 21). Die zunächst feinen Kollagenfasern der WS werden zunehmend dicker und kompakter. Sie beginnen sich ab einer SSL von 20 cm zu dicht gepackten Bündeln zusammenzulagern. Ab einer SSL von 65 cm treten in der WS inselartige Bereiche auf, in denen es in der sonst zellarmen WS zur Anhäufung von WSZ und zur „wollknäulartigen“ Zusammenballung von Kollagenfasern kommt (Abb. 9).

Beim Rind befinden sich in der WS neben den Nabelgefäßen zahlreiche weitere kleine Gefäße. Im Laufe der fetalen Entwicklung steigt ihre Anzahl deutlich an, wobei die zunächst kapillarartigen Gefäße gegen Ende der Trächtigkeit bis zu 15 Mediaschichten aufweisen können. Die Gefäße liegen oft in Gruppen und befinden sich hauptsächlich im Bereich des Urachus, der Nabelgefäße und des Nabelzöloms.

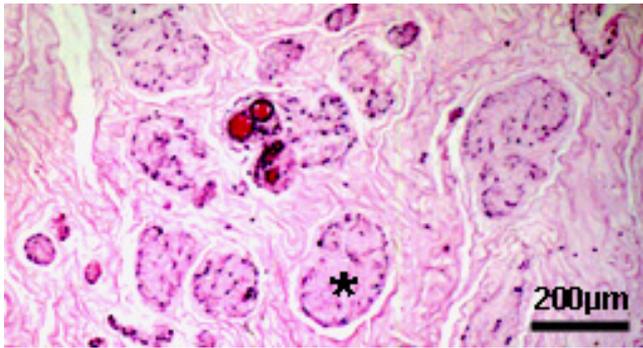


Abb. 9: Zellreiche, „inselartige“ Bereiche in der WS. Fetus mit 65 cm SSL, H.E..

Der Zölomspalt des Nabels ist in frühen Stadien (bis 6,5 cm SSL) teilweise epithelartig begrenzt (Abb. 7). Er ist im Extremfall bis zu einer SSL von 26 cm nachweisbar.

Der Rest des Dottersackganges stellt sich als kleine runde Struktur innerhalb des Zölomspalts dar. Er ist regelmäßig bis zu einer SSL von 6,5 cm vorhanden, kann aber auch noch bei Feten der SSL 15 cm und 26 cm beobachtet werden. Zunächst (2,5 cm SSL) besteht der noch lumenhaltige Dottersackrest aus zwei bis drei gut voneinander abgrenzbaren, flachen Zellschichten (Abb. 7, Abb. 31). Später hingegen handelt es sich um eine dichte, homogene Struktur, die von einem einschichtigen Epithel umgeben wird, wobei kein Lumen mehr erkennbar ist.

Das Amnionepithel des bovinen Nabelstrangs weist einschichtige und mehrschichtige Bereiche auf. Das einschichtige, meist isoprismatische Epithel ist azidophil und besitzt große runde Kerne, wobei stellenweise flache Zellen mit abgeflachtem Kern vorkommen. Bei größeren SSL (ca. ab 53 cm) lassen sich mikrovilliähnliche Zellfortsätze erkennen. Die mehrschichtigen Bereiche stellen sich zunächst als deutlich begrenzte „Epithelwarzen“ (Plaques) dar, deren Anzahl und Schichten im Laufe der Entwicklung zunehmen. So bestehen sie bei 2,5 cm SSL aus ca. zwei bis vier Zellschichten, während bei älteren Stadien bis zu 25 gezählt werden können. Neben breit aufsitzenden, halbkugeligen Warzen kommen gestielte und fingerförmige vor, die aber beide denselben Aufbau aufweisen. Basal existieren azidophile, iso- bis hochprismatische Zellen mit rundem Kern. Die restlichen Zellen sind sehr groß, polygonal und besitzen ein helles Zytoplasma (Abb. 10). Ab einer SSL von 42 cm scheinen die dicht stehenden Warzen zu fusionieren, so dass nun neben den lokal begrenzten Warzen auch über größere Strecken mehrschichtige Epithelbereiche auftreten. Gegen Ende der Trächtigkeit überwiegen diese Bereiche, so dass kaum mehr lokal begrenzte Warzen vorkommen. Dabei handelt es sich wie in den Warzen basal um isoprismatische, azidophile Zellen, während die übrigen polygonalen und größer erscheinenden Amnionepithelzellen ein helles Zytoplasma besitzen. Ab einer SSL von ca. 53 cm beginnt bei den mehrschichtigen

Bereichen ein Verhornungsprozess, der bis zum Geburtstermin weiter fortschreitet. Die Zellen flachen zunächst ab und die Kerne beginnen sich aufzulösen. Vereinzelt sind Keratohyalin granula vorhanden. Die Zellgrenzen bleiben zunächst noch bestehen. Bei geburtsreifen Stadien befindet sich apikal eine homogene, stark azidophile Hornschicht, in der weder Zellgrenzen, noch Kerne zu erkennen sind. Stellenweise kommt es zur Abschilferung dieser Hornschichten (Abb. 11). Bei älteren Stadien können stellenweise weiterhin einschichtige Epithelbereiche beobachtet werden.

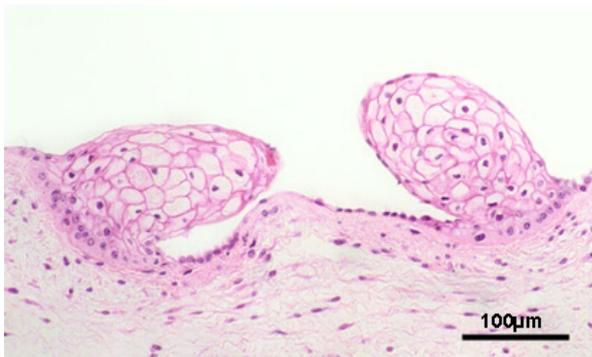


Abb. 10: Amnionepithelwarzen (Plaques) des bovinen Nabelstrangs. Fetus mit 15 cm SSL, H.E..

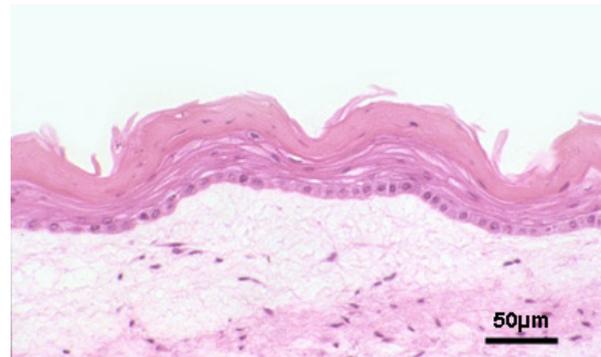


Abb. 11: Verhornendes Amnionepithel des bovinen Nabelstrangs. Fetus mit 73 cm SSL, H.E..

Der Urachus ist beim Rind im Nabelstrang bis zur Geburt vorhanden. Das Epithel wird von zellreicher WS und ab einer SSL von 26 cm auch von einem zirkulären Ring aus glatten Muskelzellen umgeben (Abb. 28 und 36). Das Urachusepithel, welches bis zu einer SSL von 15 cm einschichtig ist, weist im Laufe der Entwicklung (ab 31,5 cm SSL) bis zu fünf Zellschichten auf. Neben flachen bis isoprismatischen, azidophilen Zellen mit rundem Kern kommen große, polygonale Zellen mit sehr hellem Zytoplasma und großem runden Kern vor. Azidophile und helle Zellen existieren nebeneinander, wobei bis zu einer SSL von 73 cm helle Zellen deutlich überwiegen, ab diesem Stadium jedoch fast ausschließlich azidophile Zellen vorkommen. Bei Feten zwischen 31,5 cm und 65 cm kommt es im mehrschichtigen Epithel zur „Säulenbildung“. Dabei werden fünf bis sechs einzelne Zellen säulenartig übereinander gestapelt, die somit ins Lumen ragen (Abb. 12).

Wie bereits bei der Beschreibung der WS erwähnt, ist die Region um das Urachusepithel zellreicher als die umliegende WS. Weiterhin kommen in dieser Region Mastzellen und verhältnismäßig viele Gefäße vor. Bis zu einer SSL von 15 cm handelt es sich bei den Stromazellen um kleine, relativ undifferenzierte Zellen mit rundem Kern. Ab dieser Größe treten vereinzelt Zellen auf, die einen länglichen Kern sowie einen länglichen, schmalen Zytoplasmaschwanz besitzen und an glatte Muskelzellen erinnern. Die Muskelzellen werden

zahlreicher und größer, bis sie schließlich ab einer SSL von 26 cm einen zirkulären Ring um den Urachus gebildet haben (Abb. 28).

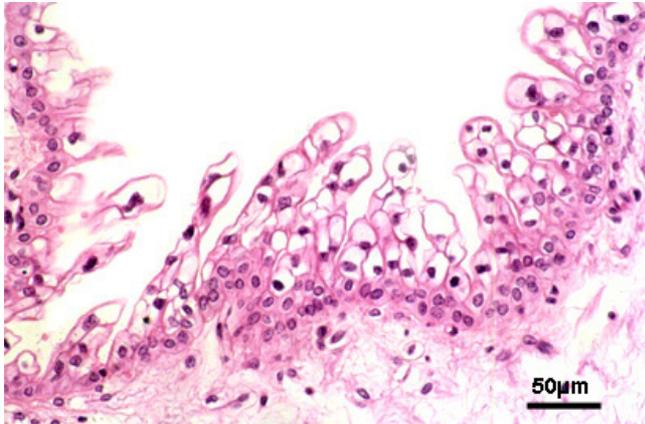


Abb. 12: Mehrschichtiges, „säulenartiges“ Urachusepithel. Fetus mit 53 cm SSL, H.E..

4.2.2. PAS-Färbung

Die Epithelzellen des Amnions sind zu jedem Gestationszeitpunkt deutlich PAS positiv. Eine Ausnahme bilden die Basalzellen mehrschichtiger Bereiche und Warzen sowie einige verhornte Bereiche bei älteren SSL, bei denen keine Reaktion erkennbar ist. Verglichen mit einschichtigen Bereichen, ist die PAS Reaktion im mehrschichtigen Epithel meist stärker ausgeprägt. Bei den polygonalen Zellen der Warzen färbt sich teilweise nur die Zellmembran an, überwiegend reagiert jedoch das gesamte Zytoplasma. Die Basallamina ist in der PAS-Färbung gut zu erkennen. Nach dem Amylaseverdau ist das gesamte Epithel ausnahmslos negativ (Abb. 13).

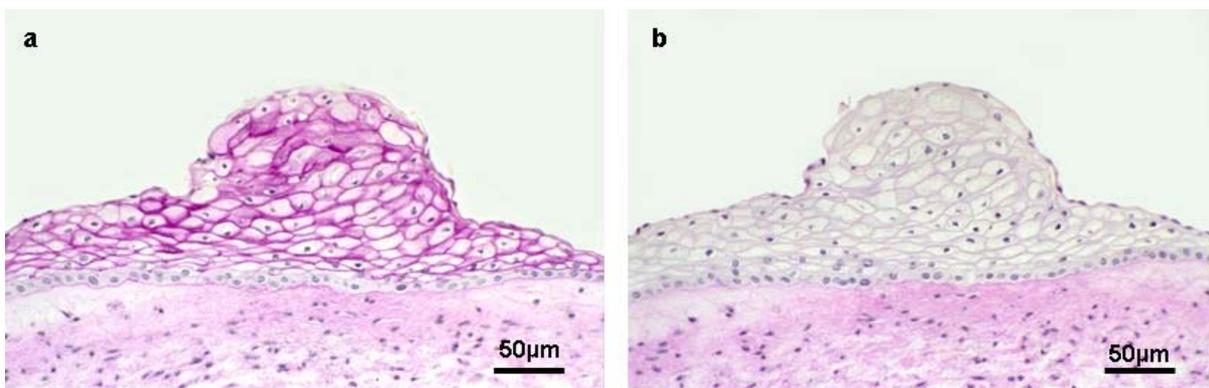


Abb. 13: Amnionepithelwarze in der PAS-Färbung.

Bild a: Deutlich positive Reaktion der Epithelzellen ohne Amylase. Bild b: Nach dem Amylaseverdau keine Reaktion der Epithelzellen mehr sichtbar. Die subamniotische WS ist in beiden Bildern positiv. Fetus mit 20 cm SSL.

Das Urachusepithel färbt sich bis zu einer SSL von 15 cm in der PAS-Färbung nicht an. Ab diesem Zeitpunkt verändert sich jedoch das Bild vollständig, da nun alle Urachusepithelzellen PAS-positiv erscheinen. Die Reaktion beschränkt sich zunächst auf die Zellmembranen, weitet sich aber ab der SSL von 31,5 cm auf das gesamte Zytoplasma aus. Wie im Amnionepithel, existieren auch im Urachusepithel PAS-negative Basalzellen. Nach Behandlung mit Amylase ist keine positive Reaktion mehr vorhanden (Abb. 14).

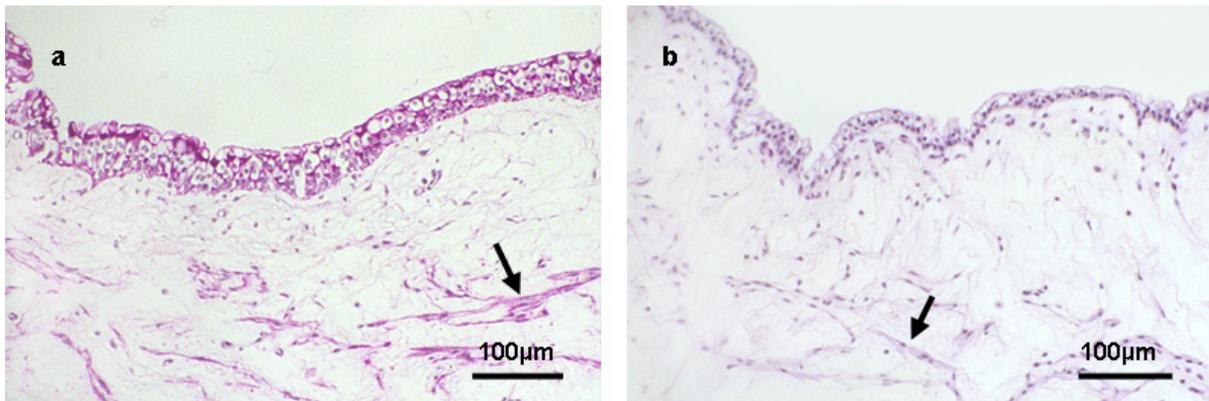


Abb. 14: Urachus in der PAS-Färbung.

Bild a: Positive Reaktion der Urachusepithelzellen und der Urachusmuskulatur (Pfeil) ohne Amylasebehandlung.

Bild b: Nach dem Amylaseverdau keine PAS-positiven Zellen mehr erkennbar. Fetus mit 31,5 cm SSL.

Das Bindegewebe und die Muskulatur des Urachus stellen sich in der PAS-Färbung nicht einheitlich dar. Tendenziell lässt das Bindegewebe eher bei kleineren SSL eine positive PAS-Reaktion erkennen, während dieser Bereich in späteren Stadien nicht mehr oder nur schwach reagiert. Mit Ausnahme des Fetus der SSL 65 cm, sind die Muskelzellen des Urachus PAS-positiv (Abb. 14). Allerdings variiert die Stärke der Reaktion von SSL zu SSL beträchtlich. Der Amylaseverdau führt bei Bindegewebe und Muskulatur des Urachus zu unterschiedlichen Ergebnissen. Dabei kann entweder eine Veränderung ausbleiben oder aber eine geringe beziehungsweise deutliche Abschwächung der Reaktion beobachtet werden.

Die glatten Muskelzellen der Nabelvene und Nabelarterie sind während der gesamten Entwicklung PAS positiv, wobei die Reaktion auch hier verschieden stark ausgeprägt ist (Abb. 15). Dabei ist keine entwicklungsbedingte Tendenz zu erkennen und auch innerhalb eines Gefäßes können stark und schwach gefärbte Muskelzellen nebeneinander vorkommen. Durch den Amylaseverdau wird die Reaktion meist abgeschwächt.

Die interzellulären Fasern der Nabelgefäße sind in der PAS-Färbung gut erkennbar, sie reagieren jedoch schwächer als die glatten Muskelzellen. In der Adventitia der Nabelgefäße ist meist keine Reaktion vorhanden.

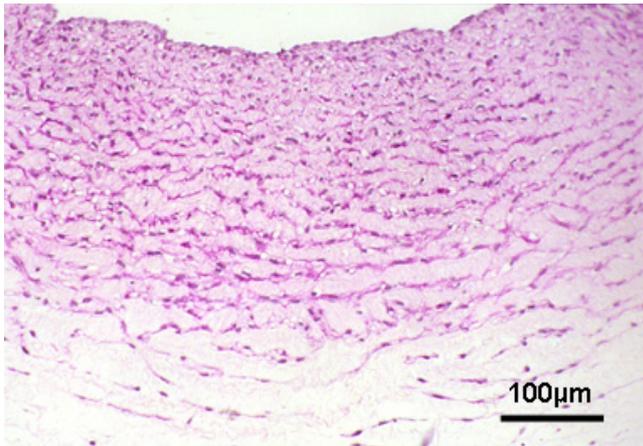


Abb. 15: PAS-positive Muskelzellen der Nabelvene. Fetus mit 15 cm SSL.

Innerhalb der WS ist ein räumlicher und zeitlicher Reaktionsgradient zu beobachten. Die Fibroblasten und Fasern des zentralen Bereichs sind nur schwach angefärbt, während sie in der Peripherie, v.a. direkt unter dem Amnionepithel, stark reagieren. Der Amylaseverdau führt nur im zentralen Bereich zu einer geringgradigen Abschwächung, peripher kann dadurch keine Veränderung hervorgerufen werden. Bei zwei Feten (15 cm und 31,5 cm SSL) ist die gesamte WS negativ. Eine Übersicht über die Ergebnisse der PAS-Färbung liefern die Tabellen A3 und A4.

4.2.3. Elastika-Färbung nach Weigert (mit Resorcinfuchsin)

In der Nabelschnur des Rindes können sowohl zwischen den Muskelzellen der Nabelgefäße als auch in der WS elastische Fasern mit Resorcinfuchsin sichtbar gemacht werden.

Prinzipiell gilt, dass die Anzahl und die Dicke der elastischen Fasern im Laufe der Trächtigkeit ansteigen.

In den Nabelgefäßen sind die ersten elastischen Fasern ab einer SSL von 11 cm erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt stellen sie sich als ganz feine, kurze Fasern dar. In Nabelvenen befinden sie sich zu Beginn nur in den mittleren Mediaregionen. In den Arterien sind die elastischen Fasern zusätzlich in den inneren Wandbereichen vorhanden, so dass zumindest bei kleineren Stadien die Nabelarterie mehr elastische Elemente zu besitzen scheint. Im Laufe der Entwicklung (zirka ab 20 cm SSL) sind auch bei den Venen in den innersten Mediaschichten elastische Fasern erkennbar. Die stark gewellten elastischen Fasern werden in Nabelarterie und Nabelvene zunehmend dicker und haben teilweise perlschnurartiges Aussehen. In der peripheren Gefäßwand sind die elastischen Fasern spärlicher vorhanden. Kräftige, lang gezogene, durchgehende Fasern treten in der Peripherie nur in der geburtsreifen Vene auf.

Die Ausbildung der Lamina elastica interna der Nabelgefäße unterscheidet sich von anderen Körpergefäßen. Sie fehlt in den Nabelarterien, ist aber in den Nabelvenen ab einer SSL von 73 cm deutlich erkennbar. Ihre Dicke steigt bis zur Geburt noch an, so dass sie in der geburtsreifen Vena umbilicalis in ihrer ausgeprägtesten Form vorliegt. Die Nabelarterien der älteren Feten (73 cm und 89 cm SSL) besitzen zwar ebenfalls nahe dem Endothel elastische Fasern. Sie sind jedoch nicht so dick und teilweise unterbrochen, so dass man nicht von einer durchgehenden Lamina elastica interna sprechen kann (Abb. 16).

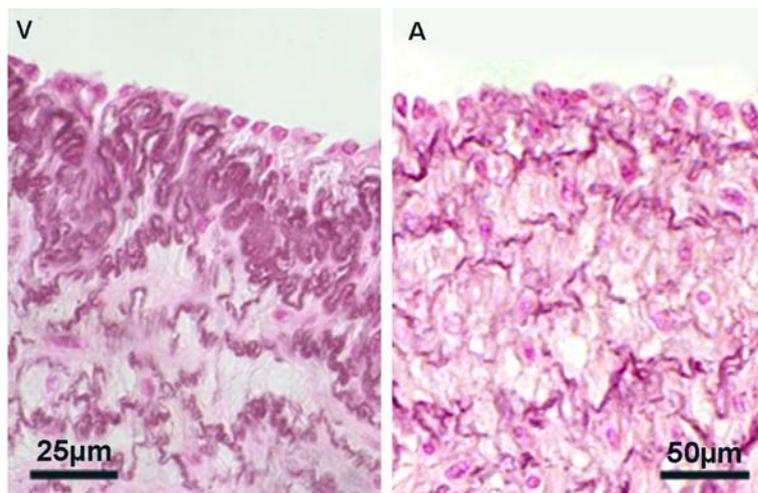


Abb. 16: Die Nabelvene (V) besitzt verglichen mit der Nabelarterie (A) eine deutlich ausgebildete Lamina elastica interna. Fetus mit 89 cm SSL, Elastika-Färbung nach Weigert.

In der Adventitia der Nabelgefäße lassen sich eindeutig positive Fasern erst ab einer SSL von 42 cm darstellen, wobei es sich meist um sehr feine Fasern handelt. Beim Fetus von 89 cm SSL ist die Adventitia der Nabelvene und der Nabelarterie kaum mehr von elastischen Fasern durchzogen.

In der WS können erstmals ab einer SSL von 20 cm eindeutig Resorcin-fuchsin-positive Strukturen nachgewiesen werden (Abb. 17). Zunächst handelt es sich um kleine, punktförmige Gebilde, bei späteren Stadien (26 cm SSL) sind feine, vereinzelte Fasern erkennbar. Die Fasern nehmen schnell an Dicke zu, bleiben aber kurz. Prinzipiell sind die Fasern eher spärlich in der WS vertreten, liegen meist einzeln und lassen keine bevorzugte Orientierungsrichtung erkennen. Ihre Anzahl steigt im Laufe der Entwicklung nur leicht an. Unmittelbar unter dem Amnionepithel sowie in Urachusnähe kommt es tendenziell zu einer Anhäufung Resorcin-fuchsin-positiver Fasern. Die kleinen Gefäße der WS weisen zwischen den Schichten der Tunica muscularis ebenfalls elastische Fasern auf. Bei einigen dieser Gefäße ist eine deutliche Lamina elastica interna zu erkennen.

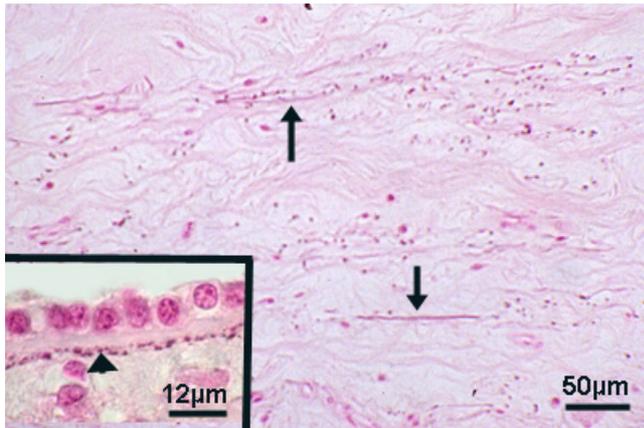


Abb. 17: Die Pfeile weisen auf elastische Fasern in der WS. Der vergrößerte Bereich zeigt die unter dem Amnionepithel lokalisierten elastischen Fasern (Pfeilspitze). Fetus mit 89 cm SSL, Elastika-Färbung nach Weigert.

4.2.4. Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0

Die zellulären Anteile des Nabelstrangs sind in der Alcianblau-Färbung (AB-Färbung) ausnahmslos negativ. Die positive Reaktion beschränkt sich deshalb auf die interzellulären Anteile.

Bei der AB-Färbung kann in der WS im Laufe der Entwicklung eine gravierende Veränderung beobachtet werden. Bis zu einer SSL von 26 cm ist die WS bei einem pH von 2,5 stark positiv (Abb. 18), während sie ab einer SSL von 31,5 cm größtenteils negativ erscheint. Der negative Reaktionsausfall beginnt um die Arterien und breitet sich dann nach zentral und peripher immer weiter aus. Ein deutlich positiver subepithelialer Bereich unter dem Amnionepithel sowie einige schwache Reaktionen in den WS-Inseln bleiben jedoch bis zum Geburtszeitpunkt erhalten. Die Durchführung der AB-Färbung bei einem pH-Wert von 1,0 führt bei den kleinen SSL (2,5 cm und 6,5 cm) lediglich zu einer minimalen Veränderung. Bei späteren Stadien (11 cm bis 26 cm SSL) wird die Reaktion in der WS bei einem pH-Wert von 1,0 stark abgeschwächt. Stellenweise kann gar keine Reaktion mehr beobachtet werden (Abb. 18). Davon ausgenommen ist bei Stadien ab einer SSL von 26 cm der subepitheliale Bereich, der durch die Senkung des pH-Wertes kaum beeinflusst wird und auch bei einem pH-Wert von 1,0 deutlich blau gefärbt ist. Die WS in der Urachusregion ist bei einem pH von 2,5 bei allen SSL meist stark positiv und ist somit ab einer SSL von 31,5 cm deutlich von der übrigen nur schwach reagierenden oder negativen WS abgrenzbar. Bei einem pH-Wert von 1,0 führt die AB-Färbung erst ab einer SSL von 31,5 cm zu einer negativen Reaktion (Abb. 19).

Das interzelluläre Bindegewebe der Nabelgefäße ist bei pH 2,5 prinzipiell AB-positiv. Dabei sind die zentralen Anteile der Nabelgefäße tendenziell etwas intensiver blau gefärbt. Bei pH 1,0 kommt es meist nur zu einer minimalen Veränderung, wobei die Abschwächung der

Reaktion in den peripheren Anteilen der Nabelvene meist am stärksten ausgeprägt ist (Abb. 18). Dabei stellt die geburtsreife Nabelvene eine Ausnahme dar, die bei pH-Wert-Erniedrigung keine positive Reaktion mehr aufweist (Übersicht in Tabelle A5 und A6).

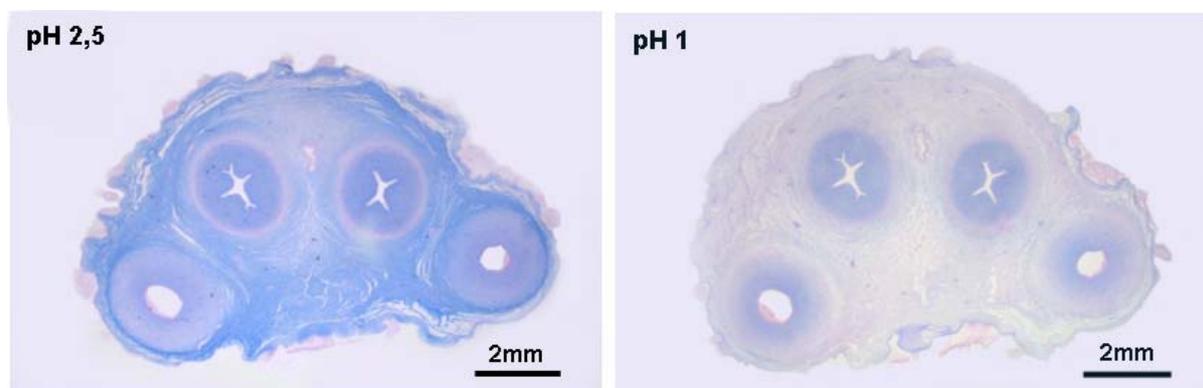


Abb. 18: Übersicht über die Nabelschnur in der Alcianblau-Färbung.

Bei einem pH-Wert von 2,5 erscheinen WS und Gefäße kräftig blau. Bei einem pH-Wert von 1,0 ist die Reaktion vor allem in der WS deutlich schwächer. Fetus mit 20 cm SSL.

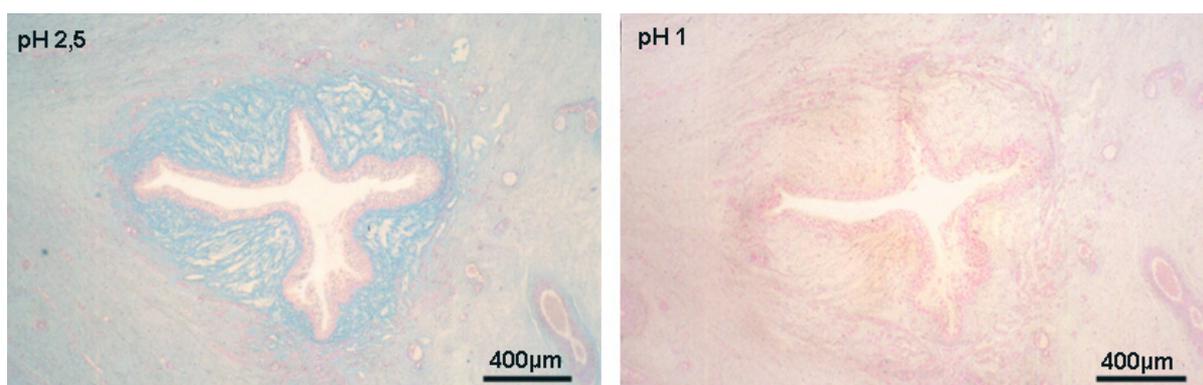


Abb. 19: Urachus in der Alcianblau-Färbung.

Bei einem pH-Wert von 2,5 hebt sich der der WS-Bereich um den Urachus von der restlichen WS durch eine kräftigere Reaktion ab. Bei einem pH-Wert von 1,0 ist keine Reaktion mehr erkennbar. Fetus mit 53 cm SSL.

4.2.5. Versilberung nach Gomori

Prinzipiell gilt, dass die in der Gomori-Färbung braun bis schwarz erscheinenden retikulären Fasern im Laufe der Trächtigkeit quantitativ zunehmen.

Das Endothel sowie das Urachus- und Amnionepithel stellen sich silbrig-schwarz dar.

Die Nabelgefäße zeigen bis zu einer SSL von 15 cm keine positiven Fasern. Ab diesem Zeitpunkt erscheinen in der Media der Nabelgefäße feine schwarze argyrophile Fasern. Je älter der Fetus, desto häufiger und dicker werden die argyrophilen Fasern. Die Fasern umspinnen auch die glatten Muskelzellen der Nabelgefäße.

In der WS können erst ab einer SSL von 65 cm deutlich argyrophile Fasern beobachtet werden. Sie kommen gehäuft in den „WS-Inseln“ vor. Im subepithelialen Bereich unter dem Amnion sind keine retikulären Fasern vorhanden. Die Mediazellen der WS-Gefäße sind stets dicht von argyrophilen Fasern umspinnen (Abb. 20).

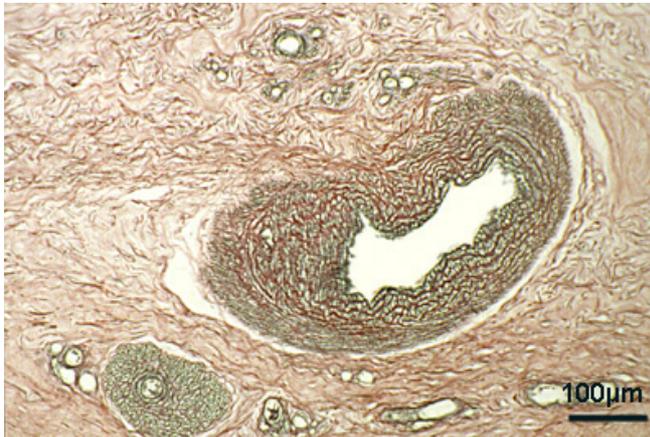


Abb. 20: Feine schwarze argyrophile Fasern in der WS und in der Tunica media der WS-Gefäße. Fetus mit 73 cm SSL, Versilberung nach Gomori.

4.2.6. Toluidinblau-Färbung

Die Färbung wurde nur an Nabelschnüren von Feten mit der SSL 11 cm, 31,5 cm, 53 cm und 89 cm durchgeführt. Bei allen untersuchten Stadien existieren neben rein blauen Stromazellen der WS Mastzellen mit lila Granula im Zytoplasma (Abb. 21). Die positiven Zellen sind ausschließlich im zentralen Bereich um den Urachus und um die Nabelarterien lokalisiert. In der Peripherie der WS können keine Toluidinblau-positiven Zellen nachgewiesen werden.

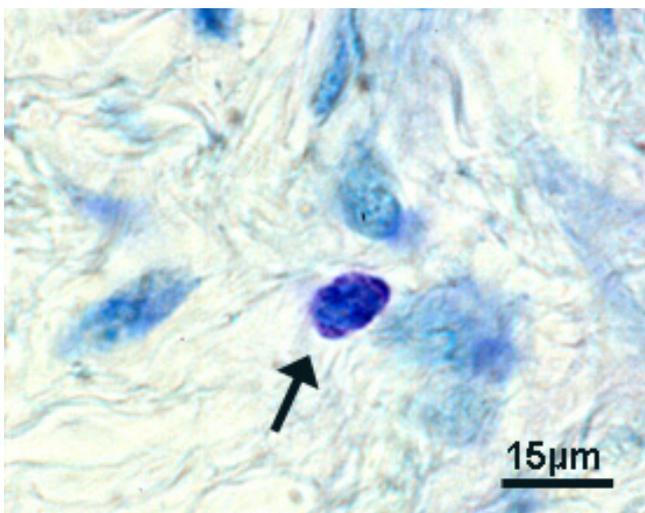


Abb. 21: Mastzelle in Urachusnähe (Pfeil). Fetus mit 89 cm SSL, Toluidinblau-Färbung.

4.3. Immunhistologische Färbungen

Die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchungen sind zur Übersicht in den Tabellen A7 bis A12 zusammengestellt. Die Negativkontrollen zeigen bei keiner Untersuchung unspezifische Reaktionen, während die entsprechenden Positivkontrollen deutlich reagieren.

4.3.1. Immunzytochemischer Nachweis von bovinem Progesteronrezeptor (bPR)

Positive Reaktionen sind im Zytoplasma der Endothelzellen und vereinzelt auch im Zytoplasma der Amnionepithelzellen zu beobachten. Die entsprechenden Zellkerne zeigen keine Reaktion. Die restlichen Zelltypen des bovinen Nabelstrangs (WS-Zellen, Gefäßmuskelzellen, Adventitiazellen, Muskel- und Epithelzellen des Urachus) sind zu jedem Entwicklungszeitpunkt negativ.

Ab einer SSL von 11 cm kann bei allen Endothelzellen der Nabelarterie und Nabelvene bPR immunhistochemisch nachgewiesen werden (Abb. 22). Bei kleineren SSL treten neben bPR-positiven Endothelzellen immer wieder bPR-negative auf.

Die Endothelzellen der WS-Gefäße sind ebenfalls meist positiv, wobei sich erst ab einer SSL von 42 cm das gesamte Zytoplasma anfärbt. Daneben können auch vollständig negativ erscheinende WS-Gefäße vorkommen, die im Laufe der Entwicklung jedoch seltener werden.

Die Epithelzellen des Amnionüberzugs stellen keine homogene Zellpopulation dar.

Einschichtige Bereiche sind größtenteils negativ. Dazwischen treten aber immer wieder Zellen auf, die im Zytoplasma eine positive Reaktion zeigen. Die Stärke der Immunreaktion variiert, so dass neben schwach positiven Zellen auch kräftig gefärbte Amnionepithelzellen existieren. Bei einigen SSL (11 cm und 31,5 cm) kann im Amnionepithel immunhistologisch kein bPR detektiert werden. Bei den Warzen und mehrschichtigen Bereichen färben sich ausschließlich die Basalzellen an (Abb. 23). Die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung von bPR sind in Tabelle A7 zusammengefasst.

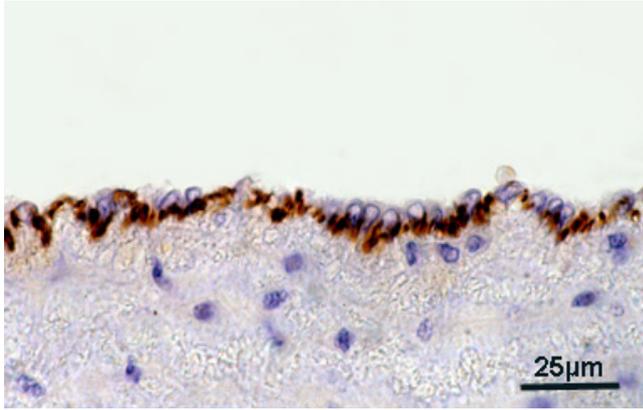


Abb. 22: bPR im Zytoplasma der Endothelzellen der Nabelvene. Fetus mit 73 cm SSL.

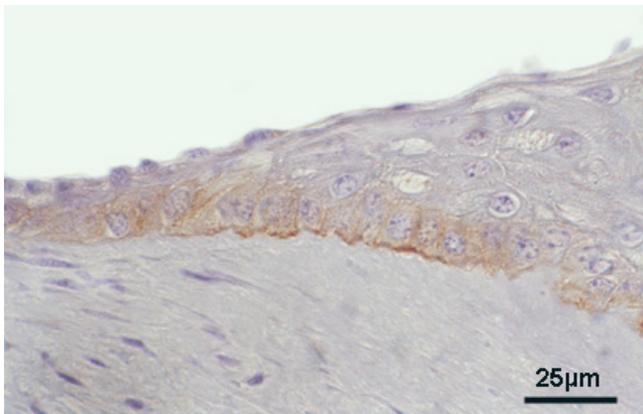


Abb. 23: bPR in einer Amnionepithelwarze. Schwache, aber deutliche Immunreaktion im Zytoplasma der Basalzellen. Fetus mit 42 cm SSL.

4.3.2. Immunzytochemischer Nachweis von bovinem Östrogenrezeptor α (bER α)

Immunhistochemisch kann bER α im Nabelstrang des Rindes zu keinem Zeitpunkt der Entwicklung nachgewiesen werden. Eine durchgeführte Positivkontrolle am Rindereuter zeigt jedoch eine deutliche Reaktion.

4.3.3. Immunzytochemischer Nachweis von α -smooth-muscle-Aktin (α SMA)

Alle im Nabelstrang vorhandenen Endothelzellen sowie Epithelzellen des Urachus und des Amnions erscheinen beim immunhistochemischen Nachweis von α SMA negativ. Im Gegensatz dazu ist im Zytoplasma der glatten Gefäßmuskelzellen und der Urachusmuskelzellen zu jedem Entwicklungszeitpunkt eine positive Reaktion erkennbar.

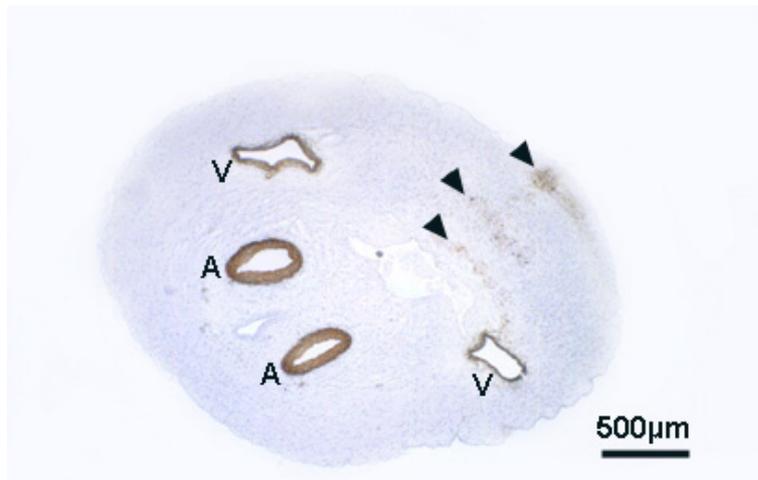


Abb. 24: Expression von α SMA in der Nabelschnur eines Fetus mit 2,5 cm SSL. Die Gefäßwände der Nabelarterien (A) und Nabelvenen (V) reagieren sehr deutlich. Im Ventralbereich der WS sind ebenfalls vereinzelt α SMA-positive WS-Zellen erkennbar (Pfeilspitzen).

Obwohl alle Mediaschichten der Nabel- und WS-Gefäße deutlich positiv sind, scheint die Immunantwort in den peripheren Schichten am stärksten ausgeprägt zu sein. Bei Nabelgefäßen früher Stadien (bis 6,5 cm SSL) sowie bei kleinen WS-Gefäßen ist in der gesamten Media eine einheitlich starke Reaktion vorhanden (Abb. 24). Mithilfe des Nachweises der α SMA-Expression lässt sich die Anordnung der Gefäßmuskelzellen und die Verteilung der Vasa vasorum in den Nabelgefäßen gut erkennen (Abb. 25 und Abb. 26).

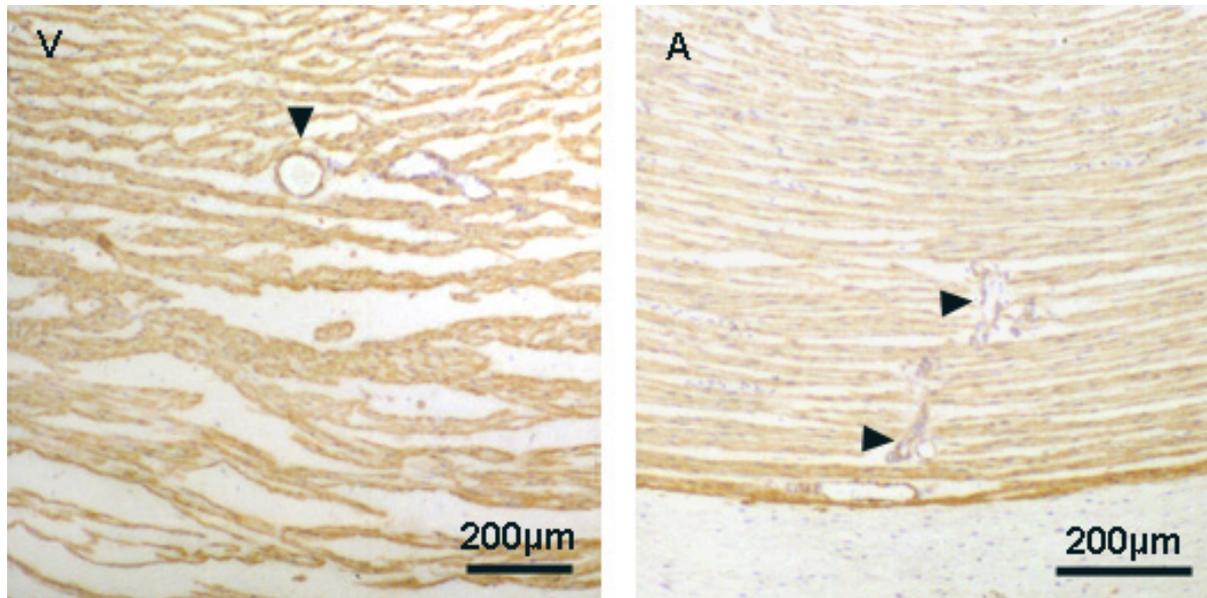


Abb. 25: α SMA in den Nabelgefäßen.

Locker separierte Muskelzellen in der Nabelvene (V), dicht gepackte Muskelzellen in der Nabelarterie (A). In der Tunica media befinden sich Vasa vasorum (Pfeilspitzen). Fetus mit 53 cm SSL.

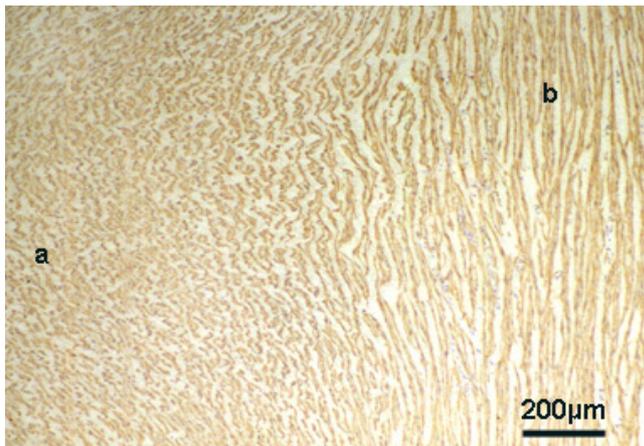


Abb. 26: α SMA: Tunica media der Nabelarterie. Zentral kleine, unregelmäßig angeordnete Zellen (a); peripher lang gezogene, zirkulär angeordnete Muskelzellen (b). Fetus mit 53 cm SSL.

In der WS ist überwiegend keine positive Reaktion erkennbar. Ab einer SSL von 6,5 cm beginnt sich jedoch unmittelbar unter dem Amnionepithel eine Schicht positiver Zellen zu formieren. Die positive Immunantwort ist zuerst unter den mehrschichtigen Epithelwarzen erkennbar. Ab einer SSL von 11 cm treten vereinzelt auch α SMA-positive Zellen unter einschichtigen Epithelbereichen auf, wobei anfangs die Anzahl positiv reagierender Zellschichten unter den Warzen größer ist. Ab einer SSL von 42 cm hat sich im subamniotischen Bereich der WS eine ringsherum gleichbreite Schicht α SMA-exprimierender, länglicher Muskelzellen entwickelt, so dass in der Peripherie der WS ein „sphinkterähnlicher“, vollständig geschlossener Muskelring entstanden ist (Abb. 27).

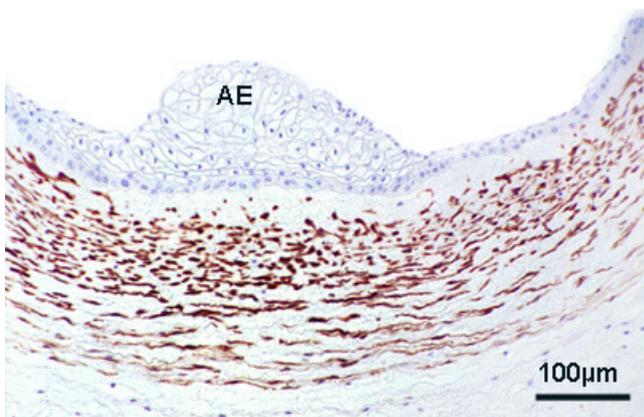


Abb. 27: „Muskel sphinkter“ in der WS. Breite Schicht α SMA-positiver WS-Zellen subepithelial unter dem Amnionepithel (AE). Fetus mit 53 cm SSL.

Eine kleine Ausnahme bezüglich des α SMA-Expressionsmusters in der WS bildet die Nabelschnur des Fetus mit der SSL 2,5 cm. Die WS besitzt neben einem unmittelbar unter dem ventralen Amnionepithel lokalisierten positiven Zellhaufen zusätzlich deutlich positive Fibrozyten in der Nähe des Zölomspaltes (Abb. 24).

Bis zur Entstehung einer zirkulär angeordneten α SMA-positiven Urachusmuskulatur variiert das Reaktionsmuster in der Gegend des Urachus und in der Arterienadventitia. Prinzipiell

weist die Adventitia der Nabelarterie keine positiven Zellen auf. Ab einer SSL von 11 cm sind aber die dem Urachus benachbarten, peripheren Adventitiazellen der Nabelarterie deutlich positiv, so dass optisch ein fließender Übergang zu den ebenfalls α SMA-exprimierenden WS-Zellen der Urachusgegend entsteht. Ab einer SSL von 20 cm ist in der Adventitia der Nabelarterie kein immunhistochemischer Nachweis von α -smooth-muscle-Aktin mehr möglich, so dass nur noch WS-Zellen im Bereich des Urachus positiv reagieren. Zu diesem Zeitpunkt beginnen sich die Zellen zu elongieren und die Gestalt von Muskelzellen anzunehmen. Ab einer SSL von 26 cm hat sich ein α SMA-positiver Muskelring um den Urachus herum gebildet (Abb. 28).

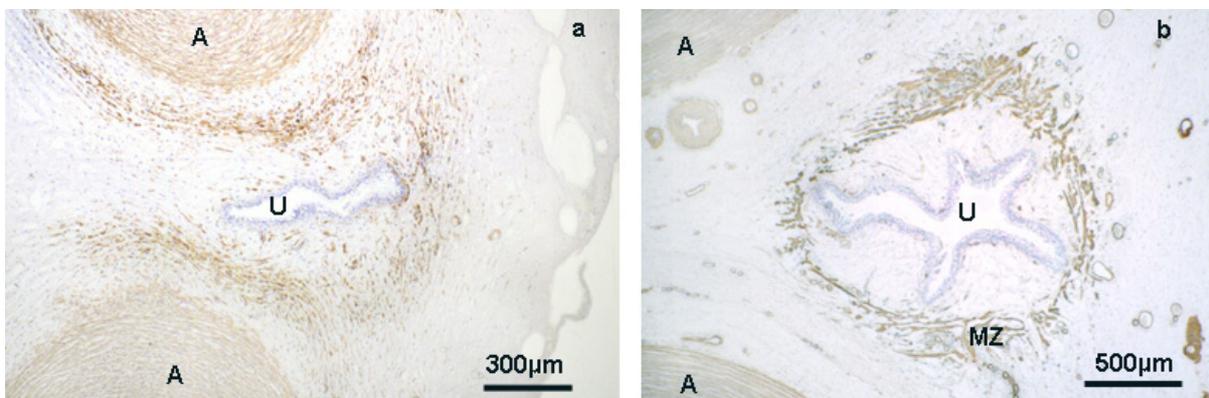


Abb. 28: α SMA: Entwicklung der Urachusmuskulatur.

Bild a: α SMA-positive Zellen im Bereich des Urachus (U) und in der Adventitia der Nabelarterien (A) bei einer SSL von 11 cm. Bild b: vollständig ausgebildeter α SMA-positiver Muskelring bei einem Fetus von 53 cm SSL. Die Adventitiazellen der Nabelarterien (A) sind zu diesem Zeitpunkt negativ.

Bei einer SSL von 2,5 cm lässt sich α SMA immunhistologisch in den inneren und mittleren Zellschichten des Dottersackstieles nachweisen, während die peripheren Zellen kein α SMA exprimieren (Abb. 31). Bei den folgenden Stadien ist keine positive Reaktion erkennbar.

Tabelle A8 gibt eine Übersicht über die Verteilung von α SMA in der bovinen Nabelschnur zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten.

4.3.4. Immunzytochemischer Nachweis von Pan-Cytokeratin (Pan-CK)

Die Epithelzellen des Amnions und des Urachus sind ohne Ausnahme stark positiv, wobei sich das gesamte Zytoplasma färbt (Abb. 29).

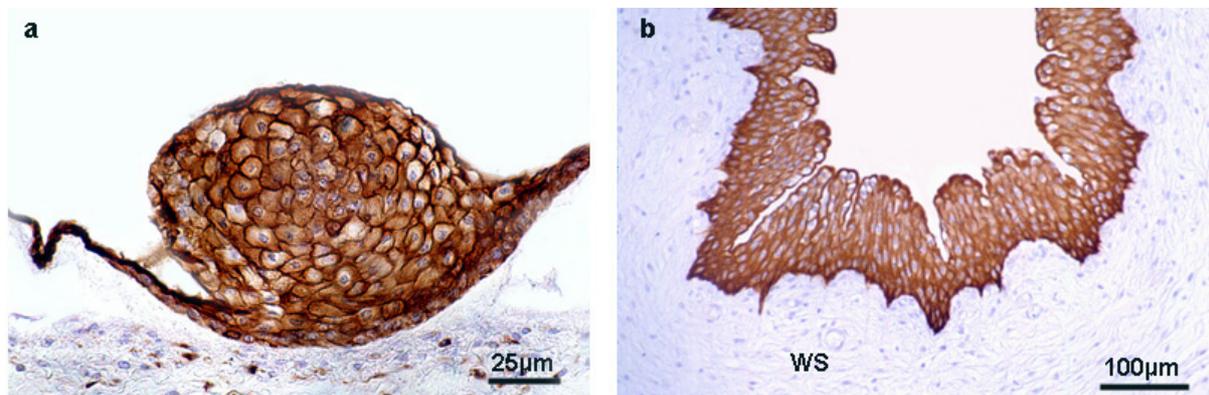


Abb. 29: Pan-CK im Epithel des Amnions (Bild a, SSL 15 cm) und des Urachus (Bild b, SSL 65 cm). Die Zellen der WS sind bei einer SSL von 65 cm vollständig negativ.

Im Gegensatz dazu weisen die Endothelzellen niemals eine Immunreaktion auf. Daneben kommt Pan-CK in einigen glatten Muskelzellen der Nabelgefäße sowie in einigen Zellen der WS und der Adventitia vor (Abb. 30). Allerdings ist bei diesen Zellpopulationen der immunhistochemische Nachweis von Pan-CK nur bei frühen Stadien möglich, wobei die einzelnen Zellarten jeweils zu unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten negativ werden. In der Gefäßwand der Nabelarterie und Nabelvene kann Pan-CK bis zu einer SSL von 6,5 cm nachgewiesen werden. Es reagieren jedoch nur periphere Zellen der Gefäßwand positiv (Abb. 30). Dabei nimmt die Anzahl positiver Zellen im Laufe der Entwicklung ab. Entsprechendes gilt auch für die Fibrozyten der Adventitia, wobei vereinzelt bis zu einer SSL von 11 cm positive Adventitiazellen gefunden werden können.

In der WS ist ein Nachweis von Pan-CK bis zu einer SSL von 26 cm möglich, wobei folgendes Expressionsmuster erkennbar ist: Bei einer SSL von 2,5 cm ist fast jede Zelle in der WS stark Pan-CK-positiv (Abb. 30), während bei 6,5 cm SSL schon deutlich mehr CK-negative Fibrozyten auftreten. Diese Entwicklungstendenz schreitet besonders in den peripheren Bereichen fort, so dass bei einer SSL von 11 und 15 cm immunhistochemisch angefärbte Fibrozyten hauptsächlich in den zentralen Bereichen zwischen den Nabelgefäßen, um den Urachus und besonders deutlich in der Nähe des Zöloms vorkommen. Am längsten bleiben CK-positive Fibrozyten schließlich in der dem Zölomspalt benachbarten WS erhalten.

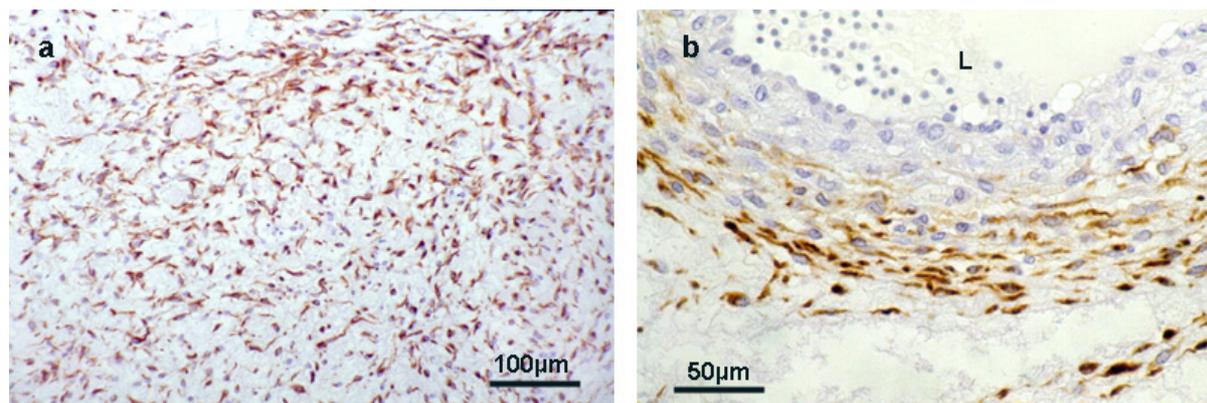


Abb. 30: Pan-CK in WSZ (Bild a) und in Zellen der peripheren Gefäßwand der Nabelarterie. Lumennahe (L) Zellen sind weitgehend negativ. Fetus mit 2,5 cm SSL.

In den Resten des Dottersackstiels existieren ebenfalls Zellen mit positiver Immunantwort auf Pan-CK. Da der Dottersackstiel Degenerationserscheinungen unterliegt, ist es schwierig bei den einzelnen SSL ein einheitliches Reaktionsmuster zu erkennen. Prinzipiell besteht aber die äußerste Schicht aus CK-positiven Zellen. In dem dreischichtigen Dottersackstiel der SSL 2,5 cm kommen in der innersten Schicht CK-negative sowie CK-positive Zellen vor, während die mittlere Zellschicht keine Reaktion aufweist (Abb. 31).

Tabelle A9 liefert eine Übersicht über die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung von Pan-CK.

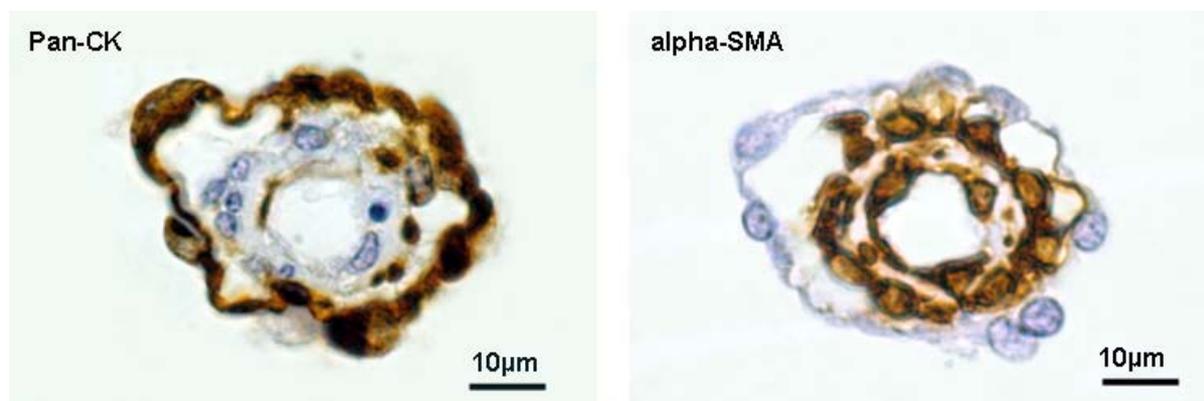


Abb. 31: Pan-CK-Expression und α SMA-Expression in den Resten des Dottersackganges bei einem Fetus mit 2,5 cm SSL.

4.3.5. Immunzytochemischer Nachweis von Vimentin

Beim immunhistologischen Nachweis von Vimentin zeigen alle im Nabelstrang vorhandenen Endothelzellen sowie alle Zellen im Bereich der Adventitia zu jedem Zeitpunkt der Entwicklung eine deutlich positive Reaktion. Gegensätzlich dazu verhalten sich die Urachus- und Amnionepithelzellen, die nie eine Reaktion mit dem Vimentin-Ak aufweisen. Die übrigen Zellen verändern im Laufe der Entwicklung ihr Reaktionsmuster, wobei generell in der WS eine Zunahme, in den glatten Gefäßmuskelzellen jedoch eine Abnahme der Reaktion zu erkennen ist.

Die glatten Muskelzellen der Nabelgefäße sind bis zu einer SSL von 15 cm alle deutlich positiv. Danach kommt es in den peripheren Muskelzellen von Nabelvene und Nabelarterie zu einer Abschwächung der Reaktion, die in der Nabelvene besonders auffällig ist. Ab einer SSL von 42 cm sind schließlich die meisten peripheren Gefäßmuskelzellen vollständig negativ, während die inneren und mittleren Zellschichten bis auf wenige Ausnahmen (Arterie 89 cm SSL) weiterhin positiv reagieren (Abb. 32 und Abb. 33). Die Mediazellen der mehrschichtigen WS-Gefäße zeigen das gleiche Reaktionsverhalten, wobei also ab 42 cm SSL ein immunhistochemischer Nachweis von Vimentin in den peripheren glatten Muskelzellen nicht mehr möglich ist.



Abb. 32: Vimentin-Expression in den lumennahen (L) Muskelzellen der Nabelarterie. Fetus mit 53 cm SSL.

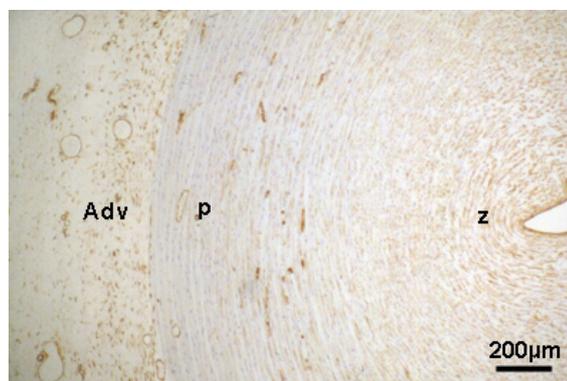


Abb. 33: Lokalisation von Vimentin in der gesamten Nabelarterie. Deutlich positive Reaktion der zentralen Muskelschichten (z) und der Adventitia (Adv). Periphere Muskelzellen (p) ohne Immunreaktion. Fetus mit 53 cm SSL.

Bei einer SSL von 2,5 cm ist der Großteil der WS-Zellen negativ. Davon ausgenommen sind einige deutlich Vimentin-positive Fibrozyten im Bereich des Urachus sowie in einem kleinen begrenzten Bereich subepithelial unter dem Amnionepithel und in der Nähe des Zölomspalts. Dieses Muster bleibt bis zu einer SSL von 26 cm weitgehend erhalten, die Vimentin-

positiven Bereiche weiten sich jedoch aus. Eine Anhäufung positiver Zellen ist besonders in der WS im Bereich des Urachus (Abb. 34) und unter dem Amnionepithel erkennbar. Vimentin-negative Fibrozyten sind in diesen Stadien (11 cm -26 cm SSL) ausschließlich im zentralen Bereich der WS zwischen den Nabelarterien und Nabelvenen vorhanden. Ab einer SSL von 31,5 cm besteht jedoch auch dieser zentrale Teil aus deutlich positiv erscheinenden Fibrozyten. Die glatten Muskelzellen des Urachus zeigen bis zu einer SSL von 42 cm ebenfalls eine positive Immunantwort.

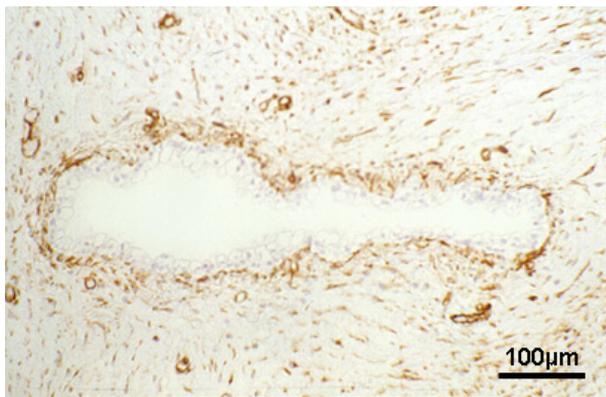


Abb. 34: Vimentin-Expression in den WSZ im Bereich des Urachus . Fetus mit 11 cm SSL.

In den Resten des Dottersackstieles ist mit Ausnahme einer positiven Reaktion der inneren und mittleren Zellschicht bei einer SSL von 2,5 cm keine Immunantwort zu beobachten. Tabelle A10 gibt eine Übersicht über die Vimentin-Expression im bovinen Nabelstrang.

4.3.6. Immunzytochemischer Nachweis von Desmin

Beim immunhistochemischen Nachweis von Desmin reagieren ausschließlich die glatten Muskelzellen der Gefäße und des Urachus positiv, wobei allerdings alters- und lokalisationsbedingte Besonderheiten erkennbar sind.

Desmin-positive Muskelzellen erscheinen in den Nabelgefäßen erstmals bei einer SSL von 11 cm. Dabei sind in der Nabelvene bis zu einer SSL von 53 cm die zentral gelegenen Desmin-negativen Mediabereiche deutlich von den positiv reagierenden mittleren und peripheren Mediaschichten abgrenzbar (Abb. 35). In der Nabelarterie hingegen zeigen bei diesen Stadien nur die peripher gelegenen glatten Muskelzellen eine Immunantwort auf Desmin. Das Reaktionsmuster der Nabelvene älterer Feten (ab 65 cm SSL) unterscheidet sich von dem jüngerer Feten, da sich eine positive Immunreaktion nun auf zentrale und periphere Gefäßmuskelzellen beschränkt, in den mittleren Mediaschichten jedoch kein immunhistochemischer Nachweis von Desmin möglich ist. Die Nabelarterien der älteren

Feten behalten ihr von früheren Stadien bekanntes Reaktionsmuster bei, bei dem nur in der Gefäßperipherie Desmin-positive Muskelzellen auftreten. Eine Ausnahme ist aber bei einer SSL von 65 cm zu beobachten, in der sich die Nabelarterie bezüglich ihrer Desminreaktivität entsprechend der Nabelvene dieser SSL verhält, so dass Desmin zentral und peripher immunzytochemisch nachgewiesen werden kann. Die Reaktionsstärke in den Nabelgefäßen ist geringen Schwankungen unterworfen.

Eine Desmin-Expression in den Muskelzellen der WS-Gefäße tritt nur bei mehrschichtigen Gefäßen auf. Kleine Gefäße, die nur aus zwei oder drei Mediaschichten bestehen, sind stets Desmin-negativ. Entsprechend den Nabelgefäßen reagieren auch in den WS-Gefäßen nur die äußeren und mittleren Zellschichten, wobei die Reaktionsstärke variiert.

Obwohl eine Formierung glatter Muskelzellen um den Urachus bereits ab einer SSL von 15 cm erkennbar ist, tritt eine positive Immunreaktion einzelner Muskelzellen erst ab einer SSL von 20 cm ein. Danach steigt die Anzahl Desmin-positiver Muskelzellen in der Entwicklung an, bis schließlich ab einer SSL von 42 cm alle Muskelzellen des Urachus Desmin exprimieren (Abb. 36).

Eine Übersicht über die Verteilung der Desmin-positiven Muskelzellen in der bovinen Nabelschnur ist in Tabelle A11 zusammengestellt.

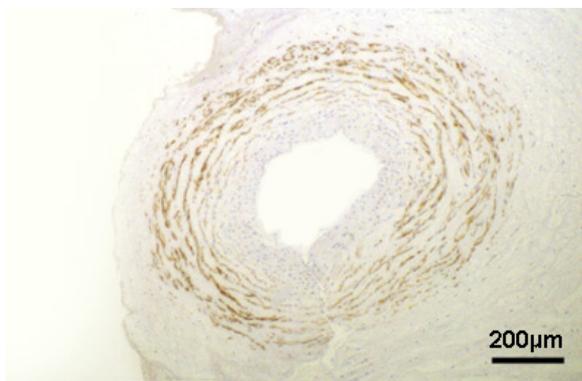


Abb. 35: Desmin-Expression in einer Nabelvene. Nur die peripheren und mittleren Mediazellen reagieren positiv. Fetus mit 11 cm SSL.

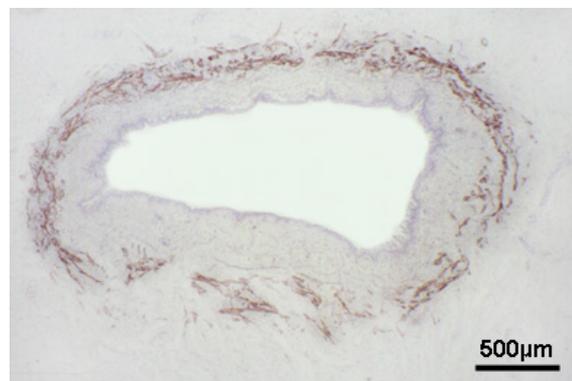


Abb. 36: Desmin-positive Urachusmuskelzellen. Fetus mit 42 cm SSL.

4.3.7. Immunzytochemischer Nachweis von S100

In der immunhistochemischen Untersuchung von S100 verhalten sich die Endothelzellen der Nabelgefäße unterschiedlich. Die Endothelzellen der Venae umbilicales erscheinen ausnahmslos negativ, während die der Arteriae umbilicales S100-positiv reagieren (Abb. 37). Dabei nimmt die Stärke der Immunantwort im Laufe der Entwicklung zu, so dass ab einer SSL von 15 cm die Endothelzellen der Arterien stark gefärbt sind.

Daneben treten in der WS zu jedem Gestationszeitpunkt parallel Gefäße mit deutlich positivem sowie mit negativ erscheinendem Endothel auf. Dabei ist der positive Nachweis von S100 unabhängig von der Größe und der Lage des Gefäßes. Auffallend ist jedoch, dass beim häufig anzutreffenden paarigen Verlauf zweier Gefäße der immunhistologische Nachweis von S100 jeweils nur in einem der beiden Gefäße möglich ist, wobei es sich folglich um ein arterielles und ein venöses Gefäß handeln dürfte (Abb. 38).

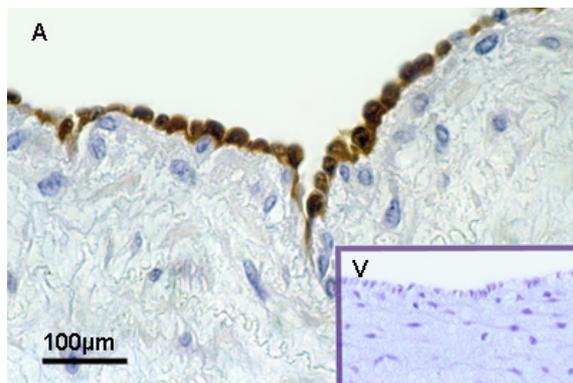


Abb. 37: S100 in den bovinen Nabelgefäßen. Nur die Endothelzellen der Nabelarterie (A) sind deutlich positiv, während die Endothelzellen der Nabelvenen (V) nicht reagieren. Fetus mit 53 cm SSL.

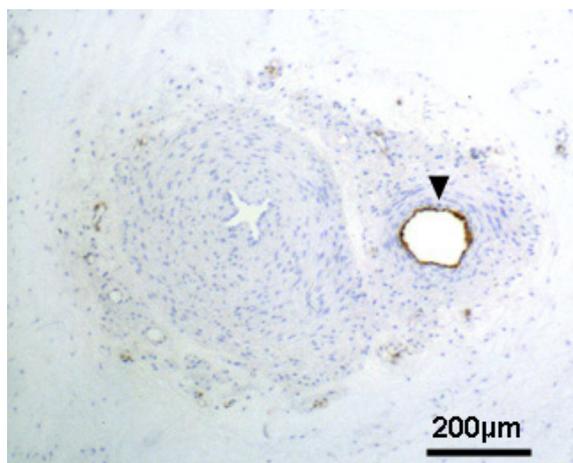


Abb. 38: S100 in WS-Gefäßen. Paarig verlaufende WS-Gefäße mit negativen und positiven (Pfeilspitze) Endothelzellen. Fetus mit 89 cm SSL.

Die Muskelzellen der Gefäßwände zeigen ein unterschiedliches Reaktionsmuster. Dabei sind die glatten Muskelzellen der WS-Gefäße stets S100- negativ. Bis zu einer SSL von 31,5 cm

gilt dies auch für die Arteria und Vena umbilicalis. Ab diesem Zeitpunkt ist bei beiden Gefäßen in den mittleren Mediaschichten eine schwache Reaktion erkennbar. Ausgenommen davon sind die Nabelvene der SSL 89 cm, bei der zusätzlich die zentralen Gefäßmuskelzellen positiv erscheinen sowie die Nabelgefäße der SSL 53 cm und 65 cm, bei denen der immunhistochemische Nachweis von S100 nicht gelingt.

In der WS im Bereich des Urachus treten ab einer SSL von 11 cm solange vereinzelt S100-positive Zellen auf, bis bei einer SSL von 26 cm ein zirkulärer Muskelring um den Urachus herum entstanden ist. Ab diesem Zeitpunkt weisen beim immunhistochemischen Nachweis von S100 nur noch die glatten Muskelzellen, jedoch nicht mehr die Fibrozyten der Urachusregion eine positive Immunreaktion auf. Ähnlich den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße kommen auch Urachusmuskelzellen vor, in denen kein positives Signal vorhanden ist (SSL 53 cm und 89 cm).

Die Epithelzellen des Urachus und des Amnions, die Fibrozyten der WS und der Adventitia sowie die Reste des Dottersackstiels erscheinen zu jedem Gestationszeitpunkt negativ.

Die Ergebnisse der immunhistologischen Untersuchung von S100 sind in der Tabelle A12 zusammengestellt.

4.4. Glykohochemische Färbungen

Das Bindungsmuster der verwendeten Lektine kann den Tabellen A13 bis A21 entnommen werden. Als Kontrolle dienten Schnitte, die ausschließlich mit Puffer inkubiert wurden. Sie zeigen nur eine Eigenfluoreszenz von Erythrozyten. Alle anderen Strukturen sind negativ. Zusätzlich wurde eine kompetitive Hemmung mit den jeweils inhibitorischen Zuckern durchgeführt (siehe Tab. 4). Die Bindung der Lektine wurde dadurch unterbunden.

4.4.1. *Canavalia ensiformis* Agglutinin (Con A)

Das Lektin kann an alle Bestandteile des Nabelstrangs binden, wobei jedoch die Stärke der Reaktion variiert. Besonders deutliche Reaktionen werden im Zytoplasma der glatten Muskelzellen und WS-Zellen sowie am Urachus- und am Amnionepithel beobachtet (Abb. 39 und Abb. 40). Die interzellulären Fasern der WS und der Nabelgefäße reagieren unterschiedlich, so dass neben negativen auch deutliche Reaktionen erkennbar sind. Die Reste des Dottersackstiels weisen ebenfalls Bindungsstellen für Con A auf (Übersicht in Tabelle A13).

4.4.2. *Triticum vulgare* Agglutinin (WGA)

Das Lektin aus dem Weizenkeim zeigt während der gesamten pränatalen Entwicklung eine sehr starke Reaktion mit den Kollagenfasern der WS, der Nabelgefäße und der Adventitia. Positive Reaktionen finden sich auch an den Zytoplasmamembranen des Urachus- und Amnionepithels (Abb. 39 und Abb. 40). Die verhornenden Anteile des Amnions sind jedoch stets negativ. Die Gefäßmuskelzellen zeigen bis zu einer SSL von 42 cm keine Reaktion mit WGA. Ab diesem Zeitpunkt ist im Zytoplasma der Muskelzelle von Nabelvene und Nabelarterie eine leichte positive Reaktion erkennbar. Die Fibrozyten der WS können WGA nicht binden. Dagegen sind ab 15 cm SSL vereinzelt positive Adventitiazellen sichtbar. Auch die glatten Muskelzellen des Urachus sowie die Muskelzellen des subamniotischen WS-Bereichs reagieren positiv. Die Zytoplasmamembranen der Endothelzellen und die Reste des Dottersackganges zeigen unterschiedliche Reaktionen (Übersicht in Tabelle A14).

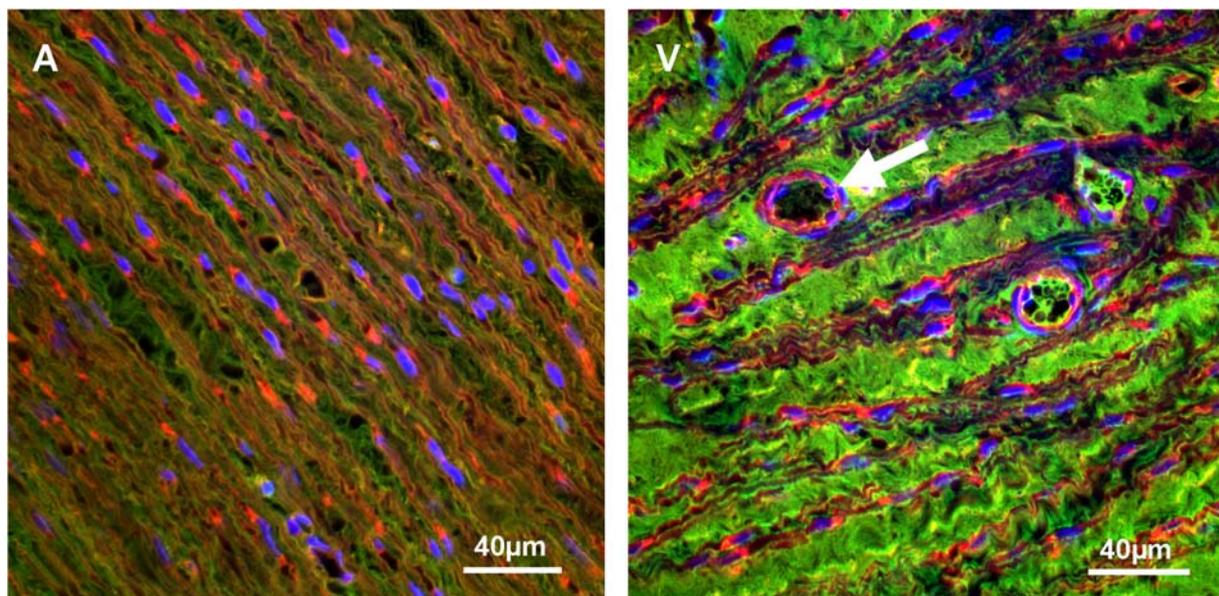


Abb. 39: Bindungsmuster von FITC markiertem WGA (grün) und Rhodamin markiertem Con A (rot) in den Nabelgefäßen. Kernfärbung mit DAPI (blau). Muskelzellen der Nabelvene (V) weit durch interzelluläre Fasern separiert. Muskelzellen der Nabelarterien (A) liegen dicht. Pfeil markiert Vasa vasorum. Fetus mit 53 cm SSL.

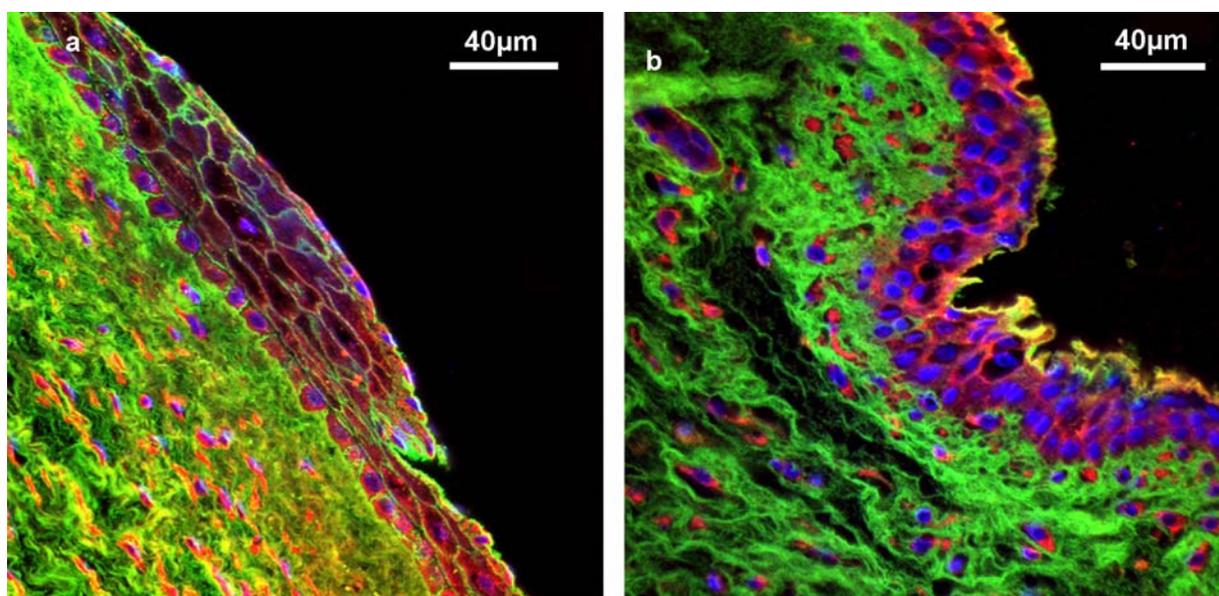


Abb. 40: Bindungsmuster von FITC markiertem WGA (grün) und Rhodamin markiertem Con A (rot) im Amnionepithel (Bild a), Urachusepithel (Bild b) sowie in der WS. Kernfärbung mit DAPI (blau). Fetus mit 53 cm SSL.

4.4.3. *Erythrina cristagalli* Agglutinin (ECA)

ECA bindet in den Nabelgefäßen und in der WS hauptsächlich an elastische Fasern (Abb. 41). Eine positive Reaktion der elastischen Fasern kann erstmals bei einer SSL von 20 cm beobachtet werden. Im Laufe der Entwicklung steigt die Anzahl positiver Fasern an. Des Weiteren sind das Amnion- und Urachusepithel deutlich positiv, wobei sich manchmal nur die Zytoplasmamembranen anfärben. Davon ausgenommen sind einige verhornende Amnionepithelstellen (ab SSL 53 cm) sowie das gesamte Amnion- und Urachusepithel des Fetus mit 89 cm SSL, da sie keine Lektinbindung erkennen lassen. Die Urachusmuskulatur ist stets geringgradig positiv. Für die restlichen Bestandteile des Nabelstrangs lässt sich kein spezifisches Reaktionsmuster feststellen (Übersicht in Tabelle A15).

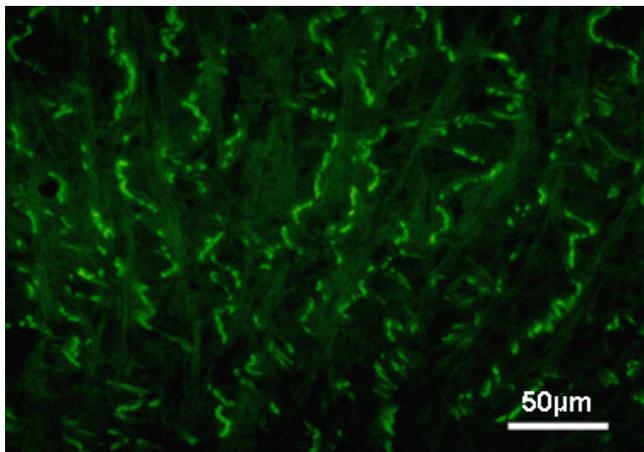


Abb. 41: Bindungsmuster von ECA: elastische Fasern in der Wand der Nabelvene. Fetus mit 53 cm SSL.

4.4.4. *Griffonia simplicifolia* Agglutinin I (GSA I)

Alle in der bovinen Nabelschnur vorhandenen Endothelzellen reagieren positiv (Abb. 42). Die anderen Bestandteile des Nabelstrangs zeigen keine Reaktion (Übersicht in Tabelle A16).

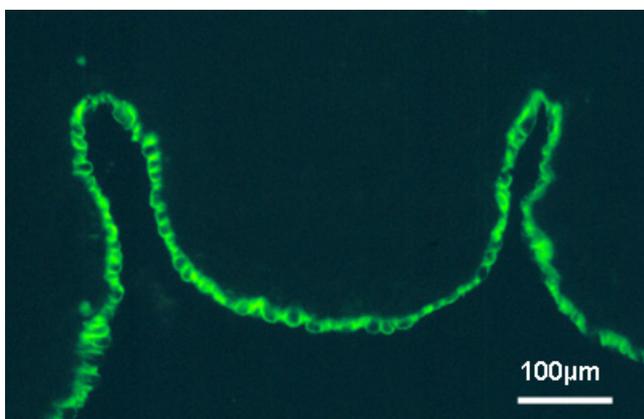


Abb. 42: GSA I bindet an die Endothelzellen einer Nabelarterie. Fetus mit 11 cm SSL.

4.4.5. *Arachis hypogaea* Agglutinin (PNA)

Die Reaktionen auf dieses Lektin sind sehr uneinheitlich. Lediglich das Amnionepithel (Abb. 43) und das Urachusepithel sind konstant positiv. Dabei können nur die Zytoplasmamembranen, das gesamte Zytoplasma oder nur die Zellkerne reagieren. Davon ausgenommen sind jedoch die Urachusepithelzellen der Feten mit einer SSL von 53 cm und 89 cm, an die PNA nicht binden kann. Die Stärke der Reaktion unterscheidet sich bei den einzelnen Präparaten, wobei keine entwicklungsbedingte Tendenz erkennbar ist (Übersicht in Tabelle A17).

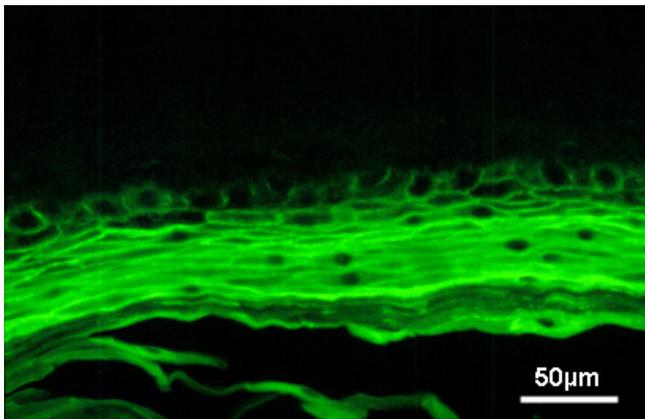


Abb. 43: PNA: verhornendes Amnionepithel.
Fetus mit 89 cm SSL.

4.4.6. *Glycine max* Agglutinin (SBA)

Das Lektin aus der Sojabohne ruft nur eine geringgradige Reaktion in den meisten Endothelzellen der bovinen Nabelschnur hervor. Alle anderen Bestandteile des bovinen Nabelstrangs können SBA nicht binden (Übersicht in Tabelle A18).

4.4.7. *Lotus tetragonolobus* Agglutinin (LTA)

Die Reaktion auf das Lotus-Lektin ist sehr schwach. Sie kann nur bei stärkster Vergrößerung erkannt werden. Dabei reagiert meist das Zytoplasma der Gefäßmuskelzellen, der WSZ, der Endothelzellen sowie das Zytoplasma der Epithelzellen des Urachus und des Amnions stellenweise positiv (Übersicht in Tabelle A19).

4.4.8. *Ulex europaeus* Agglutinin (UEA I)

Die Reaktionen fallen insgesamt schwach aus. Die zellulären Anteile des Nabelstrangs stellen sich positiv dar, während die faserigen Anteile keine Bindungsstellen aufweisen (Abb. 44).

Die Reste des Dottersackstiels sind negativ (Übersicht in Tabelle A20).

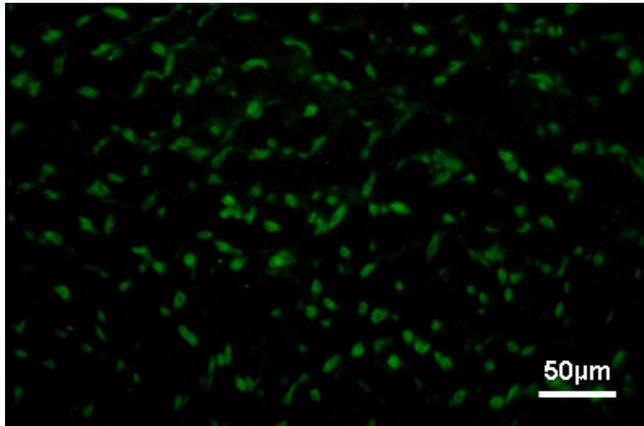


Abb. 44: Das UEA I-Bindungsmuster in der Wand einer Nabelarterie zeigt eine schwache Reaktion der Zellkerne der glatten Gefäßmuskelzellen. Fetus mit 31,5 cm SSL.

4.4.9. *Vicia villosa* Agglutinin (VVA)

Mit Ausnahme der Endothelzellkerne der Nabelgefäße besitzen alle anderen Zellkerne Bindungsstellen für VVA (Abb. 45). Die Stärke der Reaktion ist variabel. Ab einer SSL von 53 cm ist stellenweise auch eine leichte Reaktion der Kollagenfasern der bovinen Nabelschnur erkennbar (Übersicht in Tabelle A21).

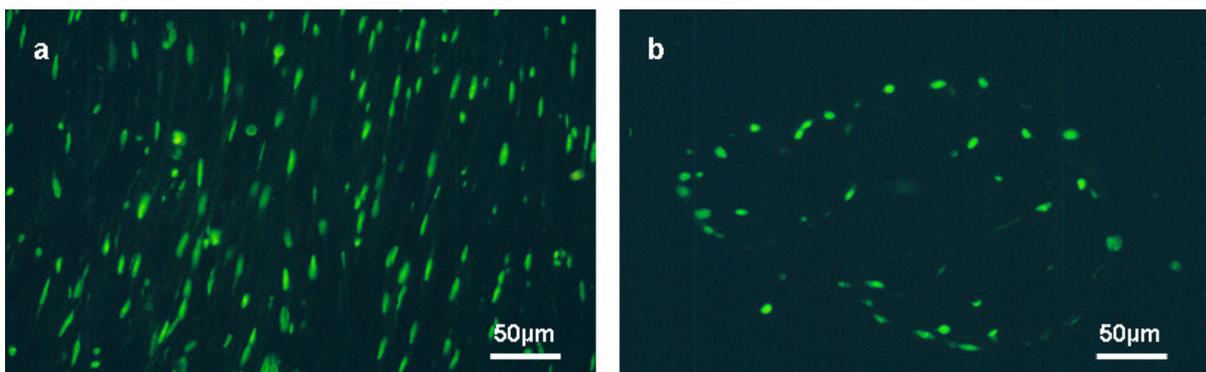


Abb. 45: VVA bindet an die Kerne der glatten Muskelzellen der Nabelgefäße (Nabelarterie, Bild a) und an die Kerne der WS-Zellen (Bild b). Fetus mit 65 cm SSL.

4.5. Elektronenmikroskopie

4.5.1. Nabelgefäße

Die Endothelzellen der Nabelvene verändern im Laufe der Entwicklung ihre Form. Zunächst weisen sie eine polygonale bis ovale Gestalt auf (Abb. 46), in späteren Stadien (ab 42 cm) kommt es jedoch zur Elongation (Abb. 48). Besonders auffällig sind dabei die Endothelzellen der Nabelvene kleiner SSL (bis 11 cm SSL). Sie sind meist polygonal und besitzen zahlreiche lange, schlanke, ins Lumen ragende zytoplasmatische Fortsätze (Filopodien)(Abb. 46).

Teilweise nehmen diese Fortsätze Kontakt miteinander auf oder kehren zur Zelle zurück, was in beiden Fällen zu einer Art „Brückenbildung“ führt (Abb. 46 und Abb. 52). Vereinzelt befinden sich dazwischen deutlich größere, in der Oberfläche gleichmäßigere, ovale Zellen, die sich nicht nur in ihrer Form und Größe, sondern auch durch ihren höheren Glykogengehalt von den anderen Endothelzellen unterscheiden (Abb. 47). Bei allen Stadien der Nabelvene treten gelegentlich schlanke, ins Lumen ragende Endothelzellen mit großen zytoplasmatischen Hohlräumen auf (Abb. 50). Die Endothelzellen der Nabelarterien besitzen zu keinem Entwicklungszeitpunkt mit den Endothelzellen der Nabelvene vergleichbare Zytoplasmafortsätze. Jedoch zeigen auch sie eine Formveränderung, so dass zuerst längs-ovale, später elongierte Endothelzellen beobachtet werden können (Abb. 49). Die Kerne der Endothelzellen von Arteria und Vena umbilicalis sind groß und leicht gelappt. Sie besitzen relativ wenig, kernmembrannah angeordnetes Heterochromatin (Abb. 48). Bei kleinen SSL (bis 11 cm SSL) ist eine Marginalisierung des Nucleolus zu beobachten.

Im Zytoplasma der Endothelzellen existieren Mitochondrien vom Cristae-Typ, raues und glattes ER, Golgi-Komplexe sowie zahlreiche kleine Vakuolen. Gelegentlich sind Pinocytosevesikel (Abb. 47 und 49) erkennbar. Im Laufe der Entwicklung (ab 42 cm SSL) kommt es zu einer massiven Dilatation des endoplasmatischen Retikulums (ER), wobei nur teilweise Ribosomen an der Membran vorhanden sind. Bei den Nabelvenen handelt es sich tendenziell eher um eine große ballonartige Dilatation (Abb. 48), während es in den Nabelarterien in Form zahlreicher erweiterter Blasen vorliegt (Abb. 49). Glykogenpartikel werden in den Endothelzellen von Nabelarterie und Nabelvene sehr selten gesehen.

Zwischen den Endothelzellen bestehen unterschiedliche Zellkontakte. Neben sich verzahnenden Interdigitationen mit teilweise erweitertem Interzellularraum existieren „tight junctions“ und vereinzelt Desmosomen (Abb. 47). In frühen Gestationsstadien besitzen besonders die Venenendothelzellen basale Fußfortsätze, mit denen sie Kontakt zu den darunter liegenden glatten Muskelzellen aufweisen (Abb. 46 und 52). Myoendotheliale Zellkontakte können bei späteren Gestationsstadien nicht mehr beobachtet werden. Die

Endothelzellen sind von den subendothelialen Muskelzellen weit durch eine Basalmembran und in der Vene von einer gut ausgebildeten Lamina elastica interna (Abb. 51) getrennt. Eine dünne Basalmembran ist bereits bei einer SSL von 3,4 cm erkennbar (Abb. 46).

Die Muskelzellen von Arteria und Vena umbilicalis weisen größtenteils die gleiche Ultrastruktur auf. Es kommen gleichzeitig polygonale sowie lang gezogene Zellen vor, wobei die länglichen Muskelzellen eher in den peripheren, die polygonalen Zellen bevorzugt in den zentralen Wandabschnitten lokalisiert sind. Im Laufe der Entwicklung steigt die Anzahl der länglichen Muskelzellen an. Dies gilt besonders für die Nabelvene. Die Zellmembran der lang gestreckten Myozyten kann glatt bis gewellt erscheinen. Die Muskelzellen werden von einer Basalmembran umgeben (Abb. 53 und 55).

Der Kern der Muskelzellen passt sich der Zellform an. So existieren neben großen polygonalen Kernen auch lang gestreckte Muskelzellkerne, die zahlreiche, verschieden tiefe Einziehungen aufweisen. Das Heterochromatin ordnet sich hauptsächlich entlang der Kernmembran an. In länglichen Kernen verteilt es sich noch zusätzlich schollenartig über den ganzen Kern (Abb. 53). Die Kerne der kleineren SSL sind insgesamt sehr heterochromatinarm. Eine Marginalisierung des Nucleolus kann bis zu einer SSL von 11 cm häufig beobachtet werden (Abb. 57).

Glykogen kommt in allen Muskelzellen vor, wobei sich Gruppen von Glykogenpartikeln über das gesamte Zytoplasma verteilen. Dazwischen sind Zellen mit massiver Glykogeneinlagerung vorhanden (Abb. 54). Bei den Muskelzellen der frühen Stadien (3,4 cm und 11 cm SSL) dominiert das raue endoplasmatische Retikulum (rER). Es durchzieht mit seinen erweiterten Zisternen große Teile des Zytoplasmas. Daneben befinden sich in den Zellen ein gut ausgebildeter Golgi-Apparat, Mitochondrien vom Cristae-Typ und zahlreiche kleine Vakuolen (Abb. 52 und 57). Vereinzelt können bereits in frühen Stadien feine Filamente ausgemacht werden. Im Laufe der Trächtigkeit nimmt der Organellengehalt ab, der Filamentgehalt jedoch zu. Bei älteren Stadien (ab 42 cm) beschränken sich deshalb die moderat vorhandenen Mitochondrien und das blasig dilatierte ER auf kernpolnahe Zytoplasmabereiche, während das restliche Zytoplasma Glykogen und zahlreiche Filamente mit fokalen Verdichtungen enthält (Abb. 53). Bei zahlreichen Muskelzellen kommt es im Laufe der Entwicklung zu einer auffälligen Erweiterung der Zisternen des endoplasmatischen Retikulums. Bei den Myozyten der Nabelarterie ist dieses Phänomen ab einer SSL von 11 cm, bei den Myozyten der Nabelvene erst ab einer SSL von 42 cm erkennbar. Auch in späteren Stadien ist die Dilatation in den Arterien häufiger als in den Venen zu beobachten.

Ribosomen sind nur stellenweise an den Membranen des ER vorhanden (Abb. 56). Die optisch leeren bis fein granulären Räume füllen oft große Teile der gesamten Zelle aus, so dass das Zytoplasma an den Rand gedrängt wird. Dabei wird das Zytoplasma mit steigender Dilatation immer glykogen- und organellenärmer. Es enthält nur vereinzelt kleine Vesikel und Mitochondrien. Pinocytoseaktivität kann bei allen Entwicklungsstadien beobachtet werden (Abb. 55, 57).

Die Muskelzellen sind meist durch interzelluläres Bindegewebe voneinander getrennt. In frühen Entwicklungsstadien handelt es sich dabei hauptsächlich um elektronendurchlässige Grundsubstanz und dünne Kollagenfaserbündel. Im Laufe der Entwicklung kommt es zu einer Abnahme an Grundsubstanz und zu einer Zunahme des Fasergehalts. Dicke Kollagenfaserbündel ordnen sich in allen drei Richtungen des Raumes an (Abb. 53). Elastische Faserbündel treten ab einer SSL von 11 cm zunächst sehr vereinzelt auf, werden dann aber immer zahlreicher. Die V. umbilicalis besitzt eindeutig mehr elastische Faserkomponenten als die A. umbilicalis. Zwischen einigen Muskelzellen bestehen Zellverbindungen. Besonders bei kleinen Stadien (3,4 cm SSL) stehen Zellen miteinander in Kontakt. Neben Verzahnungen existieren vereinzelt auch „tight“ und „gap junctions“ (Abb. 57). Nervale Strukturen sind in den Nabelgefäßen des Rindes nicht erkennbar.

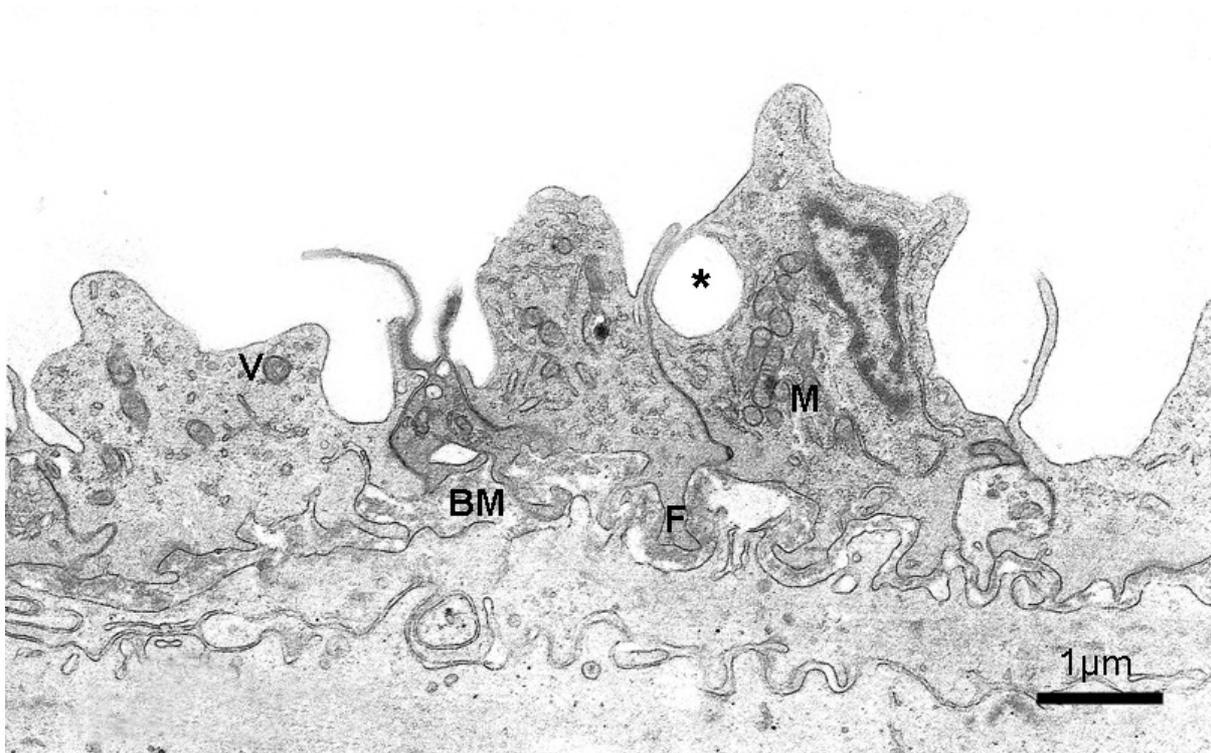


Abb. 46: Endothelzellen der Nabelvene (3,4 cm SSL) mit Zytoplasmafortsätzen, die sich stellenweise unter „Brückenbildung“ berühren (Stern). Im Zytoplasma befinden sich zahlreiche Mitochondrien (M) und membrannahe Vesikel (V). Basal sind Fußfortsätze (F) und eine Basalmembran (BM) erkennbar.

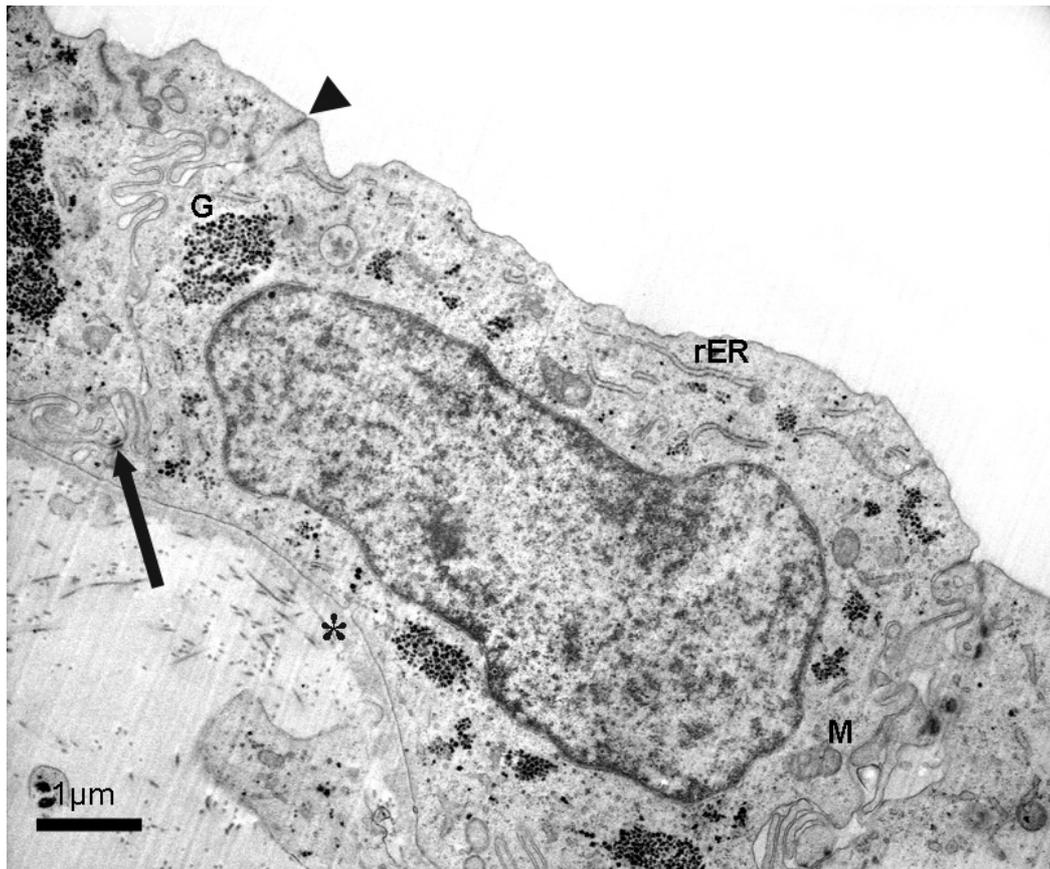


Abb. 47: Endothelzelle der Nabelvene (3,4 cm SSL) mit Zisternen des rER, Mitochondrien (M), Glykogen (G) und Pinocytoseaktivität (Stern). Endothelzellkontakte bestehen in Form von deutlichen lateralen Interdigitationen, „tight junctions“ (Pfeilspitze) und Desmosomen (Pfeil).

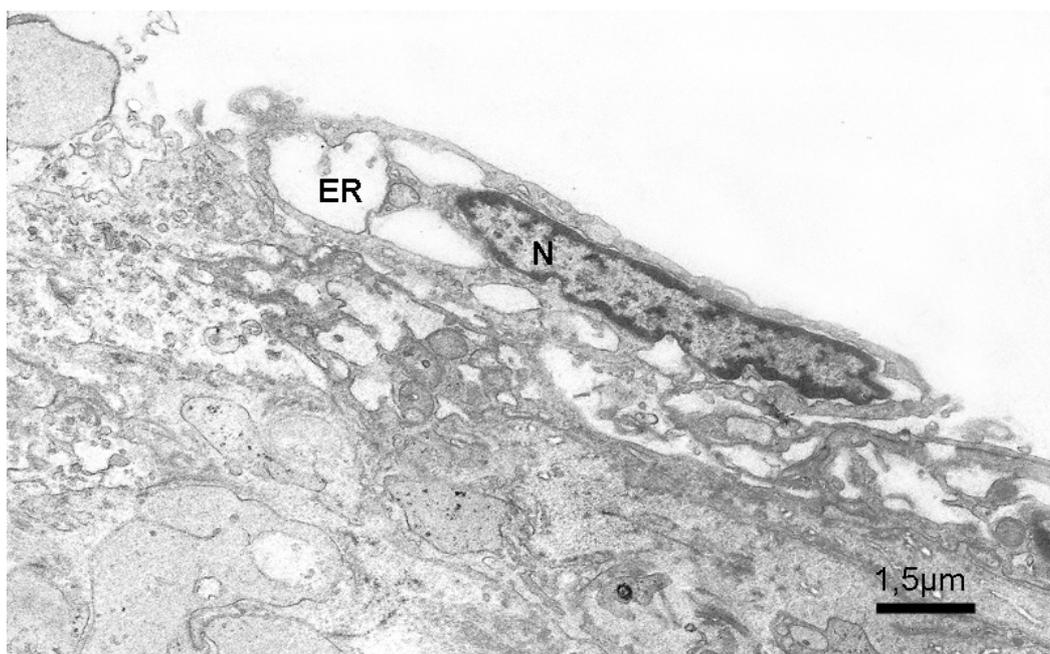


Abb. 48: Elongierte Endothelzelle der Nabelvene (89 cm SSL) mit entsprechender Kernform (N) und ballonartig dilatiertem ER.

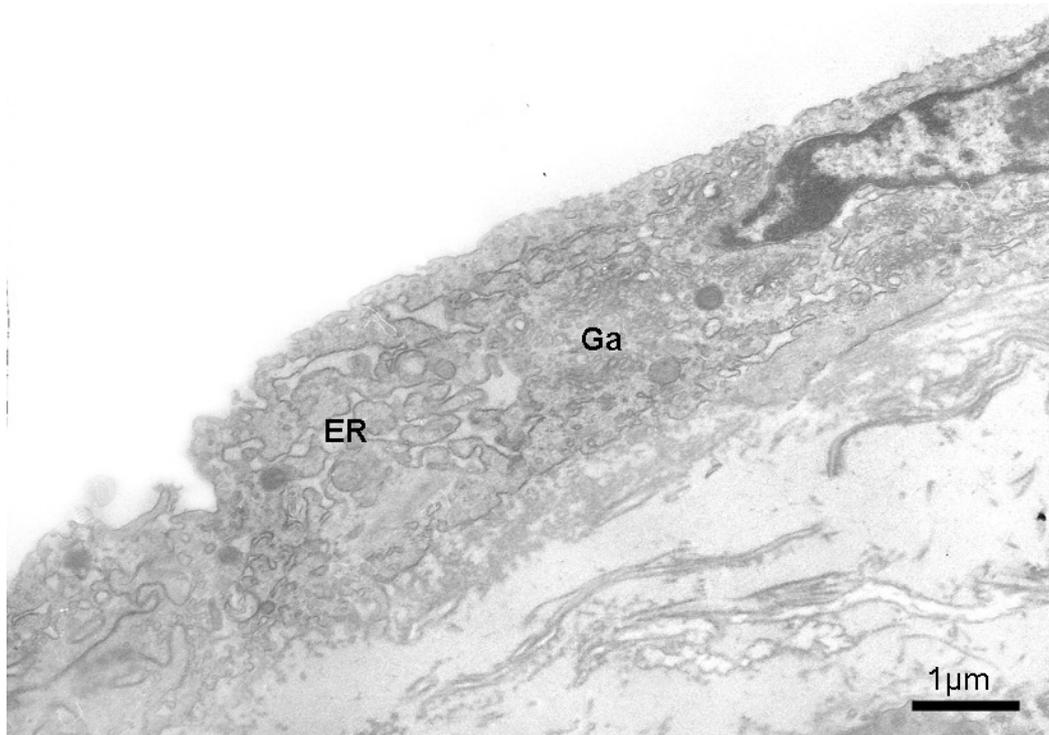


Abb. 49: Elongierte Endothelzelle der Nabelarterie (SSL 89 cm) mit blasig dilatiertem ER und Golgi-Apparat (Ga).

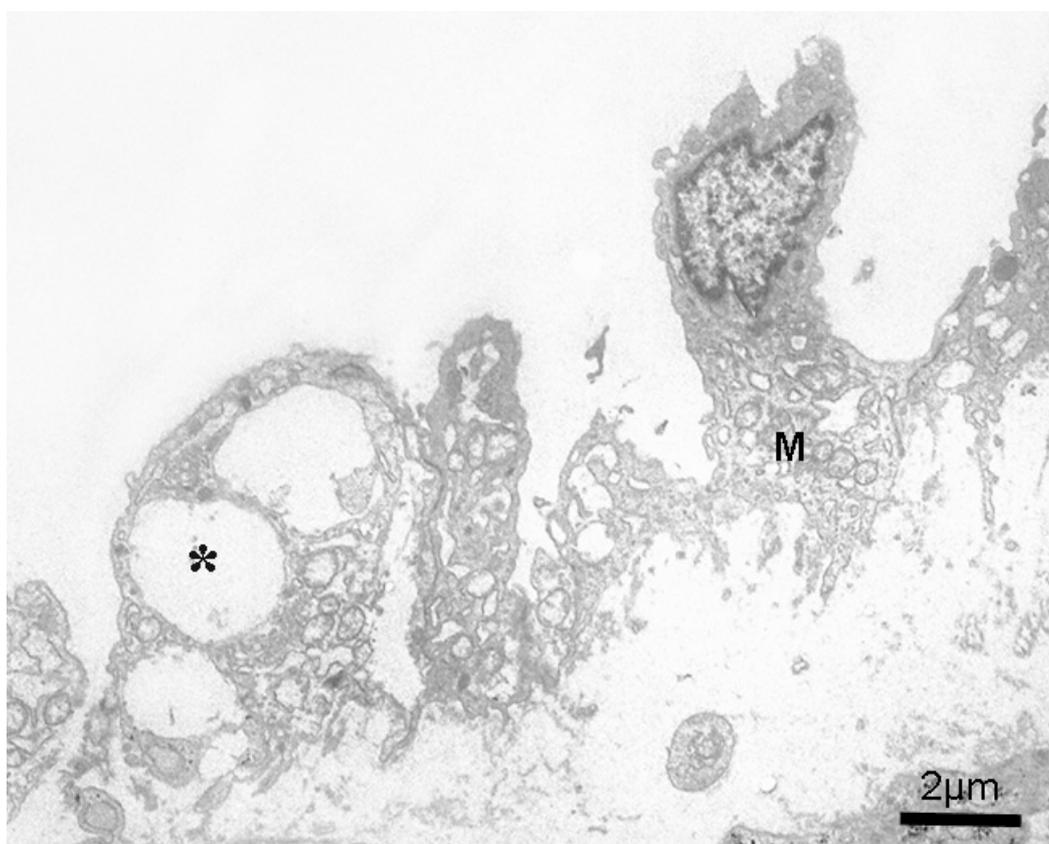


Abb. 50: Schlanke ins Lumen ragende Endothelzellen der Nabelvene (53 cm SSL) mit zahlreichen Mitochondrien (M) und großen zytoplasmatischen Hohlräumen (Stern).

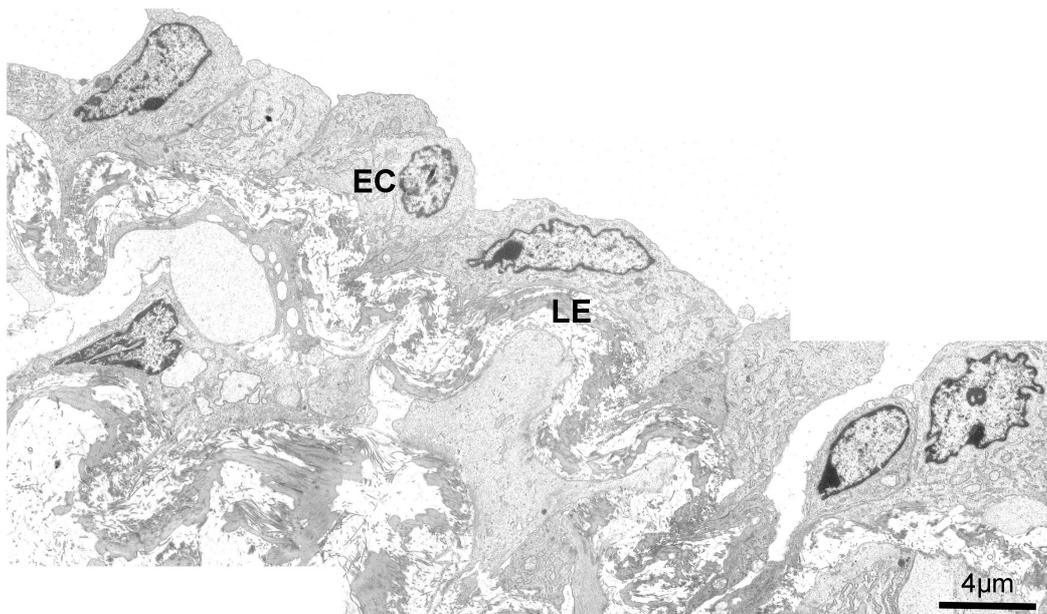


Abb. 51: Nabelvene (SSL 26 cm) mit Endothelzellen (EC) und deutlich sichtbarer Lamina elastica interna (LE).

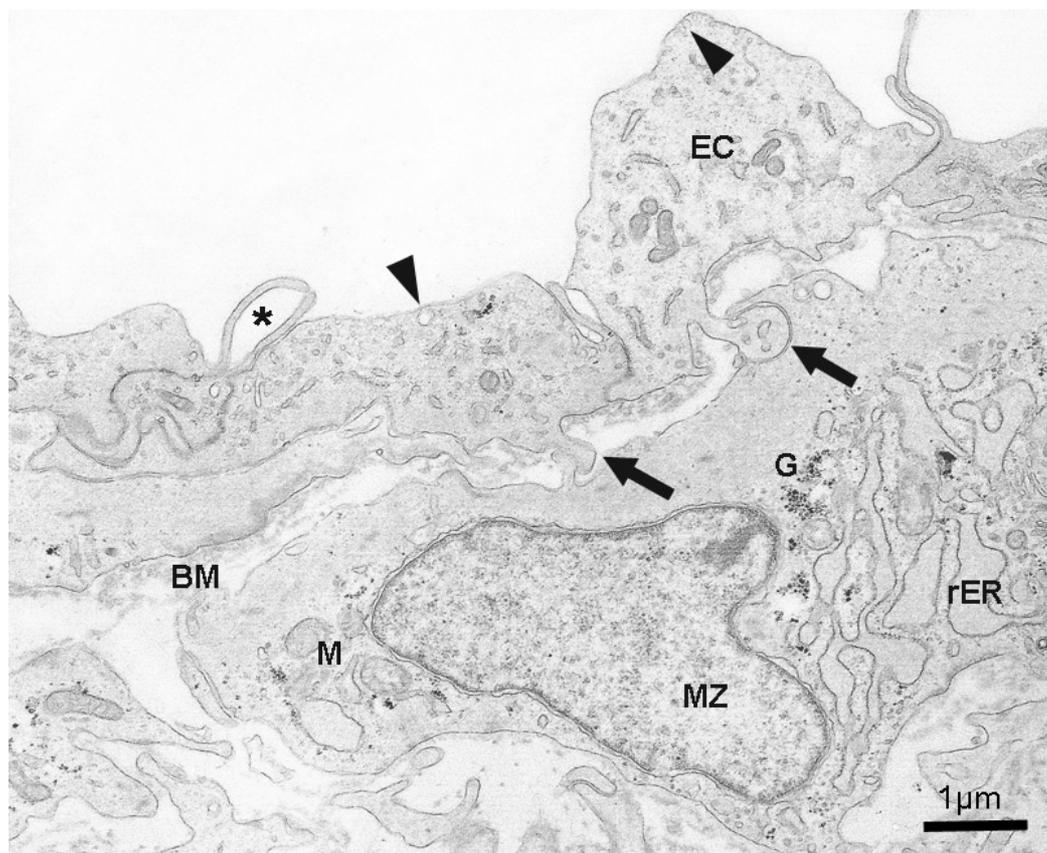


Abb. 52: Endothelzellen (EC) und Muskelzellen (MZ) der Nabelvene (SSL 3,4 cm) stehen über Fußfortsätze miteinander in Verbindung (Pfeile). Die EC zeigen Pinocytoseaktivität (Pfeilspitze) und besitzen lange, schlanke Zytoplasmafortsätze, die sich unter „Brückenbildung“ berühren (Stern). Weiterhin sind Glykogenpartikel (G), Mitochondrien (M), rER und eine Basalmembran (BM) erkennbar.

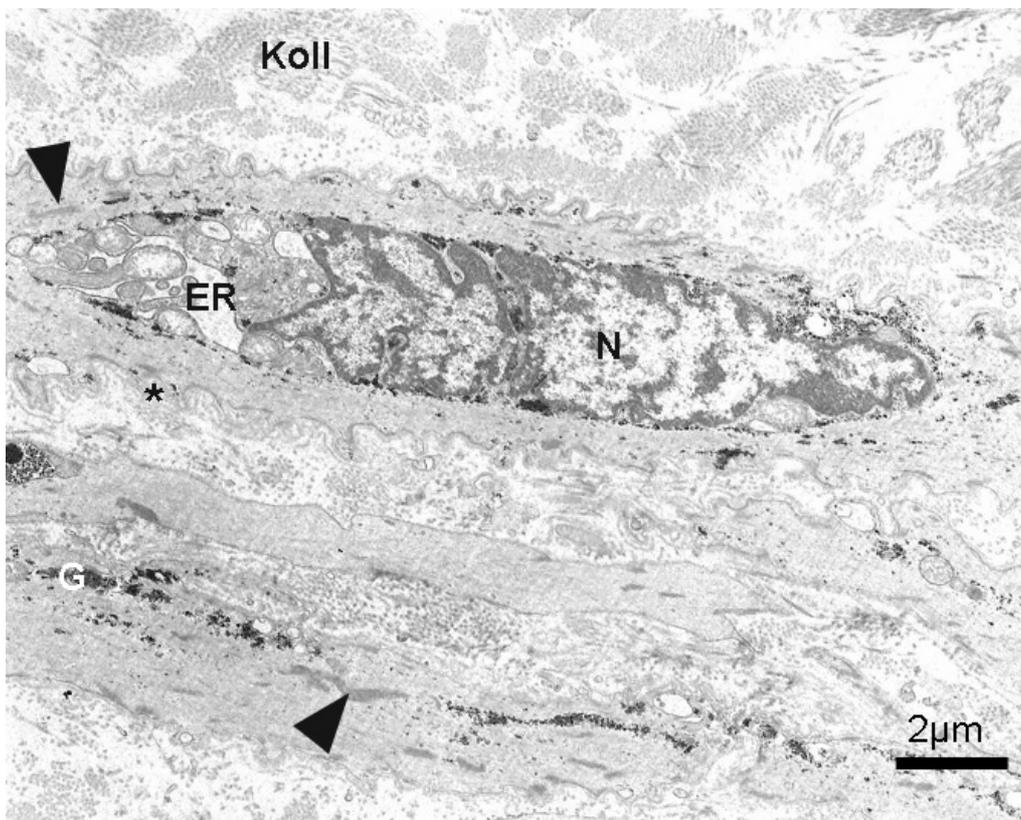


Abb. 53: Muskelzellen aus der Nabelvene (SSL 89 cm) mit länglichem Kern mit tiefen Einziehungen (N), zahlreichen Filamenten (Pfeilspitzen), Glykogen (G) und kernnahem ER. Die Zytoplasmamembran ist gewellt und wird stellenweise von einer Basalmembran umgeben (Stern). Im Interzellularraum sind Kollagenfaserbündel (Koll) erkennbar.

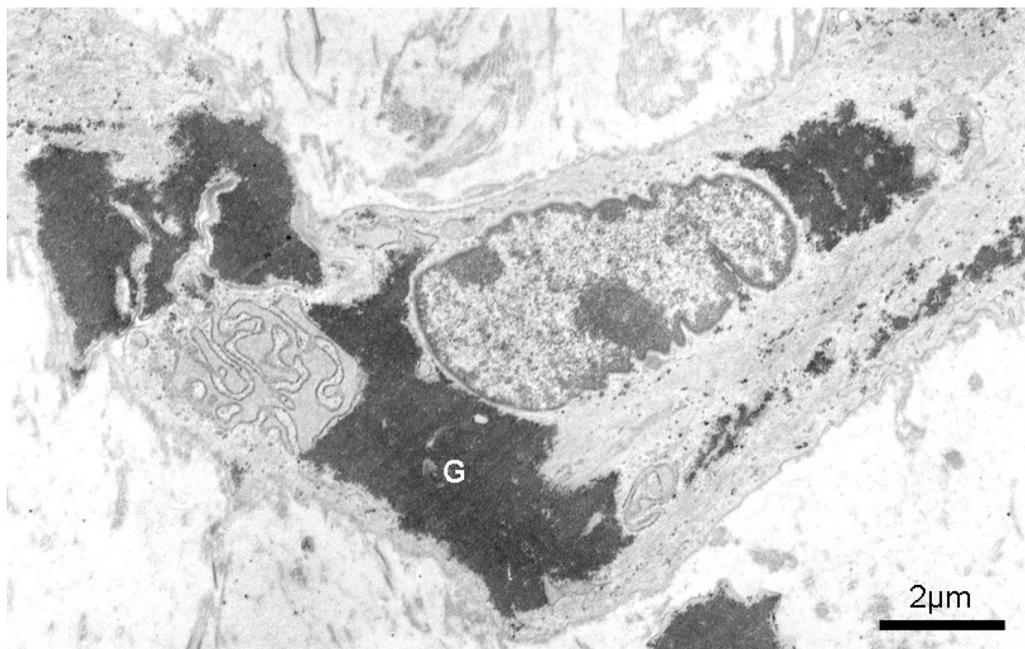


Abb. 54: Glatte Muskelzelle aus der Nabelarterie (SSL 15 cm) mit massiver Glykogeneinlagerung (G).

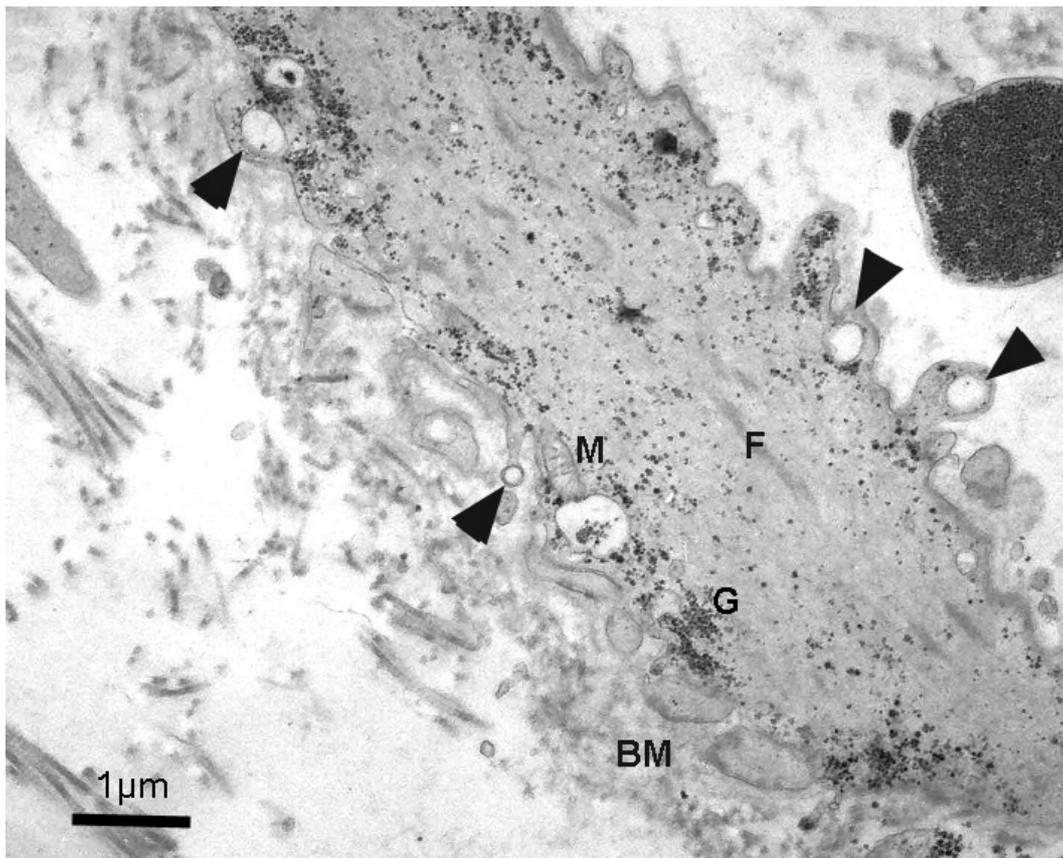


Abb. 55: Ausschnitt aus einer glatten Muskelzelle der Nabelvene (53 cm SSL). Neben einer Basalmembran (BM), Glykogen (G), Filamenten (F) und vereinzelt Mitochondrien (M) weist die Zelle pinocytotische Aktivität auf (Pfeilspitze).

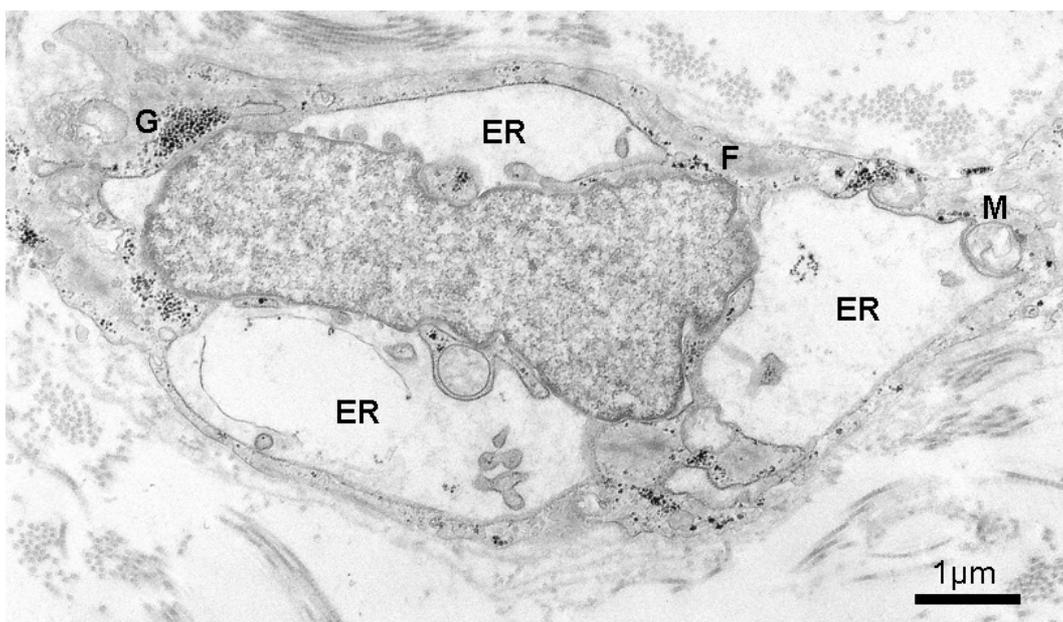


Abb. 56: Gefäßmuskelzelle aus der Nabelvene (53 cm SSL) mit massiver Dilatation des ER. Glykogen (G), Filamente (F) und die vereinzelt vorkommenden Mitochondrien (M) sind an den Zellrand gedrängt.

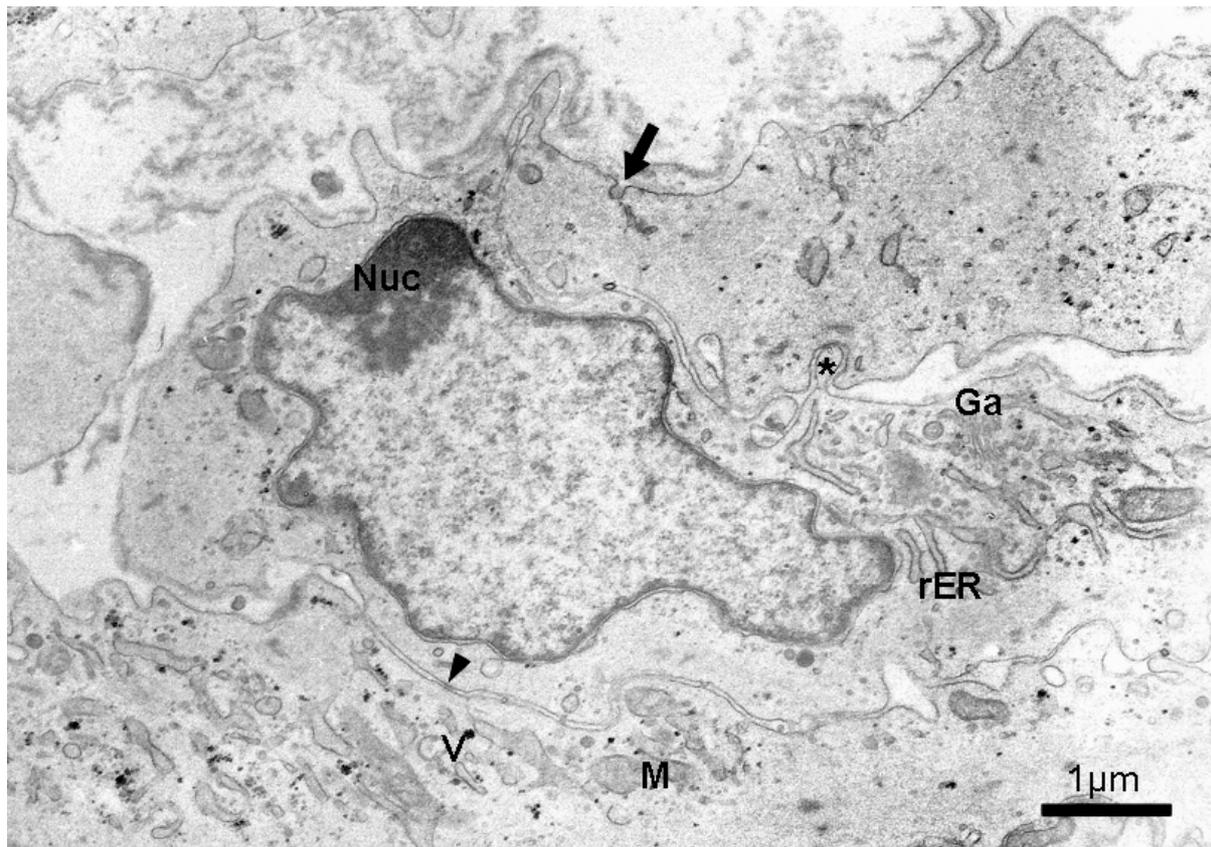


Abb. 57: Polygonale Mediazellen aus der Nabelvene der SSL 3,4 cm mit Mitochondrien (M), rER, Vakuolen (V), Golgi-Apparat (Ga) und pinocytoseartiger Membraneinstülpung (Pfeil). Der euchromatische Kern zeigt eine Marginalisierung des Nucleolus (Nuc). Zellkontakte sind in Form von Verzahnungen (Stern) und „tight junctions“ (Pfeilspitze) erkennbar.

4.5.2. Wharton Sulze

Größtenteils liegen die Zellen in der WS einzeln und werden weit durch die EZM voneinander separiert. Immer wieder kommt es aber zur Ausbildung von Zellkontakten. Bei einer SSL von 3,4 cm treten die polygonalen Zellen großflächig miteinander in Kontakt, wobei stellenweise „tight junctions“ ausgebildet werden (Abb. 60). Bei älteren Stadien berühren sich die WSZ über ihre langen Zytoplasmafortsätze. Um den Urachus bzw. unter dem Amnionepithel kommt es zu einer Anhäufung von WSZ. Unter dem Amnionepithel überlappen sich die in mehreren Schichten liegenden länglichen Zellen über größere Bereiche dachziegelartig. Dabei liegen die Zellmembranen der benachbarten Zellen ohne Verzahnungen dicht nebeneinander, wobei gelegentlich „tight junctions“ erkennbar sind (Abb. 61).

In frühen Stadien (3,4 cm) sind die WSZ meist von ovaler bis polygonaler Gestalt. Zu einem

späteren Zeitpunkt kommen jedoch auch lang gezogene Zellen mit dünnen Zytoplasmaausläufern vor (Abb. 58). Der Kern ist dann ebenfalls oval bis länglich und weist eine glatte Kernmembran auf. Größere heterochromatische Bereiche befinden sich an der Kernmembran, wobei auch im restlichen Karyoplasma vereinzelt Heterochromatin vorhanden ist.

Die WSZ enthalten immer Glykogen. Das Zytoplasma beinhaltet weiterhin einige Mitochondrien und Vakuolen, die teilweise mit elektronendichtem Material gefüllt sind. Am stärksten jedoch sind glattes und raues ER vertreten. Dies kann bereits bei den kleinsten SSL (3,4 cm) blasig dilatiert erscheinen. Bei älteren SSL kann es fast das gesamte Zytoplasma ausfüllen (Abb. 59). Die Oberfläche der Zellen erscheint besonders in frühen Stadien unruhig, da bläschenartige Ausstülpungen der Zytoplasmamembran existieren. Des Weiteren befinden sich nahe den Zellmembranen verschieden große Vakuolen, die einen mäßig elektronendichten Inhalt besitzen und teilweise Glykogen enthalten (Abb. 58 und 64). Vereinzelt sind Pinocytosevesikel erkennbar.

Die unter dem Amnionepithel befindlichen Zellen unterscheiden sich von den übrigen WSZ in folgenden Punkten: Wie bereits erwähnt, liegen die subepithelialen WSZ viel dichter zusammen. Bei älteren SSL handelt es sich dabei um zirka fünf bis acht Zellschichten. Es kommen jedoch auch einzeln liegende Zellen im subepithelialen Bereich vor. Die Kerne weisen ähnlich den Kernen der Gefäßmuskelzellen tiefe Einziehungen auf (Abb. 61 und 62). Im Zytoplasma können im Gegensatz zu den restlichen WSZ zahlreiche Filamente beobachtet werden (Abb. 62). Weiterhin beinhalten diese Zellen leicht dilatiertes ER, Vakuolen, Mitochondrien und Glykogen.

Die WSZ im Bereich des Urachus liegen sehr dicht und sind tendenziell von ovaler Gestalt, so dass lang gestreckte WSZ in diesem Bereich seltener als in der restlichen WS vorkommen. Der Zellkern dieser Zellen ist sehr groß (Abb. 63). Neben Glykogen beinhalten diese Zellen über große Teile des Zytoplasmas verteiltes, leicht dilatiertes rER, Mitochondrien und kleine Vakuolen (Abb. 64). Des Weiteren sind öfters Anschnitte von Golgi-Komplexen sichtbar. Das Zytoplasma wirkt zumindest bei einigen Zellen organellenreicher als in den Fibrozyten der restlichen WS. Eine starke Dilatation des ER kommt in dieser Region kaum vor. Jedoch sind die bläschenartigen Ausstülpungen der Zytoplasmamembran in den WSZ der Urachusregion häufiger vorhanden als in anderen Bereichen der WS (Abb. 64). Ab einer SSL von 15 cm sind im Urachusbereich neben den WSZ mit Fibrozytencharakter auch glatte Muskelzellen erkennbar. Diese länglichen Zellen besitzen einen gelappten länglichen Kern und beinhalten Glykogen. Die Zellen sind organellenarm (nur vereinzelt ER) und weisen ein

elektronendichtes Zytoplasma mit Filamenten und fokalen Verdichtungen auf. Auf der Zelloberfläche befinden sich größtenteils basallaminaartige Auflagerungen.

Neben den Stromazellen der WS kommen vereinzelt Mastzellen vor, die zahlreiche elektronendichte Granula aufweisen. Sie sind überwiegend in zentralen WS-Bereichen lokalisiert (Abb. 65).

Der Fasergehalt in der WS steigt wie in den Gefäßen im Laufe der Entwicklung an. Bei 3,4 cm SSL sind zwischen den Zellen nur vereinzelt kleine Faserbündel erkennbar, wobei der größte Teil der EZM aus elektronendurchlässiger Grundsubstanz besteht. In späteren Stadien (ab 42 cm SSL) sind dicht gepackte, dicke Kollagenfaserbündel vorhanden, die in allen drei Dimensionen des Raumes verlaufen (Abb. 58 und 59). Elastische Fasern kommen auch bei den ältesten Feten nur vereinzelt vor.

In der WS existieren zahlreiche Gefäße (Abb. 66). Nervale Strukturen können nicht nachgewiesen werden.

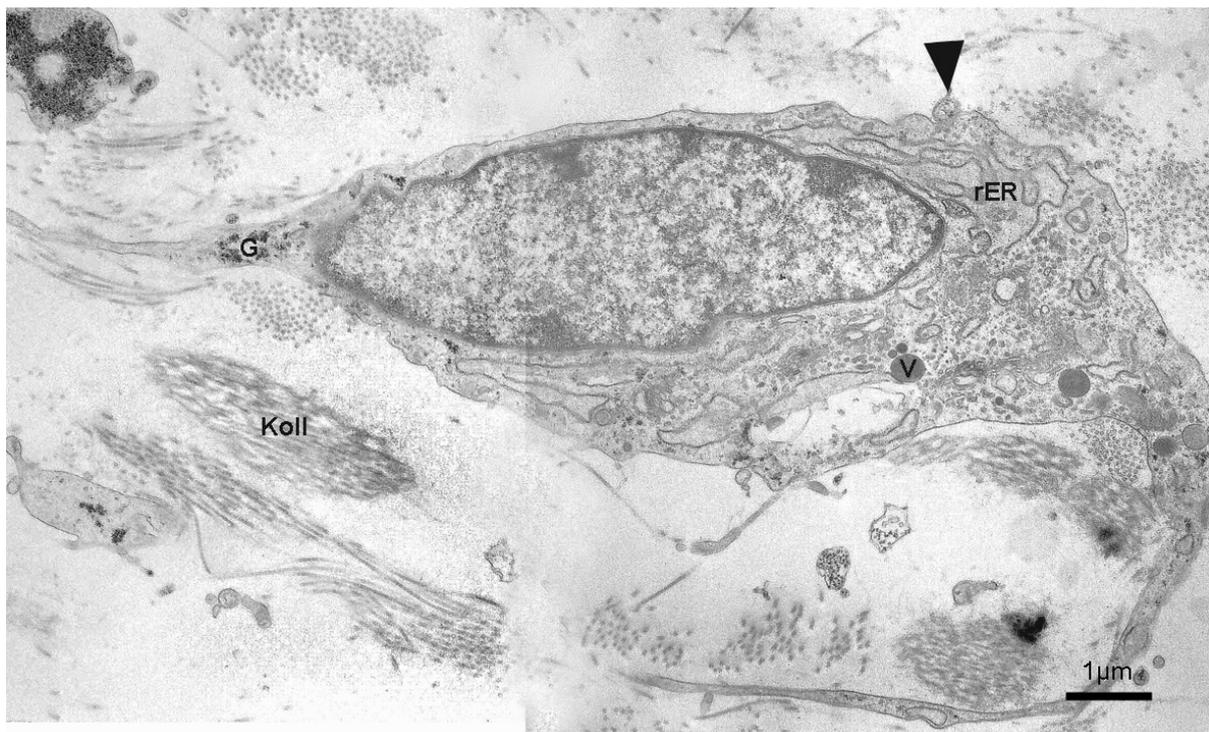


Abb. 58: WSZ mit länglichen Zytoplasmaausläufern und länglichem Kern (SSL 53 cm). Das Zytoplasma beinhaltet Vakuolen (V) verschiedener Größe und Elektronendichte, Glykogen (G) sowie besonders in Kernnähe leicht dilatiertes rER. Die Zytoplasmamembran weist bläschenartige Ausstülpungen auf (Pfeilspitze). Die Zelle wird von dicken Kollagenfaserbündeln umgeben (Koll).

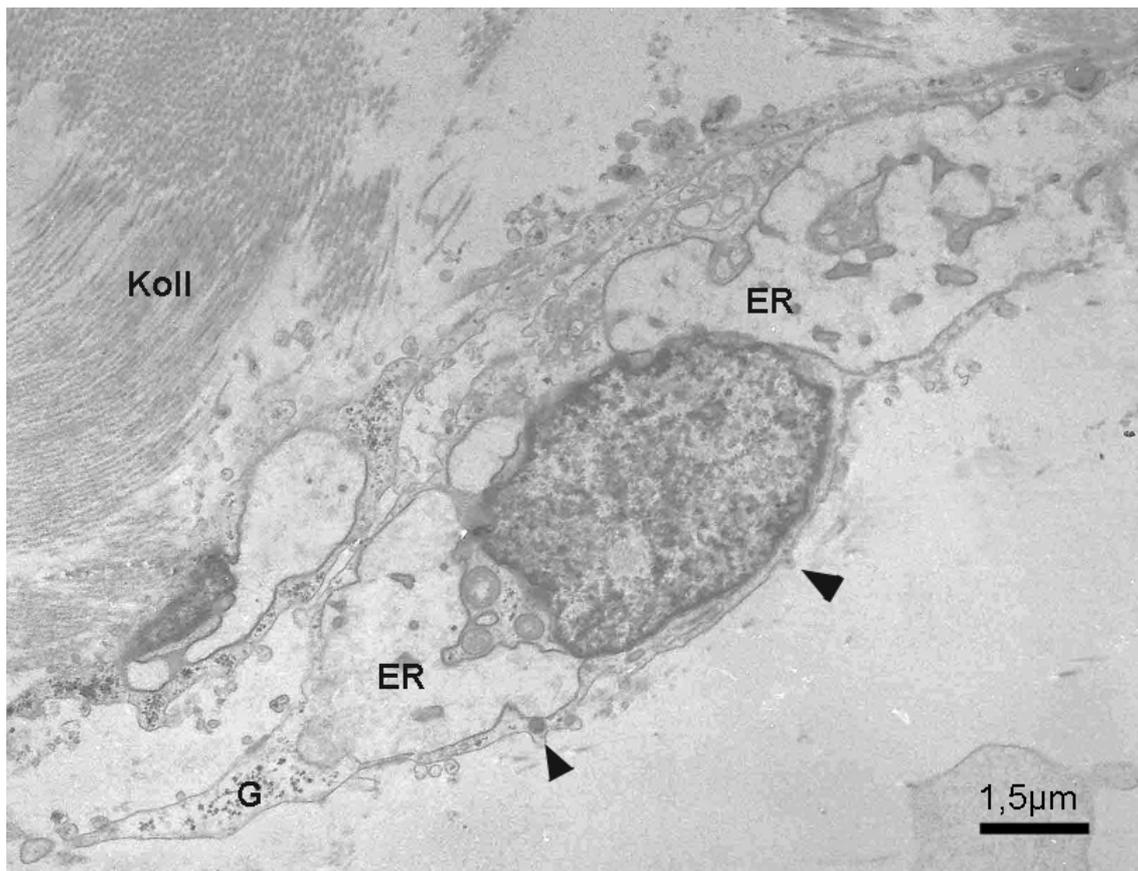


Abb. 59: Massive Dilatation des ER einer WSZ. Neben Glykogen (G) sind kaum andere Organellen vorhanden. Die Zytoplasmamembran besitzt bläschenförmige Ausstülpungen (Pfeilspitze). Dicke Kollagenfaserbündel (Koll) umgeben die Zelle. Fetus mit 53 cm SSL.

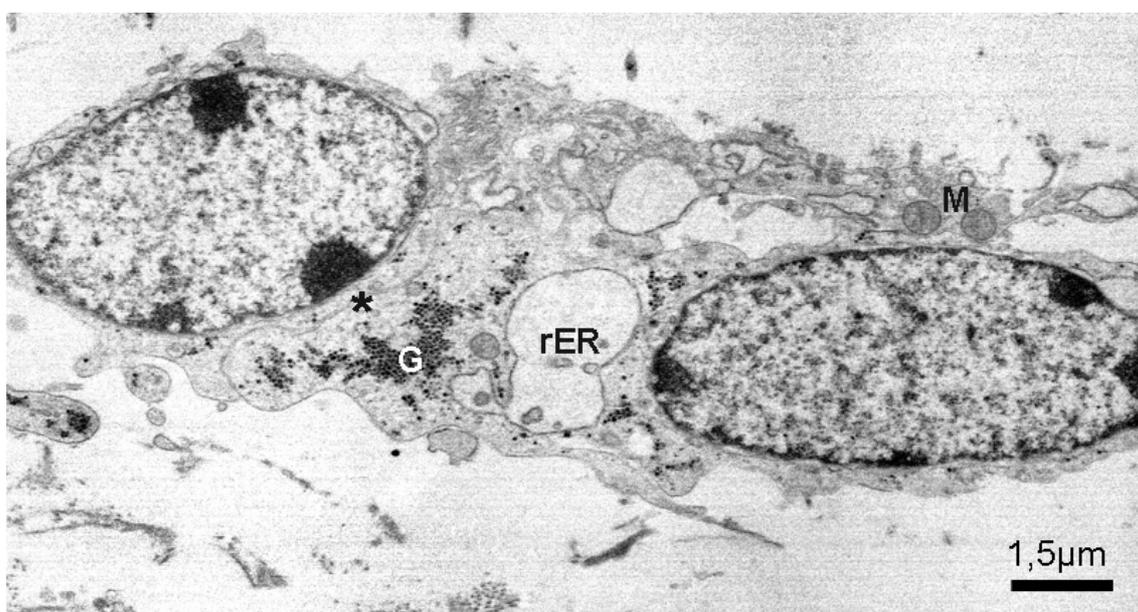


Abb. 60: WSZ nehmen breitflächig Kontakt auf. Stellenweise Ausbildung von „tight junctions“ (Stern). Die Zellen beinhalten weiterhin Glykogen (G), Mitochondrien (M) und bereits massiv dilatiertes rER. Fetus mit 3,4 cm SSL.

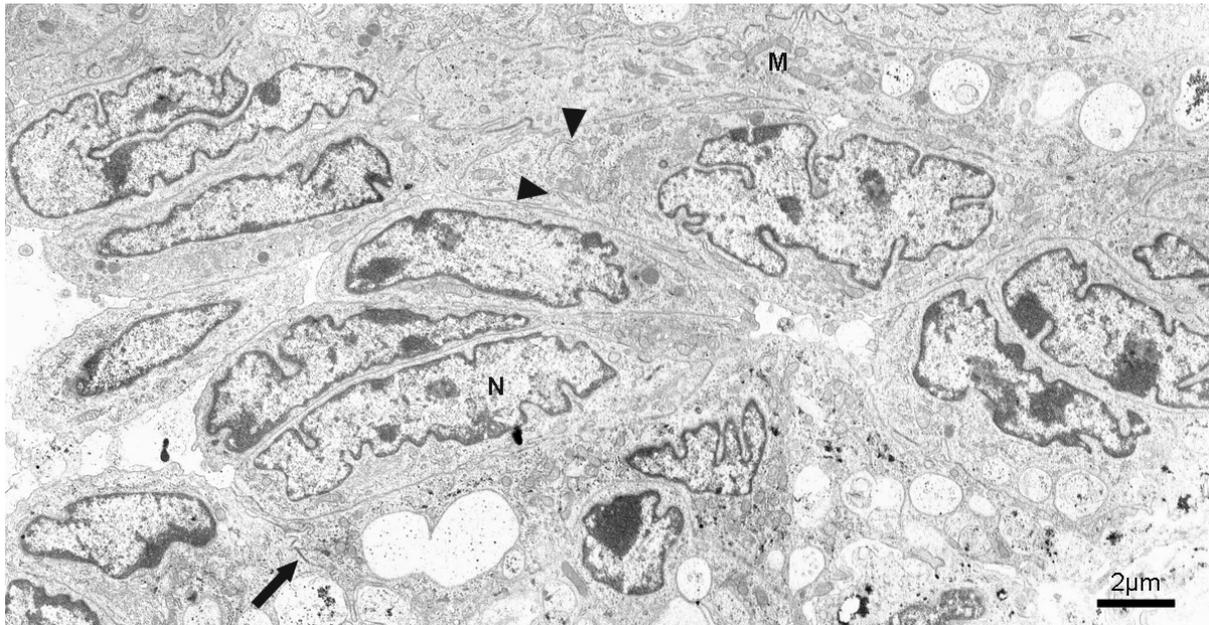


Abb. 61: Dicht liegende WSZ aus dem subamniotischen Bereich, wobei zwischen den Zellen stellenweise „tight junctions“ ausgebildet werden (Pfeil). Die Zellen besitzen einen großen Kern mit vielen Einziehungen (N), zahlreiche Mitochondrien (M) und gelegentlich Anschnitte von glatten und rauen ER (Pfeilspitze). Fetus mit 42 cm SSL.

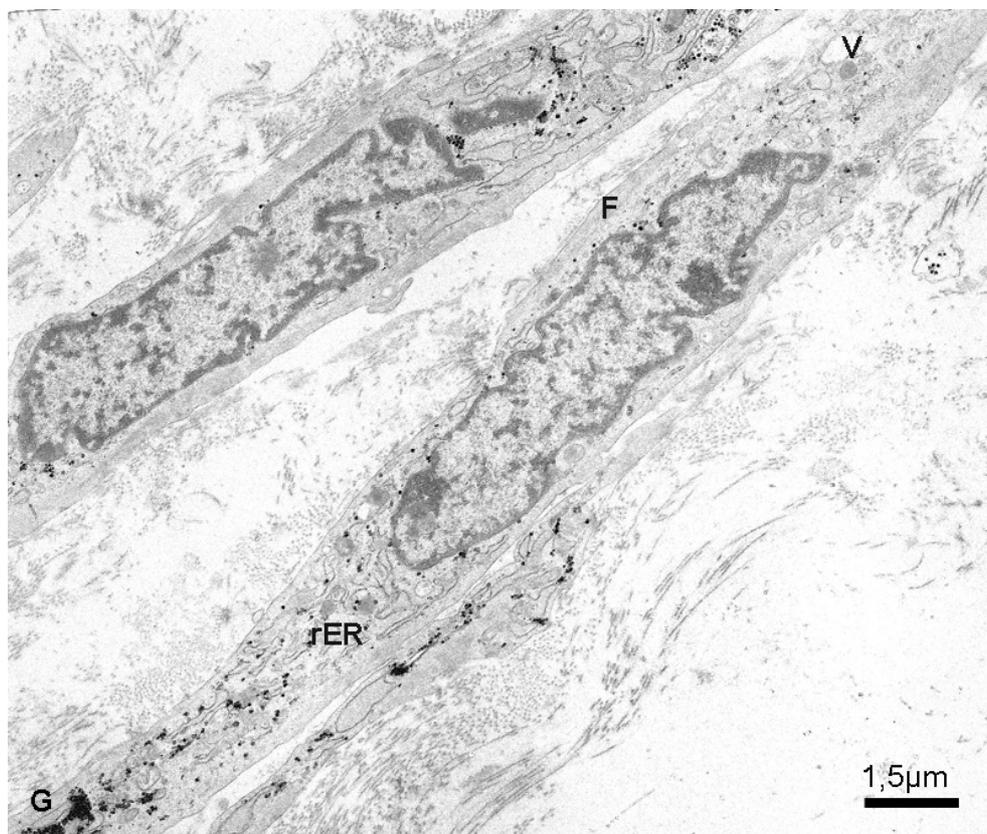


Abb. 62: Einzeln liegende WSZ der subamniotischen Zone. In den langgestreckten Zellen befinden sich Filamente (F), Vakuolen verschiedener Größe (V), Glykogengranula (G) sowie leicht dilatiertes rER. Fetus mit 53 cm SSL.

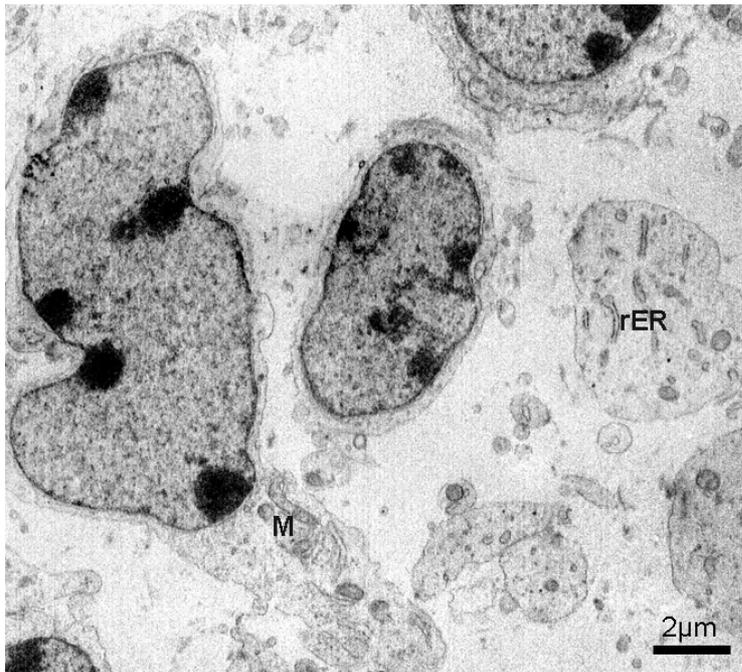


Abb. 63: Ovale WSZ in der Region des Urachus mit großem Kern. Im Zytoplasma sind Mitochondrien (M) und Zisternen des rER sichtbar. Fetus mit 3,4 cm SSL.

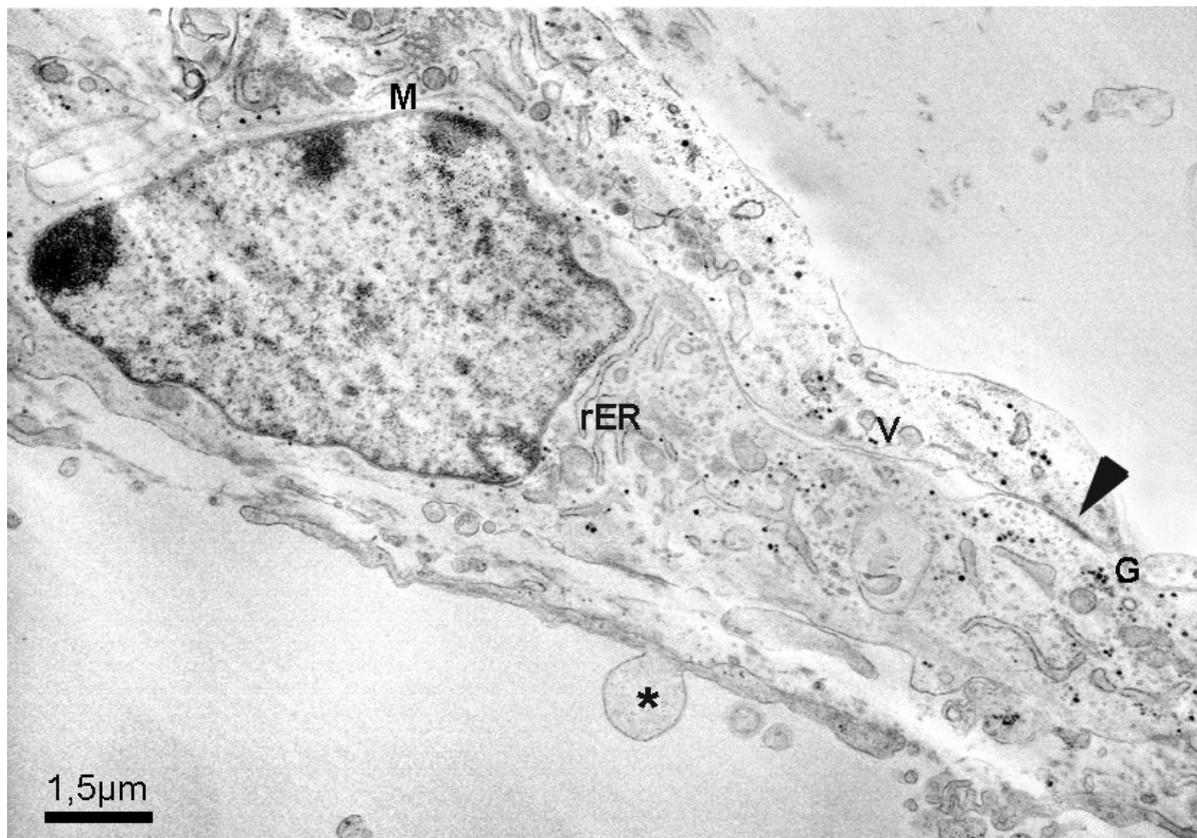


Abb. 64: WSZ in der Nähe des Urachus. Die Zellen stehen über „tight junctions“ miteinander in Kontakt (Pfeilspitze). Dominierend ist das rER, welches jedoch in diesem Bereich selten stark dilatiert ist. Mitochondrien (M), Glykogengranula (G) und Vakuolen (V) verteilen sich über das Zytoplasma. Die Zytoplasmamembran besitzt große bläschenförmige Ausstülpungen (Stern). Fetus mit 3,4 cm SSL.

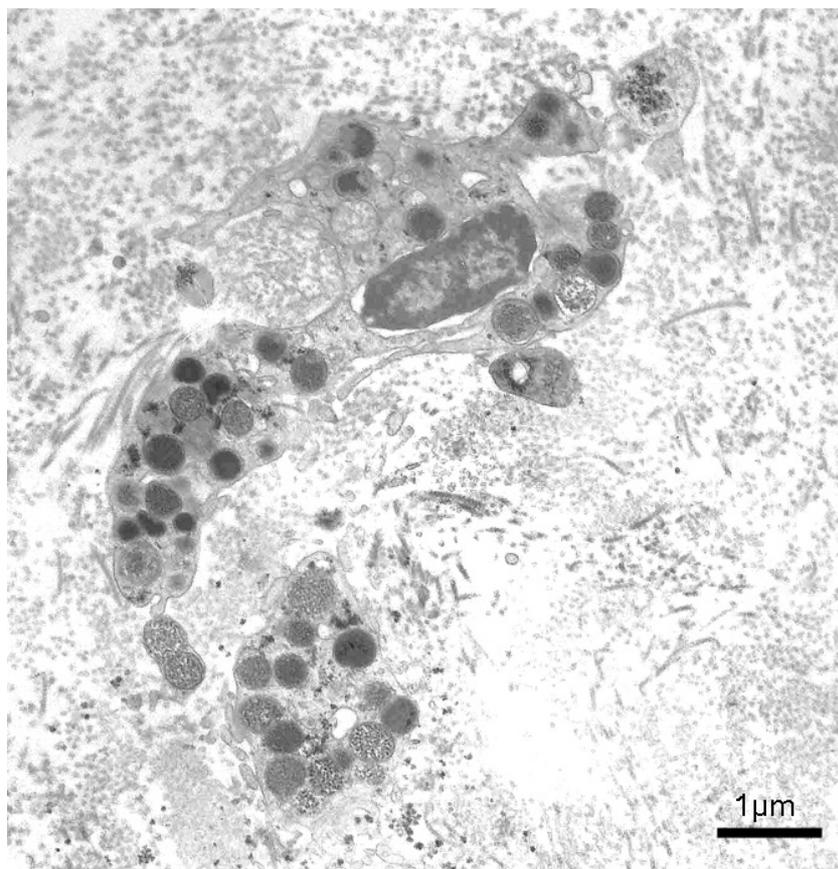


Abb. 65: Mastzelle in der WS mit elektronendichten Granula. Fetus mit 53 cm SSL.

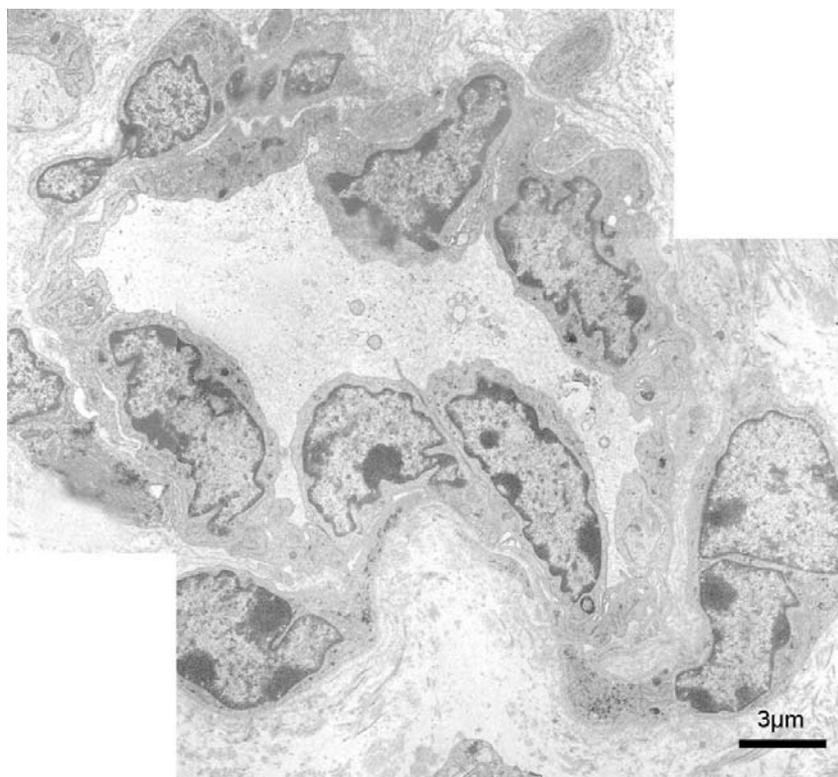


Abb. 66: Kleines Gefäß in der WS. Fetus mit 42 cm SSL.

4.5.3. Amnionepithel

Das Amnionepithel des Nabelstrangs kann einschichtig oder mehrschichtig sein. Die mehrschichtigen Bereiche nehmen im Laufe der Embryonalentwicklung zu. Die Zellen der einzelnen Schichten weisen Unterschiede auf. Dennoch gibt es Gemeinsamkeiten, die für alle Zellen zutreffen:

Alle Zellen enthalten Glykogen, wenn auch in unterschiedlichem Maße (z.B. Abb. 68). Eine Ausnahme stellen verhornende und verhornte Epithelzellen dar.

Die Zellen des einschichtigen Epithels, bzw. die apikalen Zellen der mehrschichtigen Plaques weisen an ihrer Oberfläche zahlreiche Mikrovilli auf (Abb. 67 und Abb. 71).

Die gesamte Plasmamembran der Amnionepithelzellen besitzt zahlreiche und tiefe Interdigitationen und fingerartige Fortsätze, wodurch eine intensive Verzahnung zwischen den einzelnen Zellen zustande kommt. Stellenweise ist der Interzellularraum (IZR) erweitert und wird dann von den fingerförmigen Fortsätzen, die miteinander in Kontakt stehen, durchquert (Abb. 71). Erweiterte Interzellularräume können besonders in den obersten verhornenden Zellschichten der geburtsreifen Nabelschnur (89 cm SSL) beobachtet werden. Zugleich werden zwischen den Zellen Desmosomen ausgebildet, die schon bei 3,4 cm SSL nachweisbar sind. Ihre Anzahl steigt im Laufe der Entwicklung deutlich an, so dass eine einzelne Zelle zahlreiche desmosomale Zellverbindungen aufweisen kann (Abb. 69). In Bereichen mit erweiterten IZR oder mit abschilfernden Epithelzellen (SSL 89 cm) sind nur noch vereinzelt desmosomale Zellverbindungen vorhanden. Bei mehrschichtigen Plaques bilden die basalen Zellen mit der darunterliegenden Basalmembran Hemidesmosomen aus. Im einschichtigen Epithel, das über größere Strecken vor allem bei den kleinen SSL vorhanden ist (3,4 cm), liegen die länglichen und flachen Zellen nicht streng abgegrenzt nebeneinander. Vielmehr kommt es zu einer dachziegelartigen Überlappung der Zytoplasmaausläufer. Wie bereits erwähnt, besitzen die Epithelzellen zahlreiche Mikrovilli und enthalten über das gesamte Zytoplasma verteilte und in Gruppen angeordnete Glykogenpartikel. Neben hellen und dunklen Vakuolen sind Mitochondrien und Zisternen des rER erkennbar (Abb. 67).

Die rundlichen bis isoprismatischen Basalzellen der mehrschichtigen Epithelbereiche besitzen ebenfalls einen großen runden Kern. Bezüglich ihres Zellinhaltes entsprechen sie den Zellen des einschichtigen Epithels (ER, Mitochondrien, Vakuolen verschiedener Elektronendichte, Glykogen). Die apikalen Epithelzellen können rundlich oder etwas abgeflacht sein. Der Kern passt sich der Zellform an. Es kommen heterochromatinarme und -reiche Zellkerne vor. Mikrovilli der apikalen Zellmembranen sind immer zahlreich vorhanden. Neben Glykogen

und Vakuolen kommen zum Teil deutlich dilatiertes rER und gelegentlich Mitochondrien vor. Weiterhin sind auch Filamente und membrannahe Vesikel vorhanden (Abb. 68). Die mittleren Zellschichten unterhalb der apikalen Zellen bestehen aus extrem glykogenreichen, länglichen oder polygonalen Zellen. Das Glykogen füllt große Teile des sonst organellenfreien Zytoplasmas aus. An glykogenfreien Stellen können Filamentbündel beobachtet werden (Abb. 68). Bei vielschichtigen Plaques können zusätzlich extrem filamentreiche, aber glykogenarme Zellen vorkommen. Neben vereinzelt Vakuolen sind kaum weitere Organellen erkennbar. Die Filamente strahlen in die zahlreich vorhandenen Desmosomen ein (Abb. 69). In einigen dieser Zellen sind Keratohyalin granula vorhanden. An manchen Stellen ist eine Verdickung der Zytoplasmamembran erkennbar (Abb. 70).

Die beschriebene Morphologie trifft hauptsächlich auf Plaques späterer Stadien zu. Bei kleinen Feten (3,4 cm und 11 cm SSL) ist eine Differenzierung der einzelnen Zellen innerhalb der Epithelwarze noch nicht deutlich erkennbar. Vielmehr handelt es sich bei allen Zellen um große rundliche Zellen mit großem, rundem, euchromatinreichem Kern. Die Amnionepithelzellen von Feten kleiner SSL weisen nur gelegentlich Filamente auf. Sie besitzen alle einen moderaten Gehalt an Mitochondrien, ER und Vakuolen. Des Weiteren sind deutliche Glykogen granula und Desmosomen vorhanden (Abb. 67).

Neben den lokal begrenzten Plaques treten bei den ältesten Feten auch über größere Strecken mehrschichtige Amnionepithelbereiche auf. Dabei sind die obersten Zellschichten verhornt. Die verhornten Zellen sind stark abgeflacht und beinhalten weder Zellkerne, noch Organellen oder Glykogen. Das Zytoplasma ist homogen und relativ dunkel. Der IZR ist stellenweise erweitert, wodurch der Eindruck „lose“ liegender Zellen entsteht. Kleine Zellfortsätze stehen aber meist weiterhin miteinander in Kontakt und überbrücken den IZR. Desmosomale Verbindungen sind in den obersten Zellschichten sehr selten vorhanden. Stellenweise kommt es zur Abschilferung der apikalen Zellschichten. Unter den verhornten Schichten liegen lang gezogene Zellen mit länglichem Kern. Sie enthalten Glykogen, Filamente und vereinzelt Vakuolen. Die IZR sind auch in dieser Region stark erweitert. Zwischen den fingerartigen Zellfortsätzen sind aber noch mehr Desmosomen ausgebildet als in den obersten Schichten (Abb. 71).

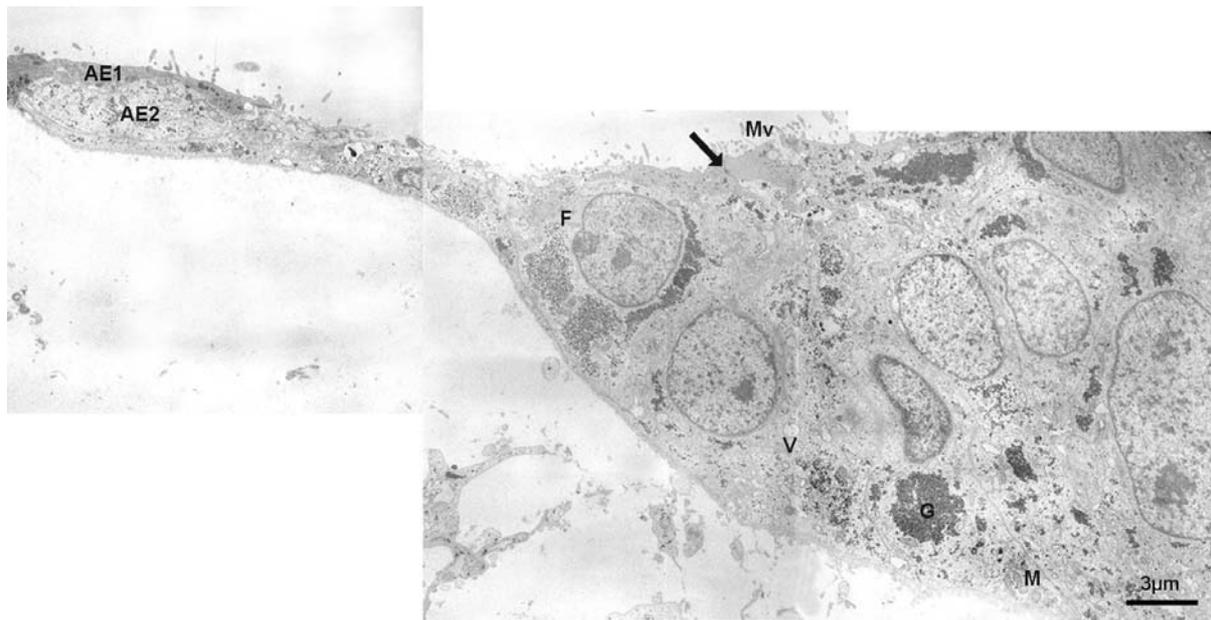


Abb. 67: Einschichtiger und mehrschichtiger Amnionepithelbereich mit Mikrovilli (Mv) und desmosomalen Zellverbindungen (Pfeil). Die Zellen enthalten Glykogen (G), Mitochondrien (M), kleine Vakuolen (V) und stellenweise dünne Filamentbündel (F). Im einschichtigen Bereich dachziegelartige Überlappung der Amnionepithelzellen (AE1 und AE2), im mehrschichtigen Bereich große runde Zellen mit großem Kern. Fetus mit 3,4 cm SSL.

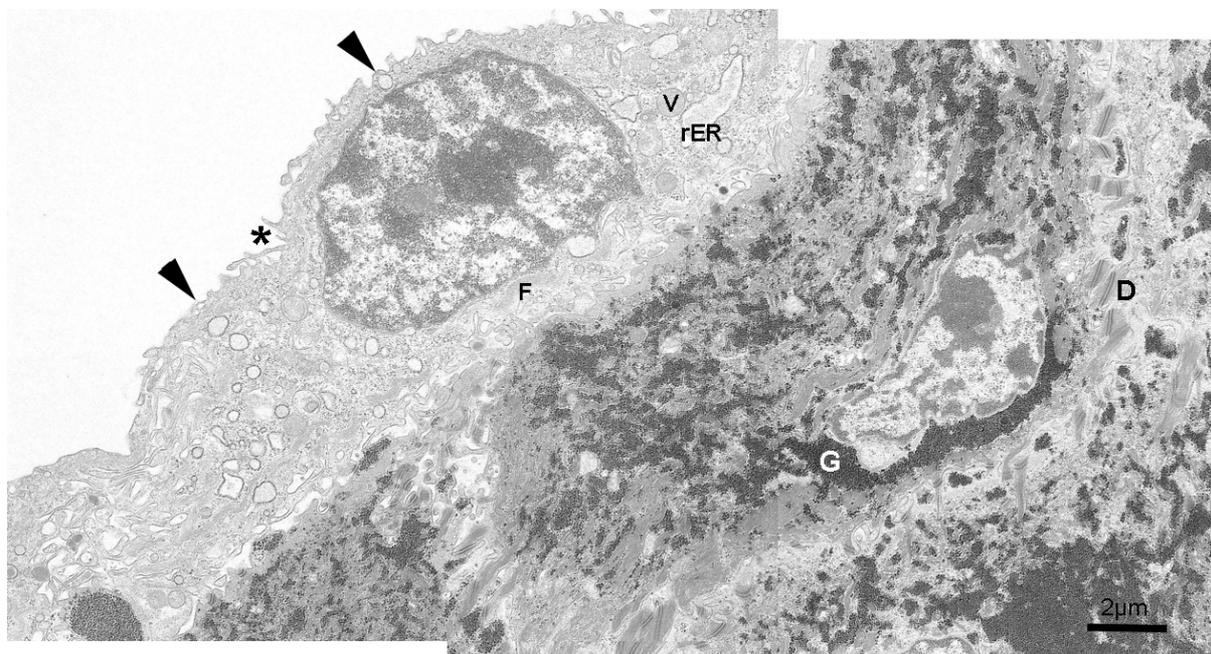


Abb. 68: Apikale und mittlere Zellschichten einer Amnionepithelwarze eines Fetus mit 42 cm SSL. Apikale Zellschicht mit Mikrovilli (Stern), leicht dilatiertem rER (rER), zahlreichen Vakuolen verschiedener Größe und Elektronendichte (V), Filamenten (F) und membranahnen Vesikeln (Pfeilspitzen). In den mittleren Zellschichten sind deutliche Glykogeneinlagerungen (G) und Desmosomen (D) erkennbar.

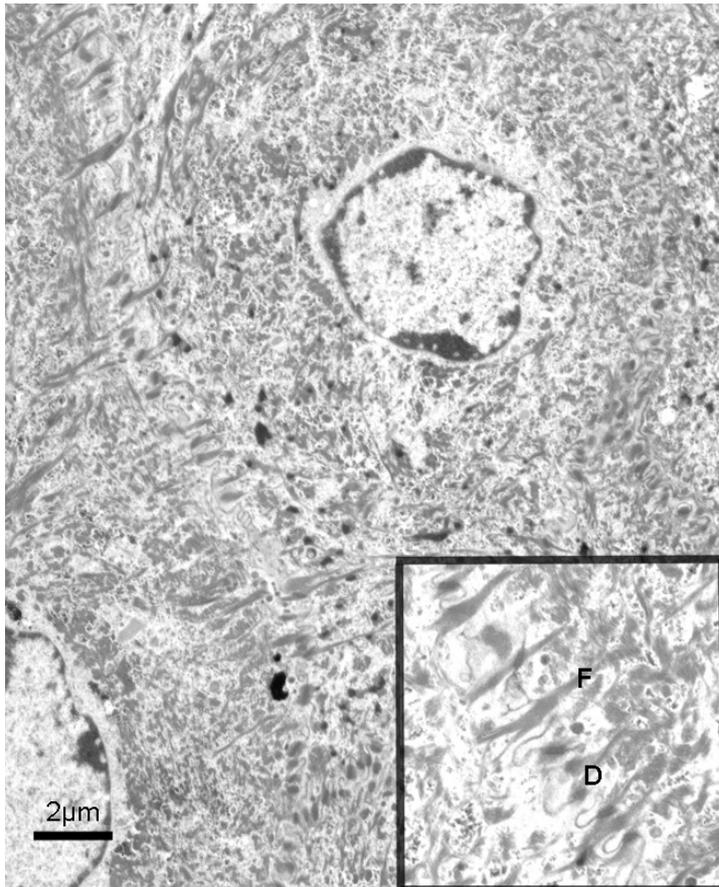


Abb. 69: Filamentreiche (F)
Amnionepithelzelle aus den mittleren
Zellschichten eines amniotischen Plaques
mit zahlreichen Desmosomen (D), die
besonders gut in dem vergrößerten
Bildausschnitt zu erkennen sind. Fetus mit
42 cm SSL.



Abb. 70: Filamentreiche (F)
Amnionepithelzelle aus den mittleren
Zellschichten mit verdickten
Zytoplasmamembranen (Pfeilspitze). Fetus
mit 42 cm SSL.

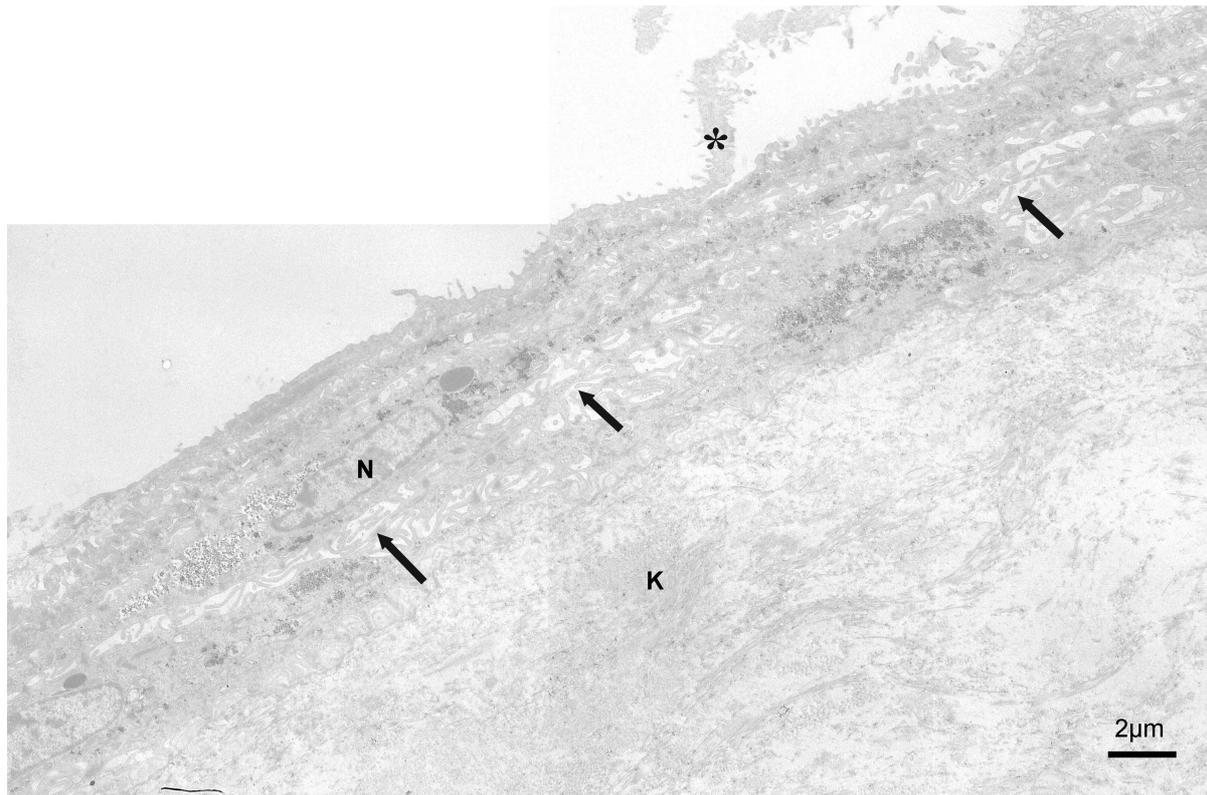


Abb. 71: verhornendes Amnionepithel. Abschilfernde kernlose Zellreste (Stern) sowie flache Amnionepithelzellen mit elongiertem Kern (N), zahlreichen kleinen Zellfortsätzen und erweitertem Interzellularraum (Pfeile). Subepithelial Bündel von Kollagenfasern (K). Fetus mit 89 cm SSL.

4.5.4. Urachus

Die Anzahl der Zellschichten im Urachusepithel nimmt im Laufe der Entwicklung deutlich zu. Allerdings können auch gelegentlich bei älteren Feten stellenweise Epithelbereiche mit nur zwei bis drei Zellschichten beobachtet werden.

Bei einer SSL von 3,4 cm besteht das Epithel aus großen, kuboidalen bis rundlichen Zellen (Basalzellen) und einer apikalen Schicht flacher Zellen (Deckzellen), die mit ihren langen Zytoplasmaausläufern mehreren Basalzellen aufliegen. Die Basalzellen früherer Stadien besitzen einen runden, glatt konturierten Kern. In dem euchromatinreichen Kern ist oft eine Marginalisierung des Nucleolus zu beobachten. Bezüglich ihrer Zytoplasmahalte unterscheiden sich Basalzellen und Deckzellen kaum voneinander. Glykogen kommt in diesem Stadium in allen Urachusepithelzellen in geringem Maße vor. Die einzeln liegenden Glykogenpartikel verteilen sich dabei über das gesamte Zytoplasma. Im Zytoplasma befinden sich weiterhin einige Mitochondrien vom Cristae-Typ, dünne Schläuche von rER sowie vereinzelt kleine helle und elektronendichte Vakuolen. Gelegentlich sind an der Zytoplasmamembran kleine blasige Ausstülpungen zu sehen. Zwischen allen Zellen kommt

es zur Ausbildung von Desmosomen. Unter den Basalzellen ist eine feine Basalmembran vorhanden (Abb. 72).

Bei älteren Stadien (ab einer SSL von 26 cm) verändert sich das Urachusepithel deutlich (Abb. 74). Es ist nun größtenteils mehrschichtig. Die Zellkerne weisen kleine Einziehungen auf. Die gesamte Plasmamembran bildet zahlreiche kleine Fortsätze aus, so dass die Oberfläche der Zellen nicht mehr glatt erscheint. Zwischen den Fortsätzen benachbarter Zellen sind Desmosomen ausgebildet (Abb. 75). Die Anzahl der desmosomalen Verbindungen steigt im Laufe der Entwicklung deutlich an. Die auffälligste Veränderung während der pränatalen Entwicklung stellt das Auftreten zahlreicher Vakuolen in den Urachusepithelzellen dar. Dabei nehmen die Anzahl und Größe der Vakuolen von basal nach apikal zu (Abb. 74 und Abb. 75). Verglichen mit den Basalzellen der kleinen SSL sind die Basalzellen der späteren Stadien geringfügig glykogen- und organellenärmer. In den anderen Zellen sind außer zahlreich auftretender Vakuolen kaum membranbegrenzte Organellen erkennbar. Dafür sind in größeren Mengen Filamente vorhanden. Die Vakuolen können hell oder dunkel sein und eine beträchtliche Größe annehmen. In Kernnähe entstehen bei vielen Zellen besonders große, vakuolig bis blasig dilatiert erscheinende Strukturen (Abb. 75). Glykogenpartikel sind auch bei älteren Stadien in jeder Zelle vorhanden. Einzelne Zellgrenzen sind aufgrund der vakuoligen Struktur fast nur an den desmosomalen Zellverbindungen zu identifizieren. Es kann deshalb nur erahnt werden, dass sich apikal eine Schicht sehr flacher Zellen befindet.

Die oben beschriebene Struktur bestimmt den größten Bereich des Urachusepithels bei späteren Stadien. Stellenweise ist aber auch hier das Epithel nur zwei- oder dreischichtig. Die Zellen sind dabei länglich und besitzen einen entsprechend geformten Kern. Oft sind die Zellen sehr glykogenhaltig. Die Vakuolisierung ist in den Bereichen mit weniger Zellschichten deutlich geringer ausgeprägt. Weiterhin kommen Mitochondrien und Filamente vor. In den apikalen Zellen sind zum Lumen hin bläschenartige kleine Ausstülpungen erkennbar (Abb. 73).

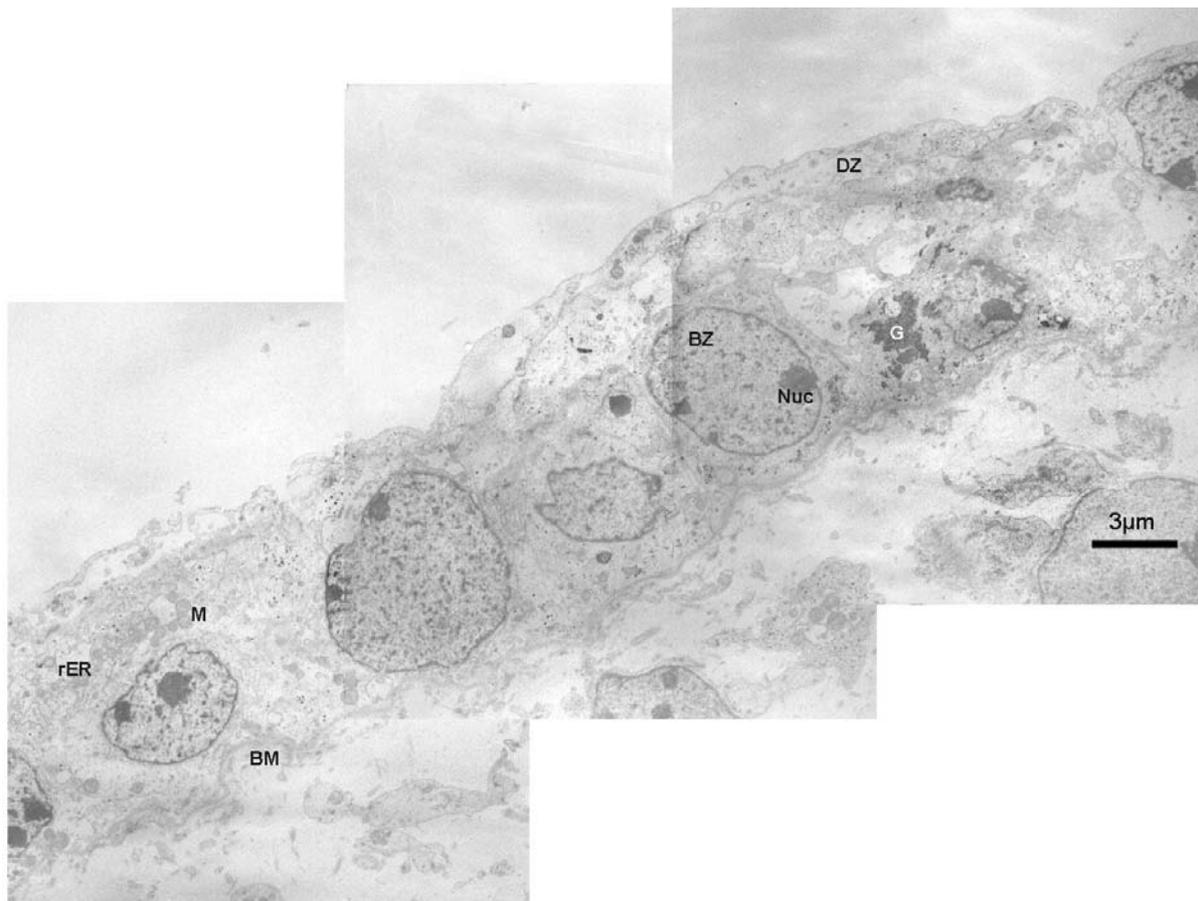


Abb. 72: Urachusepithel mit großen isoprismatischen bis rundlichen Basalzellen (BZ) und mit apikal aufliegenden flachen Deckzellen (DZ). Die Zellen beinhalten Glykogen, Mitochondrien (M) und Zisternen des rER. Eine Marginalisierung des Nucleolus (Nuc) ist in diesem Stadium öfters zu sehen. Eine feine Basalmembran (BM) ist erkennbar. Fetus mit 3,4 cm SSL.

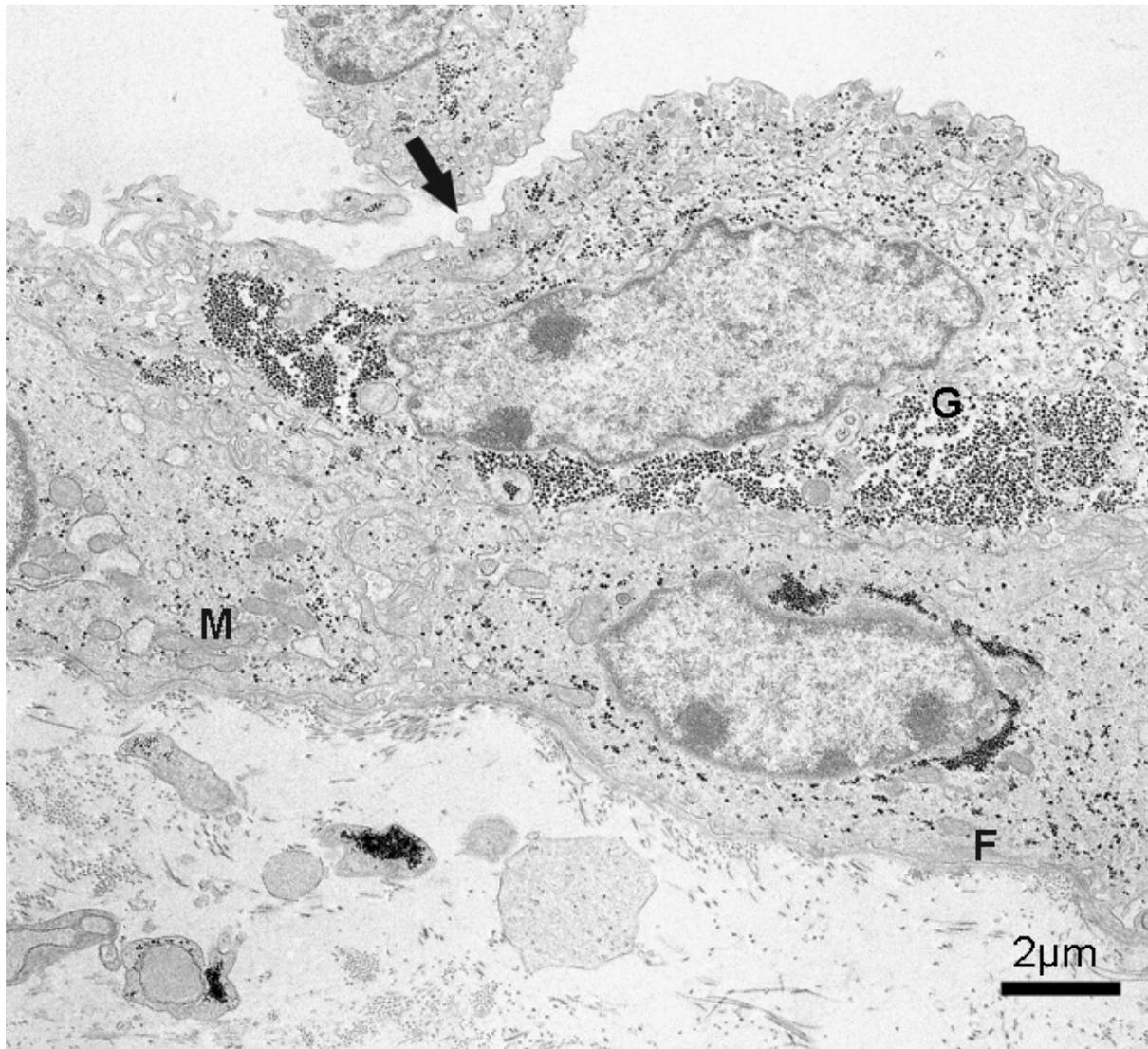


Abb. 73: Zweiseichtiges Urachusepithel eines Fetus mit 53 cm SSL. Deutliche Glykogeneinlagerungen (G), zahlreiche Mitochondrien (M) sowie dünne Filamentbündel (F) erkennbar. Apikal befinden sich bläschenförmige Zytoplasmaausstülpungen (Pfeil).

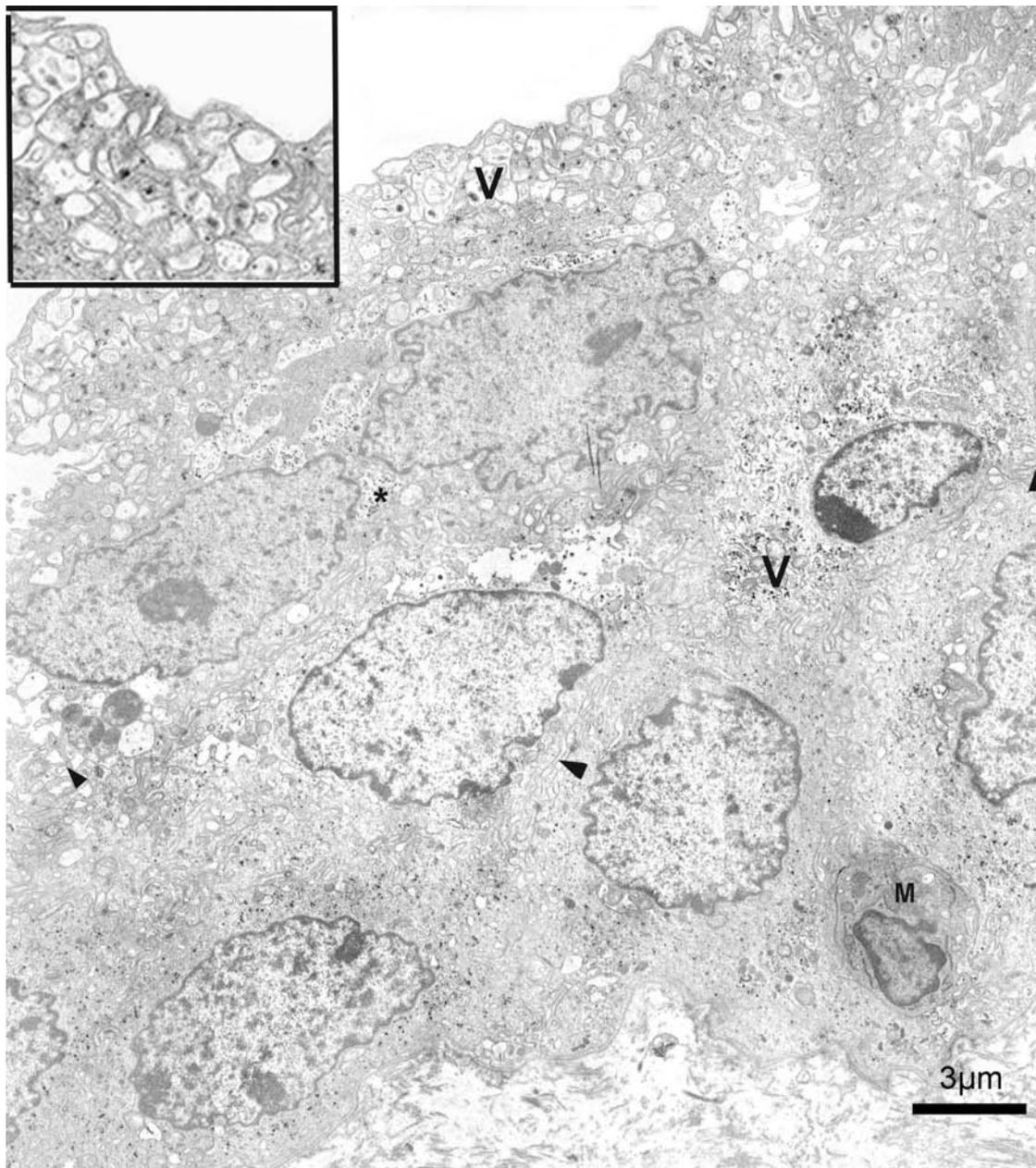


Abb. 74: Übersicht über das mehrschichtige Urachusepithel. Die Zellen sind über tiefe Verzahnungen miteinander verbunden (Pfeilspitze). Es sind zahlreiche Vakuolen (V) im Zytoplasma, deren Anzahl von basal nach apikal zunimmt. Das kleine Bild zeigt einen Ausschnitt aus dem lumennahen Bereich. Glykogengranula (Stern) liegen über das gesamte Zytoplasma verteilt. Vereinzelt sind in den Basalzellen Mitochondrien (M) vorhanden. Fetus mit 65 cm SSL.

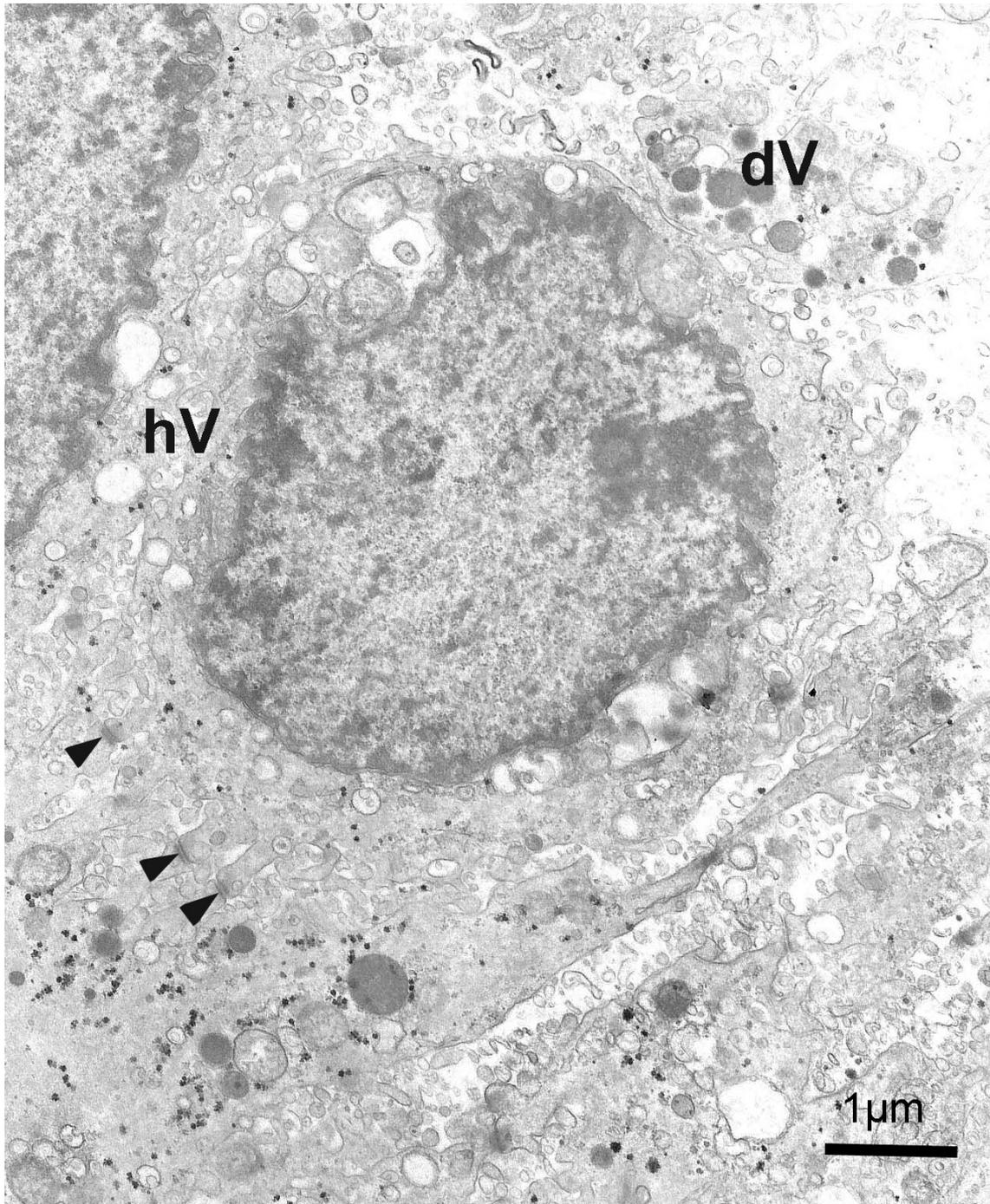


Abb. 75: Urachsepithelzelle mit hellen (hV) und dunklen (dV) Vakuolen. An den fingerförmigen Zytoplasmafortsätzen sind zahlreiche Desmosomen ausgebildet (Pfeilspitzen). Fetus mit 89 cm SSL.

5. DISKUSSION

5.1. Makroskopische Aspekte

In der Nabelschnur des Rindes kommen zwei Nabelvenen und zwei Nabelarterien vor. Die Nabelgefäße des Rindes besitzen einen weitgehend geraden Verlauf, während beim Menschen die Nabelgefäße mehrfach spiralisiert vorliegen. Eine Spiralisierung der Nabelgefäße scheint zumindest beim Menschen von großer funktioneller Bedeutung zu sein, da eine verminderte Anzahl oder ein Fehlen der Helices mit einer erhöhten perinatalen Sterblichkeitsrate oder fetalen Anomalien eng korreliert sind (Strong et al., 1993; Strong et al., 1994). Es gilt beim Menschen als gesichert, dass ein helikaler Gefäßverlauf das Risiko für obstruktive Verknotungen und Torsionen minimiert. Die Verdrillung der Gefäße verleiht der gesamten Nabelschnur Turgor, ohne dass sie an Flexibilität einbüßt. Des Weiteren wirken spiralisierte Nabelgefäße als eine Art pulsometrische Pumpe, die die fetale kardiale Vorlast durch Steigerung des plazentaren venösen Rückflusses erhöhen (Malpas und Symonds, 1966; Strong, 1997). Die Ursache der Verdrillung ist unklar. Eine Hypothese postuliert eine von Beginn an festgelegte Windungsanzahl aufgrund der genetisch determinierten helikalen Anordnung der Gefäßmuskelzellen und des vorherrschenden Blutdrucks (Malpas und Symonds, 1966). Die zweite Hypothese zieht eine sekundäre, durch fetale Aktivität und Bewegung verursachte Entstehung der Helices in Betracht (Benirschke und Kaufmann, 2000). Sie wird durch die Beobachtung bestätigt, dass bei durch amniotische Bänder an die Plazenta fixierte menschlichen Feten sowie bei Walfeten, die auf Grund der beengten räumlichen Verhältnisse im Uterus der Walkuh keine Drehbewegungen durchführen, keine Windungen gefunden werden. Es kann also nicht sicher entschieden werden, ob ein Ausbleiben der Spiralisierung zu der erwähnten erhöhten perinatalen Sterblichkeit führt oder ob sie durch die Inaktivität zentralnervös gestörter Feten verursacht wird (Strong et al., 1993). Eine Torsion der Nabelgefäße kam in meinen Untersuchungen nur bei Feten unter einer SSL von 15 cm vor, während in späteren Stadien ausschließlich ein gerader Verlauf der Nabelgefäße zu beobachten war. Es ist jedoch unklar, ob bei den kleinen SSL mit den spiralisierten Gefäßen im Laufe der Entwicklung ein gerader Gefäßverlauf entstanden wäre. Weiterhin ist zu beachten, dass bei der Probennahme am Schlachthof nur sehr selten geburtsreife Feten zur Verfügung standen. Es ist deshalb nicht auszuschließen, dass bei der Untersuchung einer größeren Anzahl geburtsreifer Feten, Nabelschnüre mit Gefäßverdrillung gefunden worden wären. Die Ergebnisse decken sich aber mit den Beobachtungen beim kleinen Wiederkäuer, bei dem zum Geburtszeitpunkt ebenfalls ein gerader Gefäßverlauf vorliegt (Reynolds, 1952).

Warum es beim Rind trotz fehlender Spiralisierung nicht zur obstruktiven Torsion oder Verknotung der Nabelgefäße kommt, ist noch unklar. Dabei könnte die im Verhältnis zum Menschen kürzere Nabelschnur eine Rolle spielen. Da sowohl eine kurze als auch eine unspiralisierte Nabelschnur mit einer geringen fetalen Beweglichkeit erklärbar sind (Naeye und Tafari, 1983; Benirschke und Kaufmann, 2000), scheint beim fetalen Rind prinzipiell eine niedrige intrauterine Aktivität vorzuliegen, weshalb die Verknotungsgefahr generell nicht so hoch einzuschätzen ist. Weiterhin wäre die von Strong (1997) beschriebene Pumpfunktion verdrillter Gefäße in einer kurzen Nabelschnur, wie sie beim Rind vorliegt, nicht so bedeutungsvoll. Der aber für die Entwicklung des Fetus essentielle Schutz vor Kompression der Gefäße muss beim Rind durch andere Mechanismen gesichert werden. Es wäre denkbar, dass bei Spezies mit geradem Gefäßverlauf die WS einen Großteil der Schutzfunktion übernimmt. Einen Hinweis darauf gibt das unterschiedliche Verhalten der WS des Menschen und des Schafes bei noch mit Blut gefüllten Nabelschnurgefäßen. Die WS des Menschen wird dabei an den Rand gedrängt und besteht nur noch aus einer dünnen, kompakten Schicht. Die WS des Schafes hingegen kann dem durch die Gefäßfüllung entstehenden Druck besser Widerstand leisten und verändert kaum ihr Volumen gegenüber der blutleeren Nabelschnur. Die WS der kleinen Wiederkäuer ist also verglichen mit der des Menschen weniger komprimierbar. Eine ähnliche Konsistenz und ein ähnliches Verhalten könnte auch die WS des Rindes aufweisen, wobei durch die Eigenschaften der WS ein passiver Gefäßschutz gewährleistet wird. Die unterschiedliche Konsistenz der WS ist beim Rind unter anderem auf das Vorkommen elastischer Fasern zurückzuführen, die der WS des Menschen fehlen (Meyer et al., 1983). Die passiv elastischen Eigenschaften der elastischen Fasern könnten einer Kompression der Gefäße und einem Volumenverlust der WS entgegenwirken. Neben diesen passiven Komponenten ist auch eine aktive Beteiligung der WS denkbar. In der WS des Rindes entwickelt sich unterhalb des Amnionepithels eine breite Schicht α -smooth-muscle-Aktin positiver Zellen, die durch ihre zirkuläre Anordnung eine sphinkterähnliche Funktion übernehmen dürften. Die Zellen besitzen licht- und elektronenmikroskopisch Merkmale von glatten Muskelzellen bzw. von Myofibroblasten. Aufgrund ihrer α SMA-Expression und ihrer Morphologie handelt es sich wahrscheinlich um kontraktile Zellen (Skalli et al., 1986). Der nicht nur beim Wiederkäuer sondern auch beim Pferd beschriebene „Sphinkter“ kontrahiert sich nachweislich während der Geburt, wenn die Nabelschnur gedehnt wird (Arvy und Pilleri, 1976). Bei Kontraktion dieser Zellen würde in der Peripherie der Nabelschnur ein fester Ring entstehen, der eine Versteifung der Nabelschnur zur Folge hat und die darin befindlichen Gefäße wie eine Manschette umgibt und sie somit vor Kompression und Verknotung schützt.

Bei stärkerer Gefäßfüllung könnte die Kontraktion des Muskelrings auch der Verdrängung der WS in die Peripherie entgegenwirken, wie es von Reynolds (1952) beim Schaf beschrieben wurde. Ob das Fehlen der Nabelschnurverdrillung durch eine geringe intrauterine Beweglichkeit des Fetus bedingt ist oder eine genetische Determination ausschlaggebend ist, ist noch nicht geklärt. Regelmäßige Untersuchungen während der Trächtigkeit könnten Aussagen über fetale intrauterine Aktivitäten des Rindes ermöglichen.

Bei allen untersuchten Feten konnte eine querverlaufende Gefäßverbindung zwischen den beiden Nabelarterien nachgewiesen werden. Young et al. (1963) konnten hingegen nur bei 54% der geburtsreifen Rinderfeten, jedoch bei 75% früher Feten eine Gefäßanastomose erkennen. Ihrer Meinung nach verliert die Anastomose im Laufe der Entwicklung ihre Bedeutung. Diese Ergebnisse können von mir nicht bestätigt werden, da in jeder Nabelschnur eine Anastomose vorhanden war. Weiterhin entdeckten Young und Kollegen (1963) bei 24,7% ihrer untersuchten Rinderfeten Doppelanastomosen. Im Rahmen meiner Untersuchungen konnte ich kein zweites anastomosierendes Gefäß zwischen den beiden Nabelarterien finden. Somit werden auch keine Hinweise auf Rückbildungsprozesse zusätzlicher Anastomosen während der Gravidität gegeben, wie es von Stieve und Strube (1933) und Patten (1946) beim Menschen beschrieben wird. Diese Autoren sind der Meinung, dass in der frühen Fetalphase zahlreiche Anastomosen existieren, die im Laufe der Entwicklung mit Ausnahme einer einzigen rückgebildet werden. Die Bedeutung und Funktion der Verbindung zwischen den beiden Arterien ist unklar. Studien an Affen ergaben, dass sich die Gefäßverbindung erst spät im Laufe der Evolution gebildet hat. Bei anderen Spezies, z.B. bei Kameliden, kommen hingegen keine Anastomosen zwischen den Nabelarterien vor (Young, 1972). Die zwingende funktionelle Bedeutung wird auch dadurch in Frage gestellt, dass bei menschlichen Feten, bei denen pathologischerweise eine Anastomose fehlte, keine Abnormalitäten in der Schwangerschaft oder bei der Geburt festgestellt werden konnten (Wenworth, 1965). Ob die Abwesenheit der Gefäßverbindungen beim Rind mit Fehlentwicklungen einhergeht, konnte im Rahmen dieser Untersuchung nicht beurteilt werden, da immer eine Anastomose vorhanden war. Es ist vorstellbar, dass die anastomosierende Gefäßverbindung für den Ausgleich von Blutfluss und Blutdruck zwischen den beiden Nabelarterien sowie für die gleichmäßige Verteilung des Blutes zu den verschiedenen Plazentaabschnitten sorgt. Auf diese Weise könnte bei Obstruktion einer Nabelarterie die Durchblutung und Versorgung der gesamten Plazenta sichergestellt sein (Hyrtl, 1870; Priman, 1959; Benirschke und Kaufmann, 2000). Die hier gefundenen

Anastomosen scheinen für eine derartige Aufgabe einen ausreichend großen Gefäßdurchmesser zu besitzen und somit „effizient“ zu sein.

Wie beim kleinen Wiederkäuer sind beim Rind in der WS zahlreiche, bereits makroskopisch sichtbare Gefäße vorhanden, die ein Netzwerk in der WS bilden. Nicht alle Spezies besitzen neben den Nabelgefäßen weitere kleine Gefäße in der WS, so dass zwischen vaskularisierter und nicht vaskularisierter WS unterschieden werden muss (Arvy und Pilleri, 1976). Der Mensch beispielsweise besitzt im Gegensatz zum Rind eine avaskuläre WS (Spivack, 1946; Reynolds, 1952; Zawisch, 1955; Boyd und Hamilton, 1970). Reynolds (1952) begründet die Existenz oder die Abwesenheit der WS-Gefäße mit dem unterschiedlichen in vivo Verhalten des WS-Volumens bei verschiedenen Füllungszuständen der Nabelgefäße. Eine Gefäßentwicklung dürfte sich seiner Meinung nach beim Menschen aus Platzgründen schwierig gestalten, da die WS bei Gefäßfüllung nach außen gedrängt und verdichtet wird. Beim Schaf jedoch bleibt das Volumen der WS auch bei verschiedenen Gefäßfüllungszuständen gleich und liegt somit immer locker geschichtet vor. Dies könnte günstige räumliche Bedingungen für die Gefäßentwicklung schaffen. Demnach dürfte die zahlreiche Gefäße enthaltende WS des Rindes ähnlich wie die WS des kleinen Wiederkäuers wenig komprimierbar sein. Die Vaskularisierung der WS könnte aber auch durch die Anwesenheit des Urachus (Allantoisgangs) erklärbar sein. Laut Benirschke (Comparative Placentation, Online, 2004) handelt es sich bei den WS-Gefäßen um Allantoisgefäße. Dies wird durch die Beobachtung erhärtet, dass die Gefäße selten in der Peripherie, jedoch besonders gehäuft in unmittelbarer Nachbarschaft zum Allantoisgang auftreten. Die Allantoisgefäße sind folglich zusammen mit dem Urachus, der bei allen untersuchten Rinderfeten erkennbar war, bis zur Geburt vorhanden. Entsprechendes gilt auch für die anderen Haussäugetiere (Schaf, Pferd, Schwein, Hund), bei denen ebenfalls der Allantoisgang in einer vaskularisierten WS bis zur Geburt erhalten bleibt. In der menschlichen Nabelschnur, in der der Allantoisgang bis zur 15. Gestationswoche rückgebildet wird, sind folglich auch keine Gefäße allantoiden Ursprungs in der WS vorhanden (Janosco et al, 1977). Die Allantoisgefäße übernehmen eine nutritive Funktion, könnten aber auch dem Transport metabolisch aktiver Substanzen und Hormonen dienen und einen Austausch zwischen Amnionflüssigkeit und Nabelblut ermöglichen. Beim Menschen scheint diese Funktion durch ein Kavernen- und Kanalsystem gegeben zu sein, welches die fehlenden Gefäße in der WS kompensiert. Dieses Raumsystem ermöglicht die Speicherung sowie die Verteilung von Grundsubstanz, H₂O und Nährstoffen (Vizza et al., 1995; Vizza et al., 1996). Bei der licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung konnte im Rahmen dieser Arbeit kein ähnlich

stark ausgeprägtes Hohlraumsystem in der bovinen WS gefunden werden. Bei Lämmern wurde trotz vorhandener WS-Gefäße auch die Passage von großen Molekülen durch die WS auf avaskulärem Weg nachgewiesen (Barcroft, 1944). Es ist anzunehmen, dass auch beim Rind zwei Versorgungswege, ein avaskulärer und ein vaskulärer Weg, in der Nabelschnur existieren.

Vasa vasorum können beim Rind in der Tunica muscularis von Nabelvene und Nabelarterie nachgewiesen werden. Dadurch unterscheiden sich die bovinen Nabelgefäße sowohl von denen des Menschen, bei denen keine Vasa vasorum vorkommen (Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996) als auch von denen des kleinen Wiederkäuers, bei denen sie nur in der Nabelarterie beobachtet wurden (Sheppard und Bishop, 1973). Beim Rind sind sie bei kleinen Stadien nur sehr selten vorhanden und treten regelmäßig erst ab einer SSL von 20 cm auf. Die nutritive Versorgung der Nabelgefäße wird somit beim Rind im Gegensatz zum Menschen durch Eigengefäße unterstützt. Eine beim Menschen durch Diffusion und aktiven Transport beschriebene Versorgung der Gefäßwand kann beim Rind jedoch zusätzlich vorhanden sein, wobei dies besonders für die Nabelvene gilt, deren locker geschichtete Muskelzellen einen avaskulären Transportweg erleichtern (Gebrane-Younes et al., 1986; Sgambati et al., 2003).

Im Amnionepithel des bovinen Nabelstrangs entwickeln sich zahlreiche lokal begrenzte mehrschichtige Epithelwarzen (Plaques), die makroskopisch ab einer SSL von 11 cm auf der gesamten Oberfläche als kleine, zottenartige Gebilde sichtbar werden. Ab einer SSL von 73 cm, stellenweise auch schon bei einer SSL von 65 cm, erscheint die Nabelschnur überwiegend wieder glatt, wobei das mikroskopische Bild dann über lange Strecken ein mehrschichtiges, verhornendes Epithel erkennen lässt. Bei der mikroskopischen Betrachtung entstand dabei der Eindruck, dass die im Laufe der Entwicklung immer dichter stehenden Epithelwarzen zu den ausgedehnten mehrschichtigen Bereichen „fusionierten“. Die Epithelwarzen konnten bei den entsprechenden SSL bei allen Tieren nachgewiesen werden. Ihr zahlreiches Auftreten wurde bereits bei anderen Huftieren beschrieben (Sinha et al., 1970). Es handelt sich mit Sicherheit um ein physiologisches Phänomen, so dass es nicht mit dem beim Menschen mit pathologischen Prozessen assoziierten Amnion nodosum verwechselt werden darf (Bourne und Lacy, 1960). Metaplasien des Amnionepithels werden jedoch auch bei Menschen in ca. 60% der Fälle vor allem in der Nabelregion gesehen, weshalb das begrenzte Auftreten von amniotischen Metaplasien auch beim Menschen als normal betrachtet werden kann (Amoroso, 1952; Benirschke und Kaufmann 2000).

5.2. Charakterisierung der Nabelbestandteile nach histologischen und immunhistochemischen Aspekten

5.2.1. Nabelgefäße

Die Endothelzellen der bovinen Nabelvene und Nabelarterie verändern im Laufe der Trächtigkeit ihre Form. Sie sind zunächst rundlich bis polygonal, in späteren Stadien liegen sie elongiert vor. Eine derartige Formveränderung der Endothelzellen der Nabelgefäße wird auch beim Menschen und bei der Ratte beschrieben, wobei zugleich eine Funktionsveränderung vermutet wird (Leeson und Leeson, 1965; Sexton et al., 1996). Besonders auffällig stellen sich lange schlanke ins Lumen ragende Zytoplasmaausläufer bei den Nabelvenen der kleinen SSL dar (bis 11 cm SSL). Derartige Ausläufer geben einen Hinweis auf einen starken Stoffaustausch im Sinne von Sekretion und Resorption. Das Vorkommen von Pinocytosevesikeln und größeren zytoplasmatischen Vesikeln ist ebenfalls ein Zeichen des regen Stoffaustausches (Wagner, 1981). Die Endothelzellen der menschlichen Nabelvene besitzen ebenfalls durch ihre zahlreichen mikrovilliähnlichen Zytoplasmafortsätze eine vergrößerte Oberfläche. Während sie beim Rind nur bis zu einer SSL von 11 cm vorhanden sind, können sie beim Menschen während der ganzen Schwangerschaft beobachtet werden (Kagawa und Fujimoto, 1987; Gebrane-Younes et al., 1986). Die Endothelzellen der bovinen Nabelgefäße sind wie bei anderen Spezies relativ organellenreich, wobei die zahlreichen Mitochondrien vom Cristae-Typ, der gut ausgebildete Golgi-Apparat, die zahlreichen Vesikel sowie die großen Mengen an glatten und rauhen ER für eine metabolisch aktive, synthetisierende Zelle sprechen (Leeson und Leeson, 1965; Parry und Abramovich, 1972; Sheppard und Bishop, 1973; Asmussen und Kjeldsen, 1975; Osterkamp-Baust et al., 1980; Gebrane-Younes et al., 1986; Kagawa und Fujimoto, 1987; Sexton et al., 1996). Die auch beim Menschen beschriebene Dilatation des ER, stellte in dieser Arbeit ein auffälliges Merkmal dar, wobei im Laufe der Entwicklung eine leichte Zunahme dieses Phänomens zu verzeichnen ist. Eine massive Dilatation des ER kann als Zeichen einer gesteigerten Proteinbiosynthese interpretiert werden (Parry und Abramovich, 1972; Sexton et al., 1996). Ähnliche Erweiterungen des ER können auch auf Fixierungsfehler zurückgeführt werden, die jedoch aufgrund der Ultrastruktur der anderen Zellorganellen nahezu ausgeschlossen werden können.

Die glatten Muskelzellen der Nabelgefäße zeigen ebenfalls eine Dilatation des ER, wobei sie in der Nabelvene später auftritt (42 cm SSL) als in der Nabelarterie (11 cm SSL). Weiterhin weisen die Gefäßmuskelzellen kleiner SSL häufig eine Marginalisierung des Nucleolus auf, so dass auch die Ultrastruktur der Gefäßmuskelzellen einen Hinweis für eine gesteigerte

Proteinsyntheseleistung gibt. Die Gefäßmuskelzellen von Arteria und Vena umbilicalis unterschieden sich morphologisch nicht, jedoch sind die Muskelzellen der Nabelvene weiter voneinander durch interzelluläres Bindegewebe getrennt. Dieselbe Beobachtung wurde auch bei den Nabelgefäßen des Menschen gemacht (Meyer et al. 1978; Gebrane-Younes et al., 1986). Dadurch werden in der Nabelvene die Diffusion und der Transport für Nährstoffe erleichtert (Gebrane-Younes et al., 1986; Sgambati et al., 2003). Bis zu einer SSL von 11 cm existieren überwiegend organellenreiche und filamentarme Mediazellen, während bei älteren SSL typische glatte Gefäßmuskelzellen mit Filamenten und zigarrenförmigem Kern mit Einziehungen vorkommen. Ähnliche Beobachtungen wurden auch in den menschlichen Nabelschnurgefäßen gemacht, wobei Sexton und Mitarbeiter (1996) eine Änderung der Muskelzellen vom „synthetisierenden“ zum „kontraktilen Muskelzelltyp“ beschrieben, während Leeson und Leeson (1965) eine Differenzierung von reifen Muskelzellen aus unreifen Mesenchymzellen vermuteten. Einige Autoren charakterisierten die ER-reichen Mediazellen der menschlichen Nabelgefäße als Myofibroblasten (Meyer et al., 1978; Gebrane-Younes et al., 1986). In der hier vorliegenden Arbeit kann die besonders in der Nabelarterie lichtmikroskopisch oft beschriebene „Zweischichtung“ bestätigt werden. Die äußere Schicht besteht aus lang gezogenen, zirkulär angeordneten Muskelzellen, wobei dies auch den Beschreibungen der menschlichen Nabelarterie entspricht. Zentral sind die meisten Mediazellen von rundlicher bis polygonaler Form, wobei sie in der Literatur sowohl für längs oder schräg orientierte Muskelzellen, aber auch für undifferenzierte Mesenchymzellen gehalten wurden (Shordania, 1929; Goertler, 1951; Meyer et al., 1978). Beim Rind scheint die innere Schicht aus glatten Muskelzellen zu bestehen, da in ihr auch längliche Mediazellen mit Muskelzellcharakter vorkommen. Es handelt sich folglich bei den „peripheren“ und „zentralen“ Zellen um glatte Muskelzellen, die je nach Lokalisation in der Gefäßwand in gespannter (peripher) oder nicht gespannter (zentral) Form vorliegen. Ebenfalls gegen eine Klassifizierung als undifferenzierte Mesenchymzellen spricht die Expression von α -smooth-muscle-Aktin in allen Mediazellen zu jedem Gestationszeitpunkt, so dass beim Rind schon sehr früh in der Entwicklung Muskelzellen bzw. Zellen mit myoider Differenzierungsrichtung und kontraktilen Fähigkeiten in den Nabelgefäßen vorhanden sind.

In den Muskelzellen der bovinen Nabelgefäße können bei allen Stadien regelmäßig Pinocytosevesikel gesehen werden, wobei dies Hinweise für einen aktiven Stoffaustausch liefert. Durch zahlreiche Zellkontakte zwischen den Endothelzellen, zwischen den Muskelzellen sowie in frühen Stadien auch zwischen Endothel- und Muskelzellen, entsteht ein über weite Strecken zusammenhängendes muskuloendotheliales Gefäßwandsystem

(Nicolov und Schiebler, 1973; Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996). Die ultrastrukturellen Charakteristika der bovinen Nabelgefäße sprechen folglich für eine hohe metabolische Aktivität und einen aktiven Stofftransport durch die Nabelgefäßwände (Gebrane-Younes et al., 1986).

Die Verteilung der Intermediärfilamente sowie des α SMA in den bovinen Nabelgefäßen entspricht weitgehend den Untersuchungen an menschlichen Nabelgefäßen. In allen Gefäßmuskelzellen des bovinen Nabelstrangs kann eine α SMA-Expression nachgewiesen werden. Die Muskelzellen der humanen Nabelgefäße besitzen aufgrund des frühen Auftretens von α SMA und muskulären Myosin-Isoformen während der Embryonalentwicklung einen „kontraktilen“ Phänotyp, wie er normalerweise in adulten Gefäßen zu finden ist. Sie unterscheiden sich somit von den unreifen „synthetisierenden“ Muskelzellen der systemischen fetalen Gefäße, die erst später in der Embryonalentwicklung und insgesamt weniger kontraktile Proteine sowie nicht-muskuläre Myosin-Isoformen besitzen. Das Expressionsmuster der kontraktilen Proteine in der Nabelschnur des Menschen spricht für eine frühzeitige Reifung der Nabelgefäße, so dass sie eine Sonderstellung zwischen fetalen und adulten Gefäßen einnehmen (Owens, 1995; Arens et al., 1998). Das Prinzip der vorzeitigen Reifung der Nabelgefäße des Menschen wird weiterhin durch das Auftreten von AT1-Rezeptoren unterstrichen, die normalerweise nur in adulten Gefäßen zu finden sind. Im Gegensatz dazu kommen in anderen fetalen Gefäßen ausschließlich AT2-Rezeptoren vor, welche eine geringere Ansprechbarkeit gegenüber Angiotensin besitzen (Kaiser et al., 1998). In den Nabelgefäßen des Menschen wurde die außergewöhnliche gemeinsame Expression von Cytokeratin, Desmin und Vimentin beschrieben (Van Muijen et al., 1987; Kasper et al., 1988; Bader et al., 1988). Eine solche „Trippelexpression“ scheint besonders in hyaluronsäurereichen Geweben aufzutreten, weshalb sie beim Menschen auch in der WS vorkommt (Bader et al., 1988). Bei meinen Untersuchungen konnte ich ebenfalls alle drei Intermediärfilamenttypen in den bovinen Nabelgefäßen nachweisen, wobei sie allerdings nicht alle zeitgleich vorhanden waren. Denn Desmin wird erst zu einem Zeitpunkt (11 cm SSL) exprimiert, zu dem Pan-CK nicht mehr vorhanden ist. Vimentin wird in allen Gefäßmuskelzellen mit Ausnahme der peripheren Mediazellen der älteren SSL (ab 42 cm) exprimiert. In den peripheren Mediaregionen befinden sich ab einer SSL von 11 cm Desmin-positive Zellen, während die anderen Bereiche überwiegend Desmin-negativ bleiben. Bei einigen Gefäßen kann es jedoch auch in den inneren Mediaregionen nachgewiesen werden. Beim Menschen werden für die Vimentin- und Desminexpression ähnliche Resultate beschrieben (Bader et al., 1988; Nanaev et al., 1991; Johansson et al., 1999). Der

immunhistologische Nachweis von Pan-CK (CK) gelang in der peripheren Hälfte der bovinen Nabelgefäßwände bis zu einer SSL von 6,5 cm. Obwohl CK einen Epithelzellmarker darstellt, wurde es bereits mehrfach in fetalen Gefäßmuskelzellen, einschließlich denen des Ductus arteriosus Botalli und der menschlichen Nabelgefäße gefunden (Van Muijen et al., 1987; Kasper et al., 1988; Bader et al., 1988; Slomp et al., 1997; Johansson et al., 1999). Daraus wird ersichtlich, dass eine CK-Expression in den glatten Gefäßmuskelzellen der humanen und bovinen Nabelgefäße mit einer myogenen Differenzierung vereinbar ist. Ob das CK dabei eine Funktion erfüllt oder nur als nicht störender Faktor „akzeptiert“ wird, ist weiterhin unklar (Bader et al., 1988). Es wurde jedoch über die Bedeutung von CK für den postnatalen Verschluss des Ductus arteriosus Botalli spekuliert. Der Ductus arteriosus Botalli weist ähnlich der Nabelarterie eine frühzeitige Reifung auf und schließt sich ebenso nach der Geburt vollständig. Interessanterweise wird CK im Ductus arteriosus Botalli kurz vor der Geburt reexprimiert, weshalb vermutet wird, dass CK beim postpartalen Verschluss eine Rolle spielen könnte (Cavaillé et al., 1995; Slomp et al., 1997; Johansson et al., 1999).

5.2.2. Wharton Sulze

Die Zellen der WS (WSZ) wurden beim Menschen in zahlreichen Studien elektronenmikroskopisch und lichtmikroskopisch untersucht, wobei die Befunde nicht einheitlich sind. So werden die WSZ als normale Fibroblasten (Schoenberg et al., 1960; Boyd und Hamilton, 1970), als modifizierte Fibroblasten und Myofibroblasten, (Parry, 1970; Takechi et al., 1993; Nanaev et al., 1997; Kobayashi et al., 1998) sowie als glatte Muskelzellen (Eyden et al., 1994) eingestuft. Die unterschiedlichen Resultate werden verständlich, wenn man bedenkt, dass die WSZ einen kontinuierlichen Differenzierungsprozess von Mesenchymzellen über Fibroblasten und Myofibroblasten zu glatten Muskelzellen durchlaufen. Eine klare Abgrenzung ist daher oft nicht möglich (Majno et al., 1970; McParland et al., 2000). In frühen Stadien befinden sich in der Nabelschnur des Menschen peripher höher differenzierte α SMA-positive Myofibroblasten, während im Zentralbereich einfache α SMA-negative Fibroblasten vorkommen. Im Laufe der fetalen Entwicklung schwindet der Unterschied zwischen peripheren und zentralen Zellen, da sich nun auch im Zentrum α SMA exprimierende Myofibroblasten differenzieren, so dass beim Menschen die Heterogenität der WS in späteren Stadien nur noch anhand unterschiedlicher EZM-Proteine und EZM-Moleküle zu erkennen ist (Nanaev et al., 1997). Aus der hier vorliegenden Arbeit wird ersichtlich, dass beim Rind ebenfalls ein räumlicher Reifungsgradient in der WS existiert, der jedoch im Unterschied zum Menschen bis zur

Geburt bestehen bleibt. Dabei handelt es sich im Zentralbereich weitgehend um α SMA-negative, synthetisch aktive Fibroblasten. Sie weisen massiv dilatiertes ER, Mitochondrien, Vakuolen sowie gelegentlich Pinocytosevesikel auf. Die Fibroblasten des Zentralbereichs stellen folglich metabolisch aktive Zellen dar, die Hinweise auf eine starke Proteinsynthese und einen regen Stofftransport in der WS liefern (Takechi et al., 1993; Ghezzi et al., 2001). Im peripheren, subepithelialen Bereich unter dem Amnionepithel entsteht im Laufe der Entwicklung eine breite Schicht α -smooth-muscle-Aktin-positiver Stromazellen, die im elektronenmikroskopischen Bild durch ihren stark gelappten Kern sowie ihren Filamentgehalt die Charakteristika glatter Muskelzellen besitzen. Einige dieser Zellen enthalten verhältnismäßig viel ER, so dass es sich bei diesen Zellen um Übergangsformen zwischen Myofibroblasten und glatten Muskelzellen handeln könnte. Die WSZ im Bereich des Urachus können ebenfalls von den Fibroblasten der restlichen WS abgegrenzt werden, da sie nur selten eine Dilatation des ER aufweisen und geringgradig organellenreicher sind. Zahlreich vorhandene Vesikel und bläschenartige Membranausstülpungen sprechen auch in dieser Region für einen aktiven Stoffaustausch. Ab einer SSL von 11 cm beginnen sich einige WSZ in der Urachusregion zu filamentreichen Muskelzellen zu differenzieren, die im immunhistologischen Nachweis α SMA-positiv reagieren. An der Bildung der Urachusmuskulatur scheinen sich auch einige dem Urachus benachbarte Adventitiazellen der Nabelarterie zu beteiligen, weil sie ebenfalls α SMA exprimieren. Das Signal für die Differenzierung der primitiven Mesenchymzellen zu Muskelzellen können mechanische oder chemische Stimuli sein. Als chemischer Reiz muss Heparin aus den Mastzellen in Betracht gezogen werden (Sappino et al., 1990; Desmoulière und Gabbiani, 1994).

Ähnlich den Beschreibungen der WS des Menschen von Nanaev et al. (1997) stellt sich also die bovine WS nicht homogen dar, sondern ist in Zonen (subamniotischer Bereich, Region um den Urachus, zentraler Hauptteil der WS) unterteilbar. Die Heterogenität beschränkt sich dabei nicht auf die zelluläre Ebene, sondern spiegelt sich auch in der EZM wieder. Dies wird vor allem bei der Alcianblau-Färbung deutlich. Die WS des subamniotischen, peripheren Bereichs und der Urachusregion sind ab einer SSL von 31,5 cm deutlich durch das Vorkommen saurer Mukosubstanzen, die in der Alcianblau-Färbung positiv reagieren, von der ansonsten negativ erscheinenden WS differenzierbar. Das Färbeverhalten bei einem pH-Wert von 1,0 lässt die Schlussfolgerung zu, dass im subamniotischen Bereich neben carboxylierten auch sulfatierte Mukosubstanzen vorkommen, in der Urachusregion jedoch hauptsächlich carboxylierte Mukosubstanzen auftreten. In der restlichen WS sind sulfatierte Mukosubstanzen nur bis zu einer SSL von 11 cm, carboxylierte hingegen bis zu einer SSL

von 31,5 cm nachweisbar. Die Verteilung kontraktile Proteine und Intermediärfilamente bestätigt die Heterogenität der WS. Dabei lassen sich bei der immunhistologischen Untersuchung von Vimentin in frühen Stadien zusätzlich positiv reagierende Adventitiazellen von den anfänglich Vimentin-negativen umgebenden WSZ unterscheiden. Es scheint also beim Rind einen von der restlichen WS abgrenzbaren Bereich um die Nabelgefäße zu geben, der sich nicht nur durch die unterschiedliche Morphologie (erhöhter Zellgehalt, konzentrische Anordnung der Kollagenfasern), sondern auch durch das Expressionsmuster von Vimentin abhebt. Die Existenz einer Adventitia in der Nabelschnur des Menschen und des Schafes wurde in älteren lichtmikroskopischen Studien bestritten (Shordania, 1929; Reynolds, 1952). In neueren Mazerationsstudien jedoch wurde das Vorkommen einer Adventitia um die Nabelgefäße beschrieben (Vizza et al., 1995; Vizza et al., 1996). Die in dieser Arbeit nachgewiesenen Expressionsmuster der Intermediärfilamente und des α SMA in der bovinen WS unterscheiden sich von den für den Menschen beschriebenen Ergebnissen (Takechi et al., 1993; Nanaev et al., 1997). Mit Ausnahme der Urachusmuskulatur kann Desmin, im Gegensatz zum Menschen, in der WS des Rindes nicht nachgewiesen werden. Die α -smooth-muscle-Aktinexpression beschränkt sich in der WS des Rindes auf den subamniotischen Muskelring, während beim Menschen zumindest ab dem zweiten Trimester der Schwangerschaft jede Zelle α SMA-positiv ist (Kobayashi et al., 1998). Die immunhistologischen Ergebnisse korrelieren jedoch mit den jeweiligen ultrastrukturellen Befunden. Demnach besitzen die WS-Zellen des Menschen Myofibroblastencharakter, die des Rindes größtenteils Fibroblastencharakter. Eine kleine Ausnahme bezüglich der α SMA-Expression stellt der Fetus mit 2,5 cm SSL dar, da in der Zölomgegend α SMA-positive Zellen auftreten. Eine mögliche Funktion dieser Zellen wird in der Bildung eines geeigneten Milieus für hämatopoietische Stammzellen vermutet. Dieser Aspekt wird in Kapitel 5.5 diskutiert. Die beim Menschen beschriebene „Tripplexpression“ von CK, Vimentin und Desmin in der WS kann für das Rind nicht bestätigt werden, da in den Fibrozyten der WS kein Desmin nachweisbar ist (Van Muijen et al., 1987; Kasper et al., 1988). Vimentin wird ab einer SSL von 2,5 cm in der Peripherie der WS und in der Zölomgegend exprimiert. Eine einheitlich positive Reaktion aller WS-Zellen wird erst ab einer SSL von 31,5 cm beobachtet. Interessanterweise kann auch beim Rind eine Pan-CK Expression in der WS nachgewiesen werden. Obwohl Pan-CK einen typischen Epithelzellmarker darstellt, kommt es gelegentlich auch in Zellen mesenchymalen Ursprungs vor. So wurde es auch im Mesenchym des Amniochorions des Menschen gefunden (Khong et al., 1986; Van Muijen et al., 1987; Glukhova et al., 1991). Die CK-Expression nimmt im Laufe der Entwicklung von peripher

nach zentral ab, so dass die letzten CK-positiven Zellen bei einer SSL von 26 cm in der Zölomgegend beobachtet werden. Die funktionelle Bedeutung der CK-Expression in der WS ist bisher nicht bekannt. Sie zeugt jedoch für die geringe Differenzierungsstufe dieser Zellen, weshalb die WS auch für Stammzellforscher zunehmend interessant wird (siehe Kapitel 5.5). Bei Betrachtung der Vimentin-, α SMA- und Pan-CK-Verteilung wird deutlich, dass sich in der bovinen Nabelschnur neben dem subamniotischen und urachusnahen Bereich auch die Region um den Zölomspalt von der umgebenden WS unterscheidet. Dies könnte unterschiedliche Funktionen oder eine unterschiedliche embryologische Herkunft widerspiegeln, wie sie auch für den Menschen beschrieben wurde, bei dem die WS sich aus Derivaten des Haftstiels, des Amnionmesenchyms und des Allantoismesenchyms zusammensetzt (Starck, 1975; Benirschke und Kaufmann, 2000).

5.2.3. Amnionepithel

Die hier vorliegenden Ergebnisse bestätigen größtenteils andere Untersuchungen über das Amnionepithel bei verschiedenen Spezies, wobei auch zwischen dem Epithel des Nabelstrangs und des Amnions große Ähnlichkeiten bestehen. Auffällige Gemeinsamkeiten stellen die Mikrovilli-besetzten apikalen Zellmembranen, der Organellengehalt, laterale Interdigitationen, desmosomale Zellverbindungen sowie das Auftreten einschichtiger und mehrschichtiger Epithelbereiche dar.

Mehrschichtige Epithelbereiche, die ab einer SSL von 53 cm Verhornungstendenz zeigen, entstehen durch mitotische Aktivität der Epithelzellen. Der beim Hirsch beschriebene Epidermis-ähnliche Aufbau der Plaques kann auch beim Rind bestätigt werden und ist mit der gemeinsamen Abstammung vom Ektoderm erklärbar (Sinha, 1970). Dabei ist in den Plaques von basal nach apikal eine Reduzierung des Organellengehalts und Zunahme des Filamentgehalts zu beobachten. In späteren Stadien kommt es an zahlreichen Stellen zur Verhornung der obersten Epithelzellen, die unter Verlust ihrer Zellverbindungen abschilfern. Das Amnionepithel ist durch seinen Aufbau auf mechanische Belastung eingerichtet, wobei dies besonders in den mehrschichtigen Bereichen deutlich wird. Intrazelluläre Filamente erhöhen die Stabilität der Zelle, wobei zahlreiche Plasmalemmverzahnungen, Desmosomen sowie die zur Basallamina ausgebildeten Hemidesmosomen für einen starken Zusammenhalt der Zellen sowie für eine feste Verankerung des Epithels auf der WS sorgen (King, 1982). Trotzdem scheint die Möglichkeit zum parazellulären Transport für Makromoleküle und Flüssigkeiten gegeben zu sein, da von basal bis luminal weite interzelluläre Räume vorhanden sind (Wynn and French, 1968; Benirschke und Kaufmann, 2000). Beim Menschen wird eine

Flüssigkeitsabgabe in die Amnionhöhle zunächst durch gut ausgebildete Schlussleisten im Amnionepithel verhindert. Gegen Ende der Schwangerschaft werden sie jedoch aufgelöst, wobei dann ein Flüssigkeitsaustausch möglich ist (Hoyes, 1969). Beim Rind können keine luminalen Schlussleisten und nur sehr selten „tight junctions“ gesehen werden, so dass hier ein intensiverer Stoffaustausch zwischen Nabelschnur und Amnionflüssigkeit von Beginn der Trächtigkeit an denkbar ist. Dennoch dürfte die unter dem Amnionepithel gut ausgebildete Basalmembran den Stoffaustausch zwischen Amnionepithel und der darunterliegenden WS etwas einschränken, da sie zumindest für größere Moleküle eine Barrierefunktion darstellt. Ein uneingeschränkter Übertritt von Flüssigkeiten ist jedoch sehr wahrscheinlich (Hempel, 1972; King, 1985). Die resorptiven, sekretorischen und metabolischen Fähigkeiten des bovinen Nabelstrangepithels spiegeln sich weiterhin in den Organellen (Mitochondrien, ER), den zahlreichen Vakuolen und membrannahen Vesikeln, vor allem aber in den zahlreichen Mikrovilli der Zelloberfläche wider (Hoyes, 1969). Beim Rind wurden von Tiedemann (1982) zusätzlich zu den Mikrovilli lange, organellen- und glykogenhaltige Zytoplasmafortsätze beschrieben, die im Rahmen dieser Untersuchungen jedoch nicht gefunden wurden. Eine Resorption von Substanzen aus der Amnionflüssigkeit ist sehr wahrscheinlich, wie in Versuchen mit markierten Molekülen von Bautzmann (1960) gezeigt werden konnte. Ob und wie weit sich das Amnionepithel an der Produktion der Amnionflüssigkeit beteiligt, ist noch nicht geklärt (Armstrong et al., 1968; Weser und Kaufmann 1978; Benirschke und Kaufmann, 2000). Mit Sicherheit ist es aber an der Produktion von anderen Proteinen und Hormonen beteiligt. Das Amnionepithel gilt nachweislich als Syntheseort von Prostaglandinen, wobei es beim Menschen die einzige Quelle für das in der Amnionflüssigkeit befindliche PGE₂ darstellt (McCoshen, 1989). Weiterhin besitzt es Enzymsysteme für den Steroidhormonmetabolismus (Benedetti, 1973). Die Steuerung der Enzymaktivitäten im Amnionepithel ist sehr komplex, wobei hCG beim Menschen eine regulative Rolle zugesprochen wird, da zahlreiche hCG-Rezeptoren im Nabelstrangepithel vorkommen (Toth und Rao, 1992; Wasowicz et al., 1999). Ähnliche Regulationsaufgaben wären beim Rind für Progesteron denkbar, da ich in meinen Untersuchungen in einigen Amnionepithelzellen bovinen Progesteron-Rezeptor (bPR) nachweisen konnte. Wie Studien an Nabelschnurhomogenisaten des Menschen zeigten, ist die Nabelschnur in der Lage, Progesteron zu synthetisieren (Gunasegaram et al., 1991). Deshalb könnte der im Amnionepithel lokalisierte bPR über einen negativen oder positiven Rückkopplungseffekt Einfluss auf die weitere Progesteronsynthese nehmen.

Die genaue Bedeutung der bei einigen Spezies häufig auftretenden amniotischen Plaques konnte bisher nicht geklärt werden. Wie die elektronenmikroskopische Untersuchung und die PAS-Färbung zeigen, ist in den Plaques der bovinen Nabelschnur viel Glykogen vorhanden. Eine mögliche Funktion als Glykogenspeicher ist daher denkbar (Amoroso, 1952). Danforth und Hull (1958) vertreten die Meinung, dass die Plaques die mechanische Festigkeit und die Elastizität des Epithels erhöhen und durch ihre Verhornungstendenzen ähnlich der fetalen Haut wasserabweisend und imprägnierend wirken. Die zahlreich vorhandenen desmosomalen Verbindungen und Zellinterdigitationen verleihen den Plaques eine mechanische Festigkeit, wodurch sie in der Lage sind, den in der Nabelschnur auftretenden Zug- und Dehnungskräften Widerstand zu leisten. Die Plaques könnten damit Epithelverletzungen oder gar einer frühzeitigen Ruptur der Nabelschnur entgegenwirken. Ebenfalls in Antwort auf mechanische Belastungen können sich aus Mesenchymzellen und Fibroblasten α SMA-exprimierende Myofibroblasten oder Muskelzellen differenzieren, wie es im Mesenchym des Amniochorions beschrieben wurde (McParland et al., 2000). Interessanterweise beginnt in der bovinen WS die Differenzierung der subepithelialen Muskelzellen genau unter den mehrschichtigen Plaques. Auch in späteren Stadien befindet sich noch längere Zeit unter den Plaques eine breitere Schicht glatter Muskelzellen als unter den einschichtigen Amnionepithelbereichen. Es scheint also eine Korrelation zwischen der Plaqueentstehung und der Muskelzelldifferenzierung in der WS zu bestehen, wobei für die Entstehung dieser beiden Strukturen mechanisch einwirkende Kräfte von Bedeutung sein dürften. Die funktionelle Aufgabe der Plaques und der Muskelzellen könnte somit darin bestehen, mechanischen Belastungen entgegenzuwirken.

5.2.4. Urachus

Über die Morphologie und Funktion des Urachus in der Nabelschnur liegen kaum Ergebnisse vor, da einerseits die Nabelschnur des Menschen nur bis zur 15. Gestationswoche einen Allantoisgang beinhaltet und lediglich funktionlose Epithelreste bei 14,6% der geburtsreifen Feten vorhanden sind (Jauniaux et al., 1989b), andererseits die Nabelschnur anderer Spezies mit persistierendem Urachus (z.B. die der Haussäugetiere) bisher nur selten untersucht wurde. Aus den hier vorliegenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen wird ersichtlich, dass der Urachus im bovinen Nabelstrang bis zur Geburt funktionstüchtig ist und keine Degenerationszeichen aufweist, im Laufe der Entwicklung sogar an Zellschichten gewinnt. Ähnlich dem Amnionepithel des Nabelstrangs, besitzt das Urachusepithel hohe mechanische Festigkeit, wie anhand der desmosomalen Zellverbindungen und intrazellulären Filamente

erkennbar wird. Sie kommen jedoch nicht in dem Ausmaß wie im Amnionepithel des bovinen Nabelstrangs vor, so dass mechanisch einwirkende Kräfte auf dem im Zentrum gelegenen Urachus geringer einzuschätzen sind. Syntheseprozesse scheinen eher bei kleinen SSL (bis ca. 15 cm) eine Rolle zu spielen, da nur dort mit Regelmäßigkeit entsprechende Zellorganellen (rER, Golgi-Apparat, Mitochondrien) und eine Marginalisierung des Nucleolus vorgefunden werden konnten. In späteren Stadien sinkt der Organellengehalt, jedoch treten im Zytoplasma neben Filamenten zahlreiche Vakuolen mit hellem und elektronendichtem Inhalt auf, so dass bei diesen Stadien Speicher- und Transportprozesse des Urachusepithels im Vordergrund zu stehen scheinen. Dabei wird unter anderem Glykogen gespeichert, das bei allen Urachusepithelzellen in unterschiedlichen Mengen vorkommt. Die Ergebnisse stimmen weitgehend mit den Untersuchungen von Tiedemann (1982) überein, der das Epithel des Allantoissacks beim Rind untersuchte. Allerdings konnte in der hier vorliegenden Arbeit keine dem Amnion ähnliche Mikrovillibesetzung der Oberfläche gefunden werden, wie es von Tiedemann (1982) beschrieben wurde.

Ab einer SSL von 15 cm entstehen in der Nähe des Urachusepithels α SMA- und Desmin-positive glatte Muskelzellen. Ihre zirkuläre, sphinkterartige Anordnung weist auf eine Beteiligung an der Regulation der Lumenweite des Urachus hin.

5.3. Vorkommen und Verteilung von Glykokonjugaten und Glykogen in der bovinen Nabelschnur

Wie bereits im Kapitel 2.5.3 beschrieben, werden Lektine als „zuckerbindende Proteine ohne enzymatische Aktivität, die keine Homologie zu Antikörpern aufweisen“ definiert (Gabius und Gabius, 1992; Rüdiger und Gabius, 2001). Weiterhin werden Rezeptoren freier Mono- und Disaccharide, die dem Transport oder der Chemotaxis dienen, definitionsgemäß von den Lektinen ausgeschlossen (Gabius et al., 2002).

Sie werden aufgrund ihrer Fähigkeit, an Glykokonjugate (Glykoproteine und Glykolipide) zu binden, als histochemische Reagentien bei zahlreichen Studien an verschiedenen Geweben verwendet (Gabius et al., 1988; Danguy et al., 1994). Mithilfe der Lektine besteht die Möglichkeit, Kohlehydratstrukturen von Zellmembranen, von Oberflächenproteinen und von intrazellulären Bestandteilen eines Gewebes zu bestimmen (Lis und Sharon, 1986). Dies ist von großem Interesse, da Zuckerreste eine wichtige Rolle bei biologischen Prozessen spielen, wie zum Beispiel bei der Regulation enzymatischer Aktivitäten, bei Zell zu Zell-Adhäsionen, bei der Zellwanderung sowie bei Zellproliferationen während Differenzierungsvorgängen

(Firestone und Heath, 1981; Damjanov, 1987; Gheri et al., 1993; Gabius et al., 2002). Es existieren zwar biochemische Untersuchungen über den Gehalt von Glykosaminoglykanen und dessen Veränderung bei pathologischen Zuständen in der Nabelschnur des Menschen, über das Bindungsmuster von Lektinen liegen jedoch kaum Arbeiten vor (Bankowski et al., 1996; Sobolewski et al., 1997). Nach meinem Wissen handelt es sich dabei hauptsächlich um Studien aus dem humanmedizinischen Bereich. Am bovinen Nabelstrang wurden bisher noch keine ausführlichen lektinhistochemischen Studien durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wurde das Bindungsmuster von ausschließlich aus Pflanzen stammenden Lektinen in der Nabelschnur des Rindes untersucht. Bei dem Vergleich von Ergebnissen muss bei Lektinstudien auf die Spezies und die Fixierung geachtet werden, da sowohl speziesspezifische als auch fixierungsbedingte Abweichungen bestehen (Holthofer, 1987). Eine glykohistochemische Untersuchung an formalinfixierten menschlichen Nabelschnüren liegt von Sgambati et al. (2003) vor, wobei einige Übereinstimmungen, aber auch Abweichungen zu den hier vorliegenden Resultaten beobachtet werden können. Diese dürften auf speziesspezifische und fixierungsbedingte Unterschiede zurück zu führen sein, da in der hier vorliegenden Arbeit die Proben für die glykohistochemischen Untersuchungen mit Bouin'scher Lösung fixiert wurden.

Con A reagiert beim Rind mit allen zellulären und stellenweise mit faserigen Strukturen der Nabelschnur, so dass Zuckerreste aus der Mannose- und Glukosegruppe in der Nabelschnur des Rindes ubiquitär vorhanden sein dürften. In der menschlichen Nabelschnur besitzt Con A ebenfalls Bindungsstellen an faserigen und zellulären Bestandteilen (Sgambati et al., 2003). WGA, das mit N-Acetylglukosamin und Neuraminsäure reagiert, zeigt hohe Affinität zu den Kollagenfasern der bovinen WS und der Nabelgefäße. Die Epithelzellen des Urachus und des Amnions weisen, mit Ausnahme von verhornten Amnionbereichen, ebenfalls Bindungsstellen für WGA auf. Das Reaktionsmuster der WSZ ist für WGA nicht einheitlich. Während der Großteil der WSZ negativ ist, können Zellen der Adventitia sowie die peripheren, subepithelialen Muskelzellen der WS WGA binden. Die menschliche Nabelschnur zeigt ein ähnliches Bindungsmuster für WGA, wobei jedoch alle Myofibroblasten der WS positiv reagieren (Sgambati et al., 2003). Die Heterogenität der bovinen WS spiegelt sich also auch im Lektinbindungsmuster von WGA wider. Eine Kompartimentierung des Nabelschnurbindegewebes in Adventitia und WS wurde in der menschlichen Nabelschnur nicht nur bei WGA, sondern auch bei Con A, PNA, LTA und UEA I festgestellt, wobei die WS verglichen mit der Adventitia eine stärkere Reaktion zeigte (Sgambati et al., 2003). Das unterschiedliche Lektinbindungsmuster zwischen Adventitia und der restlichen WS deutet auf

den unterschiedlichen embryologischen Ursprung und bzw. oder auf eine andere Funktion dieser beiden Bereiche hin (Catini und Gheri, 1983).

Ferner werden in der bovinen Nabelschnur Zuckerreste aus der N-Acetylgalaktosamin- und Galaktose-Gruppe exprimiert. ECA bindet hauptsächlich an die elastischen Fasern sowie an die Epithelzellen des Amnions und des Urachus. Endothelzellen und Muskelzellen weisen ebenfalls gelegentlich ECA-Bindungsstellen auf. In der geburtsreifen Nabelschnur kommt es an manchen Stellen zu einem Verlust der Bindungskapazität für ECA. Ein Verlust der Bindungsstellen oder eine Abschwächung der Lektinbindung konnte beim Menschen bei fast allen Lektinen (WGA, SBA, LTA, UEA I, PNA) in der letzten Phase der Schwangerschaft beobachtet werden. Dieses Phänomen wurde als das Einstellen der Nabelschnurfunktionen kurz vor der Geburt gedeutet (Sgambati et al., 2003). Eine prinzipielle Einschränkung der Nabelschnurfunktionen beim Rind gegen Ende der Trächtigkeit scheint jedoch sehr unwahrscheinlich, da sich zum einen die Reduzierung des Bindungsvermögens nur auf einzelne Lektine und einzelne Strukturen (z.B. ECA in Gefäßmuskelzellen) beschränkt, zum anderen auch Verstärkungen der Bindung bestimmter Lektine (z.B. WGA in den glatten Muskelzellen der Nabelgefäße) auftreten.

GSA I ist als boviner Endothelzellmarker bekannt (Tuori et al., 1994). Dementsprechend reagiert es auch mit allen Endothelzellen der bovinen Nabelschnur. Da keine anderen Strukturen angefärbt werden, kann mit GSA I ein guter Überblick über die Verteilung der WS-Gefäße und Vasa vasorum in den Nabelgefäßen vermittelt werden.

SBA zeigte das gleiche Bindungsmuster wie GSA I. Die Reaktion fiel aber wesentlich schwächer aus, weshalb im Gegensatz zu GSA I eine geringere Bindungsaffinität vorhanden sein dürfte. In der humanen Nabelschnur zeigte SBA ebenfalls eine deutliche Affinität zu Endothelzellen, wobei aber gelegentlich auch schwache Reaktionen im Amnionepithel beobachtet wurden (Sgambati et al., 2003).

PNA zeigt in der Nabelschnur des Rindes sehr uneinheitliche Reaktionen, wobei sowohl faserige als auch zelluläre Bestandteile der Nabelschnur positiv reagieren. Regelmäßig können beispielsweise PNA-Bindungsstellen an den Zytoplasmamembranen des Urachus- und des Amnionepithels nachgewiesen werden. Eine deutliche Markierung des Amnionepithels durch PNA wird auch in der Nabelschnur des Menschen beschrieben (Sgambati et al., 2003).

Mit Ausnahme der Endothelzellkerne besitzen alle anderen Zellkerne der bovinen Nabelschnur Bindungsstellen für VVA.

Fukose-Reste sind in der bovinen Nabelschnur im Gegensatz zum Menschen nur in geringen Mengen vorhanden, da die Reaktionen mit UEA I und LTA schwach ausfallen und nur bei stärkster Vergrößerung eine Reaktion in den zellulären Bestandteilen des Nabelstrangs beobachtet werden kann. In der menschlichen Nabelschnur scheinen Fukosereste größere Bedeutung zu haben, da sowohl in den zellulären als auch in den faserreichen Bestandteilen deutliche Reaktionen mit LTA und UEA I gefunden wurden (Sgambati et al., 2003). Die genaue funktionelle Bedeutung der einzelnen Zuckerbestandteile in der Nabelschnur ist noch nicht geklärt. Die korrekte Verteilung und Menge der einzelnen Zuckerreste ist jedoch für die Integrität und Funktion eines Gewebes essentiell. In der Nabelschnur könnten Glykokonjugate an Transport- und Diffusionsprozessen durch die gesamte Nabelschnur beteiligt sein, jedoch auch Barrierefunktionen an Epithelien ausüben. Weiterhin wären regulative Einflüsse auf die in der Nabelschnur zahlreich vorhandenen Enzymsysteme denkbar. Die Zuckerreste, die in den Endothelzellen und in den Gefäßmuskelzellen exprimiert werden, könnten die selektive Permeabilität für verschiedene vasoaktiv wirkende Substanzen beeinflussen, weshalb ihnen auch im Rahmen der Blutflussregulation Beachtung geschenkt werden muss (Stewart et al., 2000; Sgambati et al., 2002; Sgambati et al., 2003). Wie wichtig die genaue Verteilung und das zeitliche Auftreten der Zuckerreste in der Nabelschnur sind, zeigten lektinhistochemische Studien an der humanen Nabelschnur und Plazenta. Dabei wurden normal und pathologisch verlaufende Schwangerschaften mit intrauteriner Wachstumsretardierung (intrauterine growth retardation = IUGR) verglichen. Die auch unter physiologischen Bedingungen beobachtbare Verminderung der Lektinbindungsstellen gegen Ende der Schwangerschaft setzte im Falle der IUGR in beiden Gewebetypen deutlich früher ein. Dies kann als eine vorzeitige Alterung und Funktionseinstellung interpretiert werden. Die Vermutung liegt nahe, dass die Abwesenheit oder die Veränderung einiger Glykokonjugate die Effizienz des feto-maternalen Gas- und Flüssigkeitsaustausch vermindern kann, woraus eine IUGR resultieren kann. Die mit Lektinen lokalisierbaren Zuckerreste stellen Bestandteile der EZM-Glykosaminoglycane dar, deren Veränderung im Sinne einer frühzeitigen Alterung bei pathologischen Zuständen, wie der Schwangerschaftsgestose, in der menschlichen Nabelschnur bereits bewiesen wurde (Sgambati et al., 2002). Aus den Untersuchungen wird ersichtlich, dass sich die in der menschlichen Nabelschnur befindlichen Glykokonjugate bei Krankheitszuständen verändern. Meine Ergebnisse an makroskopisch und mikroskopisch gesund erscheinenden bovinen Nabelschnüren können somit als Basis für weitere Lektinstudien an gesunden und pathologisch veränderten bovinen Nabelsträngen dienen.

Neben den Glykokonjugaten sind auch Glykogenansammlungen in der Nabelschnur essentiell für die fetale Entwicklung, da eine direkte Korrelation zwischen dem Glykogengehalt der Nabelschnur und dem Geburtsgewicht des menschlichen Fetus nachgewiesen wurde (Mvumbi et al., 1996). Wie die PAS-Färbung und elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, sind Glykogengranula in den meisten Zellen der bovinen Nabelschnur vorhanden, wobei besonders das Amnion- und Urachusepithel sowie einige Muskelzellen der Nabelgefäße stark glykogenhaltig sind. Dies entspricht weitestgehend den Untersuchungen an der menschlichen Nabelschnur, mit dem Unterschied, dass dort auch in den Endothelzellen zahlreiche Glykogengranula beobachtet werden konnten (Parry und Abramovich, 1972; Sexton et al., 1996). Wie oben beschrieben, könnten das Urachus- und Amnionepithel als Glykogenspeicher dienen (Amoroso, 1952). Glykogenansammlungen in den Gefäßmuskelzellen könnten eine Bedeutung für spontane und starke Kontraktionen haben, wie Untersuchungen an der postpartalen menschlichen Nabelschnur zeigen. So kann die beim Menschen beschriebene postpartale Reduzierung des Glykogenspiegels in den proximalen Anteilen der Nabelschnur auf starke Kontraktionen während des Geburtvorgangs zurückgeführt werden. Einen weiteren Hinweis auf den Zusammenhang zwischen Glykogengehalt und Kontraktion lieferten Beobachtungen an Feten mit frühzeitigem Mekoniumabgang, der bekanntermaßen eine Vasokonstriktion verursacht. Bei diesen Fällen war postpartum in den Muskelzellen der Nabelgefäße ein geringerer Glykogengehalt vorhanden (Mvumbi et al., 1996). Der Zusammenhang zwischen Gefäßkontraktion und Glykogengehalt wurde in der hier vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Die Ergebnisse spiegeln jedoch den Glykogengehalt der einzelnen Bestandteile des bovinen Nabelstrangs wider. Möglicherweise würde eine postpartale Untersuchung ganzer boviner Nabelschnüre Rückschlüsse auf den Verbrauch von Glykogenreserven während der Geburt erlauben.

5.4. Die Regulation des umbilikalen Blutflusses

Im Rahmen dieser Arbeit konnten weder lichtmikroskopisch (H.E.-Färbung, Versilberung nach Gomori) noch elektronenmikroskopisch Hinweise auf eine Innervation der Nabelgefäße oder der restlichen Nabelschnur gefunden werden. Dies wurde zusätzlich durch das immunhistologische Resultat von S100-Protein bestätigt. Das S100 Protein, das erstmals 1965 aus dem bovinen Gehirn isoliert wurde, ist in neuronalen Strukturen vorhanden, weshalb eine Darstellung von neuronalem Gewebe beim immunhistologischen Nachweis von S100 möglich ist (Moore, 1965; Aharinejad et al., 1996). Das Vorkommen der S100 Proteine ist

jedoch nicht auf nervales Gewebe beschränkt (Donato, 1999), wodurch sich die Expression in den Endothelzellen und glatten Muskelzellen der bovinen Nabelgefäße erklären lässt. In den Nabelgefäßen des Menschen wurde ein ähnliches Expressionsmuster von S100 beschrieben (Wijnberger et al., 2002).

Meine Resultate stimmen mit den Untersuchungen an menschlichen Nabelgefäßen, deren extrafetaler Anteil ebenfalls nicht innerviert wird, überein (Shordania, 1929; von Euler, 1938; Spivack, 1943; Somlyo et al., 1965; Ehinger et al., 1968; Boyd und Hamilton, 1970; Walker et al., 1971; Hülsemann, 1971; Lachenmeyer, 1971; Reilly und Russel, 1977; Roach, 1987; Fox und Khong, 1990; Sexton et al., 1996). Die Regulation des Blutflusses muss folglich über nicht-nervale Faktoren bestimmt werden. Dabei können die Struktur der Gefäße und des umliegenden Gewebes, vasoaktive Substanzen oder physikalische Faktoren eine Rolle spielen.

Die Anordnung der Muskelzellen in den Nabelgefäßen wird in der Literatur kontrovers diskutiert, jedoch sind sich alle Autoren einig, dass sie einen wichtigen Faktor für die Regulation der Lumenweite darstellt. Neben innerer Längs- und äußerer Ringmuskulatur (Shordania, 1929) wurden spiralig angeordnete Muskelzellen beschrieben, die je nach Stellungswinkel den Eindruck einer längs oder zirkulär orientierten Muskulatur vermitteln (v. Hayek, 1935; Gänshirt, 1949; Goerttler, 1951). Die spiralige Anordnung stellt die Grundvoraussetzung für ein System dar, das sowohl lumenverengend als auch erweiternd wirken kann, wobei starke Kontraktionen bei relativ geringer Muskelfaserverkürzung hervorgerufen werden können (v. Hayek, 1935; Gänshirt, 1949; Goerttler, 1951; Gebrane-Younes et al., 1986). Ein anderer Mechanismus des Gefäßverschlusses wird von Meyer und seinen Mitarbeitern (1978) beschrieben, die wie alle anderen Autoren eine Zweischichtung der Nabelarterie beobachten, jedoch nur den äußeren, zirkulär angeordneten Zellen Muskelzellcharakter mit Kontraktionskraft zusprechen und die inneren Zellen für kontraktionsunfähige, undifferenzierte Mesenchymzellen halten. Der Gefäßschluss bzw. die Engerstellung des Gefäßes basiert ihrer Meinung nach ausschließlich auf der Kontraktion der äußeren Ringmuskulatur, wobei die innere, nicht zur Kontraktion befähigte Mesenchymzellschicht das Lumen als „plastische Masse“ verengt oder verschließt. Dieser Mechanismus des Gefäßschlusses scheint beim Rind nicht vorzuliegen, da die innere Schicht der Nabelarterie aus α SMA-exprimierenden, kontraktionsfähigen Muskelzellen besteht, auch wenn diese überwiegend nicht die Form von typisch länglichen Muskelzellen, sondern eher die polygonale Gestalt von Mesenchymzellen besitzen. Die Zweischichtung in der Nabelvene des Rindes ist hingegen sehr undeutlich, da die Muskelwand hauptsächlich aus zirkulär

angeordneten Muskelzellen besteht. Eine rein zirkuläre Anordnung der Muskelzellen wurde auch in der Nabelvene des Schafes beschrieben (Sheppard und Bishop, 1973). Die unterschiedliche Gestalt der inneren Muskelzellen von Nabelvene und Nabelarterie können durch den unterschiedlichen Gehalt an elastischen Fasern bzw. durch die An- oder Abwesenheit der Lamina elastica interna bedingt sein. Die Lamina elastica interna verhindert sowohl das vollständige Kollabieren als auch das Bersten eines Gefäßes (Meyer et al., 1978). In der bovinen Nabelarterie ist aufgrund der Abwesenheit einer stabilisierenden Lamina elastica interna eine starke Lumenreduktion möglich. Dies zeigt sich sowohl in dem sternförmig eng zusammengefallenen Lumen sowie in den nicht gespannten und somit polygonal erscheinenden Muskelzellen der inneren Gefäßschichten. In der Nabelvene hingegen wird durch die Ausbildung einer Lamina elastica interna das vollständige Kollabieren des Gefäßes verhindert, so dass sich um das rohrartig stabilisierte Venenlumen lang gestreckte und gespannte Muskelzellen anordnen. Durch das Fehlen der Lamina elastica interna in der Nabelarterie ist die passive Wandspannung sehr gering, wodurch bei jeder Kontraktion immer die Tendenz zum kompletten Gefäßverschluss gegeben ist, sobald die muskuläre Wandspannung den transmuralen Blutdruck übersteigt (Burton, 1968; Scharl, 1986). Dies könnte eine entscheidende Rolle beim postpartalen Gefäßverschluss der Nabelarterie spielen. Die Nabelvenen sind durch das Vorhandensein der Lamina elastica interna geringer verformbar, wodurch das Lumen offen gehalten wird und der Fetus während der Geburt möglichst lange mit plazentarem Blut versorgt werden kann. Die Verteilung der elastischen Fasern scheint bei allen untersuchten Spezies gleich zu sein, weshalb ihre funktionelle Bedeutung in der Regulation der Lumenweite eine große Bedeutung haben dürfte (Shordania, 1929; Boyd und Hamilton 1970; Arvy und Pilleri, 1976; Nikolov und Schiebler, 1973; Sheppard und Bishop, 1973; Gebrane-Younes et al., 1986; Scharl, 1986).

Im Rahmen meiner Untersuchungen konnten weder makroskopisch noch mikroskopisch Hinweise auf die Ausbildung von Hobokschen Klappen gefunden werden, die beim Menschen unmittelbar post partum in den Nabelarterien entstehen. Die auf lokalen Kontraktionen basierenden Strukturen gelten als Ausgangspunkte für den Kompletverschluss der Nabelarterien (Scharl, 1986). Es muss aber beachtet werden, dass die Probennahme fast ausschließlich am geschlachteten Tier vollzogen wurde, so dass in dieser Arbeit keine Aussagen über die Ausbildung oder das Fehlen Hobokscher Klappen im normalen Geburtsverlauf gemacht werden können. Allerdings treten beim kleinen Wiederkäuer auch unter normalen Geburtsbedingungen keine den Hobokschen Klappen ähnlichen Strukturen auf, so dass beim Wiederkäuer andere Möglichkeiten der arteriellen Gefäßkontraktion in der

Nabelschnur gegeben sein müssen (Reynolds, 1952). Beim Rind wäre eine Beteiligung des α SMA-positiven, sphinkterähnlichen Muskelrings an der Regulation des umbilikalen Blutflusses denkbar. Er könnte bei seiner Kontraktion regulativ auf den Gefäßdurchmesser wirken und sowohl eine Lumenverengung verursachen als auch einer übermäßigen Dehnung des Gefäßes bei starker Blutfüllung entgegenwirken. Der Muskelring, der nicht nur beim Wiederkäuer, sondern auch beim Pferd vorkommt, kontrahiert sich nachweislich bei der Geburt auf Zug und Dehnung, so dass auch eine präventive Funktion gegen eine vorzeitige Ruptur der Nabelschnur in Betracht zu ziehen ist (Noden und De Lahunta, 1985). Ein ähnliches Phänomen wird im Mesenchym des Amniochorions beim Menschen beobachtet, in dem sich bei starkem Dehnungsreiz α SMA-exprimierende Myofibroblasten differenzieren, die einer vorzeitigen Membranruptur entgegen wirken (McParland et al., 2000). Da die α -smooth-muscle-Aktin-positiven Myofibroblasten der menschlichen WS zur Kontraktion befähigt sind und ihre Kontraktionskraft auf die EZM übertragen können, wurde den Myofibroblasten in der Nabelschnur des Menschen ebenfalls eine Rolle bei der Regulation des Blutflusses in den Nabelgefäßen zugeschrieben (Takechi et al., 1993). Es ist anzunehmen, dass die beim Rind kompakt und ringförmig angeordneten α SMA-positiven Muskelzellen jedoch eine größere Wirkung auf die Nabelgefäße ausüben können als die einzeln angeordneten Myofibroblasten in der WS des Menschen.

Beim Menschen ist zusätzlich das in der WS bestehende Kanalsystem an der Regulation des Blutflusses beteiligt. Die Spalten und Kavernen innerhalb der WS speichern Wasser und Grundsubstanz und vermögen somit Volumenschwankungen, die Auswirkungen auf die Lumenweite der Nabelgefäße haben, auszugleichen (Vizza et al., 1995; Vizza et al., 1996). In meinen Untersuchungen fand ich keine Hinweise auf ein ausgeprägtes Kavernensystem in der WS des Rindes.

Aus den bisherigen Untersuchungen wird ersichtlich, dass die Funktion der Nabelgefäße und die Regulation des umbilikalen Blutflusses nur im Zusammenhang mit ihrer Einbettung in der WS zu verstehen ist. Somit sind auch die Zusammensetzung und die Konsistenz der WS von großer Bedeutung. Die WSZ sind über die Produktion von EZM-Komponenten maßgeblich an dieser Aufgabe beteiligt. Die starke Dilatation des ER und der Organellenreichtum der WSZ weisen auf eine gesteigerte Proteinsynthese hin, wobei unter anderem auch Kollagenfasern für die EZM produziert werden (Takechi et al., 1993). Neben der Zusammensetzung der WS, ist auch ihre Wasserbindungskapazität für die Ausübung ihrer physiologischen Funktion bedeutungsvoll. Da jede Kontraktion der Nabelgefäße mit einer Wandverdickung einhergeht, ist zur Erweiterung des Lumens ein Ausweichen nach außen

Voraussetzung. Die beim Menschen beschriebene „lumenerweiternde Kontraktion“ ist somit nur bei einer stark wasserhaltigen WS, wie sie in utero vorliegt, möglich. Bei Austrocknung der WS postpartum führt jegliche mit Wandverdickung einhergehende Kontraktion zur Lumenverengung (Gänshirt, 1949; Goerttler, 1951). Ob dies für den Gefäßschluss beim Rind eine Rolle spielt ist fraglich, da die bovine Nabelschnur bereits intravaginal reißt und somit der Austrocknungseffekt nach der Geburt nicht von Bedeutung sein dürfte.

Der Einfluss vasoaktiver Substanzen auf die Nabelgefäße wurde in der Humanmedizin vielfach untersucht, da sie aufgrund der fehlenden Innervation der Nabelgefäße entscheidend an der Regulation des umbilikalen Blutflusses beteiligt sind (Boura und Walters, 1991). Für zahlreiche Substanzen wurde ein Effekt auf die Nabelgefäße nachgewiesen, die der Tabelle 1 zu entnehmen sind. Einige der vasoaktiven Substanzen können nachweislich in den Endothelzellen der menschlichen Nabelgefäße gebildet werden (Benedetto et al., 1987; Mück et al., 1992). Auch beim Rind ist eine lokale Synthese in den Endothelzellen wahrscheinlich, da sie aufgrund ihrer Morphologie und ihres Organellengehalts bis zur Geburt metabolisch aktive Zellen darstellen (Sexton et al., 1996). Eine Beteiligung der glatten Gefäßmuskelzellen an der Produktion vasoaktiver Substanzen ist bei frühen Entwicklungsstadien (bis zirka 15 cm SSL) ebenfalls denkbar, da ihre ultrastrukturellen Charakteristika auf eine gesteigerte Proteinsynthese hinweisen und durch die Ausbildung von zahlreichen Zellverbindungen, einschließlich muskuloendothelialer Zellkontakte, der Transport von Substanzen innerhalb des Gefäßes möglich erscheint (Nicolov und Schiebler, 1973; Gebrane-Younes et al., 1986; Sexton et al., 1996).

Da Östrogen und Progesteron nachweislich einen Effekt auf Gefäße besitzen und in hohen Konzentrationen im Nabelschnurblut vorkommen, ist ein Einfluss auf die Nabelgefäße wahrscheinlich (Baker et al., 1997; Vázquez et al., 1999). Diese Hypothese wird durch die Tatsache unterstützt, dass Progesteron auch lokal in der Nabelschnur gebildet wird (Gunasegaram et al., 1991). Über die Wirkung von Progesteron und Östrogen auf die Nabelgefäße existieren allerdings nur wenige Untersuchungen beim Menschen. Noch dazu differieren die Resultate beträchtlich (Silva de Da und Meirelles, 1977; Conte et al., 1994; Bonatz et al., 1996; Fausett et al., 1999). Beim Rind liegen meines Wissens nach keine Ergebnisse über einen direkten Effekt der beiden Steroidhormone auf die Nabelgefäße vor. Da die Wirkungen von Östrogen und Progesteron meist über die entsprechenden Rezeptoren vermittelt werden, wurde in einigen Arbeiten das Vorhandensein dieser Rezeptoren auf Protein- und mRNA-Ebene überprüft. Jedoch variieren die Ergebnisse auch in diesem Punkt. Dabei kann Progesteron-Rezeptor (PR) in den Gefäßmuskelzellen von Nabelarterie und

Nabelvene meist nachgewiesen werden (Belfort et al., 1996b), während die Expression von ER in den Nabelgefäßen kontrovers diskutiert wird (Pertschuk, 1990; Belfort et al., 1996b; Baker et al., 1997; Jensen et al., 1998).

In der hier vorliegenden Arbeit konnte boviner Progesteronrezeptor (bPR) immunhistologisch in der bovinen Nabelarterie und Nabelvene gefunden werden. bPR wird ausschließlich in den Endothelzellen, nicht jedoch in den Myozyten der Nabelgefäße exprimiert. Die positive Reaktion beschränkt sich dabei auf das Zytoplasma der Endothelzellen, während die Kerne negativ erscheinen. Eine Lokalisation von PR im Zytoplasma wurde auch schon bei glatten Muskelzellen von Uterus- und Plazentagefäßen beschrieben. (Younes et al., 1981; Rivera und Cano, 1989; Bergqvist et al., 1993). Im Unterschied zu bPR, konnte boviner Östrogenrezeptor α (bER α) immunhistologisch nicht nachgewiesen werden. Zu ähnlichen Resultaten in den Nabelgefäßen des Menschen kamen auch Belfort und seine Mitarbeiter (1996b), die in den Nabelgefäßen des Menschen PR, jedoch keinen ER nachweisen konnten. In den Stromazellen des Uterus und in den Myozyten der Spiralarterien des Menschen konnte PR immunhistologisch während der gesamten Schwangerschaft gefunden werden, wohingegen ER nur in den ersten Schwangerschaftswochen und zudem nur sehr schwach detektierbar war. ER wird folglich bei Menschen im Uterus während der ersten Schwangerschaftswochen herunterreguliert (Perrot-Applanat et al., 1994). Da für meine Untersuchungen ausschließlich Feten ab dem 2. Entwicklungsmonat verwendet wurden, ist es nicht auszuschließen, dass zu einem früheren Zeitpunkt bER α in den Nabelgefäßen vorhanden ist und ebenfalls im Laufe der Entwicklung herunterreguliert wird. Weiterhin ist es möglich, dass bER α ähnlich dem ER im menschlichen Uterus auch nur in sehr geringen Mengen exprimiert wird, so dass die hier verwendete Methode zu wenig sensitiv ist, um bER α zu detektieren. Die Expression von bPR bis zum Geburtszeitpunkt lässt eine besondere Rolle von Progesteron in der Regulation des Nabelblutflusses vermuten (Perrot-Applanat et al., 1994). Das Fehlen des bER α auf Proteinebene muss aber nicht bedeuten, dass Östrogen bei der Blutflussregulation in der Nabelschnur keine Bedeutung hat. Denn Östrogen könnte auch über einen nicht Rezeptor-vermittelten Weg Einfluss auf den umbilikalen Blutfluss nehmen, wie es für die menschlichen Nabelgefäße bereits beschrieben wurde, da der dilatative Effekt von 17β -Östradiol auf die Nabelgefäße durch ER-Blocker nicht gehemmt werden konnte (Fausett et al., 1999). Östrogen könnte somit den fetoplazentaren Gefäßen des Menschen trotz Fehlen des ER einen vasodilatativen Schutz gegen konstriktorisch wirkende Stimuli bieten. Ähnliche Verhältnisse könnten auch in den Nabelgefäßen des Rindes vorliegen.

S100, das beim Rind in den Endothelzellen der Nabelarterie und in einigen Muskelzellen der Nabelgefäße vorkommt, könnte ebenfalls eine Rolle in der Blutflussregulation der bovinen Nabelschnur spielen, da seine Funktion bereits bei der Kontraktion glatter Muskelzellen nachgewiesen werden konnte. Weiterhin wurde seine Wirkung auf NOS, auf weitere Enzyme und auf die Ca^{2+} -Homeostase beschrieben (Heierhorst et al., 1996; Hu et al., 1996; Donato 2003). Die ausschließlich positive Reaktion der Endothelzellen der Arterien, wie es bei den bovinen Nabelgefäßen der Fall ist, wurde auch schon in anderen Organen bei verschiedenen Spezies beobachtet. So reagierten im breiten Gebärmutterband des Schweins nur die Endothelzellen arterieller Gefäße positiv, während die Endothelzellen der Venen S100-negativ erschienen (Gawronska et al., 1995). Dagegen wird im Hoden des Rindes S100 nur in den Endothelzellen der Venen, nicht jedoch in denen der Arterien exprimiert (Amselgruber et al., 1992). Die funktionelle Bedeutung über die selektive Expression von S100 in den Endothelzellen der Arterie oder der Vene ist noch nicht geklärt.

5.5. Die bovine Nabelschnur als Stammzellquelle?

In den letzten Jahren wurde die Nabelschnur als mögliche Quelle zur Gewinnung von mesenchymalen (MSCs) und hämatopoietischen (HSCs) Stammzellen entdeckt. Zellen mit MSC-Charakter konnten aus dem subendothelialen Bereich der Nabelvene (Romanov et al. 2003) sowie aus der WS isoliert werden (Mitchell et al., 2003). Bei Stromazellen der WS wurde dieses Potential aufgrund ihrer wenig differenzierten Form sowie durch ihren Kontakt mit totipotenten Primordialkeimzellen und multipotenten HSCs, die in der Embryonalphase durch die Nabelschnur wandern, vermutet. Diese Annahme wurde durch die Tatsache bestätigt, dass Stromazellen der WS des Menschen c-kit exprimierten, Telomeraseaktivität besaßen und sie sich schließlich nach Kultivierung und Induzierung zu Neuronen bzw. Gliazellen differenzierten. Die WS-Zellen zeigten somit die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Differenzierung, wobei beides charakteristische Merkmale einer Stammzelle darstellen (Mitchell et al.; 2003).

Seit längerer Zeit gelten das Dottersackentoderm bzw. -mesoderm sowie die AGM-Region (aorta-gonad-mesonephros-Region) als Quelle für HSCs (Moore und Metcalf, 1970; Medvinsky et al., 1993). Die hämatopoietischen Progenitoren stammen aus dem sich zur Aorta entwickelnden Teilbereich der AGM-Region. Es lag daher nahe, auch die anderen zu diesem Zeitpunkt vorhandenen großen Gefäßstämme des Embryos zu untersuchen. Dabei gelang es, aus der Nabel- und Dottersackarterie HSCs mit „engrafting-Potential“ zu isolieren

(de Bruijn et al., 2000). Im Gegensatz zur Nabelarterie konnte für die Aorta und für die Dottersackarterie bereits bewiesen werden, dass die HSCs tatsächlich in diesen Gefäßen entstehen. Da die Bildung von Endothelzellen und HSCs nur aus splanchnopleuralem Mesoderm möglich ist, müssen die Aorta und die Dottersackarterie zumindest teilweise Zellen aus der Splanchnopleura enthalten (Garcia-Porrero et al., 1995; Tavian et al., 1999). In der Nabelarterie, für die bisher noch kein direkter Beweis für die lokale Bildung der HSCs erbracht werden konnte, ist die Entstehung der HSCs jedoch ebenfalls sehr wahrscheinlich, da die HSCs bei der Maus in der Nabelarterie am Tag 10.5 auftreten, einem Zeitpunkt zu dem in der Zirkulation noch keine HSCs nachgewiesen werden können (de Bruijn et al., 2000).

Neben dem Dottersack, der AGM-Region und den Nabelarterien, gilt auch die Allantois des Vogels als HSC produzierendes Organ, da beim Vogel die Isolierung von Hämangioblasten aus der von der Splanchnopleura abstammenden Allantois gelungen ist. Die Hämangioblasten können sich zu Endothelzellen und zu hämatopoietischen Progenitoren differenzieren (Caprioli et al., 1998; Caprioli et al., 2001). Interessanterweise konnte der isoliert kultivierte Allantoissack nur hämatopoietische Zellen, jedoch keine Endothelzellen hervorbringen. Wurde er jedoch in das Zölon oder in die Nähe des Dottersackganges eines Wirtstieres verpflanzt, konnten Angioblasten und hämatopoietische Zellen entstehen (Caprioli et al., 1998; Caprioli et al., 2001). Daraus wird ersichtlich, dass die Umgebung für die Entwicklung von HSCs und MSCs von großer Bedeutung ist. Allerdings ist für die Bildung von Hämangioblasten im Allantoisentoderm ein ausreichend langer Kontakt zwischen Entoderm und Mesoderm nötig, da vom Mesoderm auf das Entoderm ein induktiver Reiz ausgehen muss. Bei der Maus besteht der Kontakt nur sehr kurz, weshalb bei dieser Spezies in der Allantois zwar mit Vaskulogenese oder Hämatopoiese assoziierte Moleküle exprimiert werden, jedoch keine Progenitoren der Hämatopoiesereihe entstehen (Yamaguchi et al., 1993).

Bei der Optimierung des Milieus für die HSC-Bildung scheint die Expression von α -smooth muscle-Aktin ebenfalls von Bedeutung zu sein. So befinden sich im Mesoderm unter den HSCs hervorbringenden Dottersackarterien und Aorten α -smooth-muscle-Aktin-positive Zellschichten (Tavian et al., 1999). Ein immunhistochemischer Nachweis von α -smooth-muscle-Aktin gelang auch in kultivierten Stromazellen des Knochenmarks, wobei zwischen der α SMA-Expression und der Aufrechterhaltung der Hämatopoiese ein Zusammenhang vermutet wird (Galmiche et al., 1993). Die aus dem subendothelialen Bereich der Nabelvene isolierten Zellen mit mesenchymalen Stammzeleigenschaften exprimierten ebenfalls α -smooth-muscle-Aktin (Romanov et al., 2003).

Die Suche nach zuverlässigen, leicht zugänglichen Quellen für HSCs und MSCs ist ein wichtiges Ziel der Stammzellforschung. Für MSCs stellt derzeit das Knochenmark die Hauptquelle dar, wobei aber die mögliche virale Kontamination sowie die Abnahme der Proliferationskapazität mit zunehmendem Alter deutliche Einschränkungen bedeuten (Minguell et al., 2000; Rao und Mattson, 2001). HSCs können zwar aus dem Nabelschnurblut gewonnen werden, doch es werden große Anstrengungen unternommen, weitere Stammzellquellen zu identifizieren. Die Nabelschnur des Rindes wurde in der hier vorliegenden Arbeit nicht speziell auf das Vorhandensein von Zellen mit HSC- oder MSC-Eigenschaften überprüft. Folgende Beobachtungen geben jedoch Anlass, Untersuchungen in dieser Richtung durchzuführen: Multipotente Primordialkeimzellen wandern auch beim Rind aus dem Dottersack über den Dottersackstiel in die Keimleiste des bovinen Embryos. Die Reste des Dottersackstiels lassen sich im Nabelstrang des Rindes mit Regelmäßigkeit bis zu einer SSL von 6,5 cm nachweisen. Sie konnten jedoch auch noch in Feten mit 15 cm und 26 cm SSL gefunden werden. Zu diesem Zeitpunkt ist die Blutbildungsphase im Dottersack längst abgeschlossen (Rüsse et al., 1992). Es stellt sich nun die Frage, ob der Dottersackstiel im Nabelstrang über die Blutbildungsphase hinaus eine Funktion übernimmt. Die wandernden Primordialkeimzellen könnten längere Zeit im Dottersackstiel verbleiben und in der Umgebung des Nabelstrangs zu HSCs oder MSCs differenzieren. Eine enge Beziehung von HSCs und Primordialkeimzellen konnte bereits dokumentiert werden (Kritzenberger und Wrobel, 2004). Ob der Dottersackstiel im Nabel eine derartige Funktion erfüllt, muss allerdings erst noch eingehend studiert werden. Auch beim Menschen kommen in 1,5% der geburtsreifen Nabelschnüre Überreste des Dottersackstieles vor, wobei diesen eher wegen tumorösem Entartungsrisiko Bedeutung zukommt (Jauniaux et al., 1989b). Im Gegensatz zum Menschen bleibt der Urachus beim Rind im Nabelstrang bis zur Geburt bestehen. Dies erhöht die Wahrscheinlichkeit, in der bovinen Nabelschnur Zellen mit Stammzeleigenschaften zu finden, da eine Isolierung von Hämangioblasten aus dem Allantoissack möglich ist. Dies gelang zwar bisher nur beim Vogel, jedoch wurden wie oben beschrieben auch in der Maus entsprechende Markermoleküle gefunden, so dass zumindest das Potential zur Bildung von HSCs in der Allantois auch im Säuger besteht (Yamaguchi et al., 1993; Caprioli et al., 2001). Ob beim Rind eine ausreichend lange Induzierung durch das Mesoderm vorhanden ist, um Progenitoren hervorzubringen, muss noch genau untersucht werden. Besonders interessant erscheint die Tatsache, dass der isolierte Allantoissack des Vogels zunächst nicht in der Lage ist, Angioblasten und hämatopoietische Zellen hervorzubringen, sondern erst nach seiner Platzierung im Zöлом oder in der Nähe des Dottersackstiels diese Fähigkeiten entwickelt

(Caprioli et al., 1998; Caprioli et al., 2001). Der Nabelstrang des Rindes könnte möglicherweise eine optimale Umgebung für eine Stammzellbildung sein, da der Allantoisgang, der extraembryonale Zölomspalt und Reste des Dottersackganges zumindest in frühen Stadien gleichzeitig vorhanden sind. Allerdings können die für den Vogel optimalen Bedingungen zur HSC- und MSC-Bildung nicht einfach auf das Rind übertragen werden. Die am Vogel erzielten Resultate können jedoch als Anhaltspunkte für weitere Studien am Rind dienen. Weitere Hinweise auf die Bedeutung der bovinen Nabelschnur als potentielle Quelle von Stammzellen liefern die Resultate meiner immunhistochemischen Untersuchungen mit Pan-CK und α -smooth-muscle-Aktin. Die Expression von Pan-CK in der WS bei frühen Stadien spricht für die Primitivität und somit für ein vielseitiges Differenzierungspotential der WS-Fibrozyten (Kasper et al., 1988; Bader et al., 1988). Wie oben beschrieben soll die Anwesenheit von α SMA-positiven Zellen die Hämatopoiese fördern. Die WS des Rindes stellt somit auch in diesem Punkt eine geeignete Umgebung dar, da in der WS zumindest bei einer SSL von 2,5 cm in der Zölomgegend vereinzelt α -smooth-muscle-Aktin- positive Zellen immunhistologisch nachgewiesen werden konnten. Ob den gleichfalls α SMA-positiven Zellen des subepithelialen Muskelrings eine derartige Funktion zukommt, ist eher fraglich. Die Resultate meiner Untersuchung können jedoch als Hinweis genommen werden, dass die Fibroblasten der bovinen WS in der Lage sind, unter bestimmten Umständen α -smooth-muscle-Aktin zu exprimieren.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die pränatale Entwicklung und Morphologie des bovinen Nabelstrangs untersucht. Hierfür wurde die Nabelschnur von Feten ab dem 2. Graviditätsmonat (SSL 2,5 cm) bis zum geburtsreifen Kalb im 9. Monat (SSL 89 cm) verwendet. Neben lichtmikroskopischen (routinehistologischen, immun- und glykohistochemischen) Färbungen wurden elektronenmikroskopische Techniken angewendet. Dabei besitzt die Nabelschnur des Rindes zu jedem Gestationszeitpunkt zwei Nabelvenen, zwei Nabelarterien und einen Urachus, die allesamt in der Wharton Sulze (WS) eingebettet sind. Bis zu einer SSL von 26 cm können in der Nabelschnur des Rindes das extraembryonale Nabelzölon und die Reste des Dottersackganges beobachtet werden. Die Nabelschnur wird außen ausschließlich vom Amnionepithel umgeben.

Das Amnionepithel besteht aus ein- und mehrschichtigen Bereichen. Bei den mehrschichtigen Arealen handelt es sich meist um lokal begrenzte, glykogenreiche Amnionepithelwarzen (Plaques), die der Oberfläche einen zottenartigen Charakter verleihen. Ihre Anzahl steigt im Laufe der Entwicklung an. Ab einer SSL von 42 cm (6. Monat) scheinen die nun dicht stehenden Warzen zu fusionieren, so dass nun auch über größere Strecken mehrschichtige Amnionepithelbereiche auftreten. Im 7. Trächtigkeitsmonat (SSL 53 cm) beginnt das Amnionepithel stellenweise zu verhornen. Zahlreiche desmosomale Zellverbindungen und Interdigitationen der Plasmamembranen der Amnionepithelzellen sprechen für eine hohe mechanische Festigkeit des Amnionepithels. Die zum Teil erheblich erweiterten Interzellularräume zwischen den Epithelzellen sowie der hohe Mikrovillibesatz der apikalen Zellschichten deuten auf Sekretions- und Resorptionsprozesse hin.

Im Gegensatz zu anderen Gefäßen besitzt die Nabelvene des Rindes eine gut ausgebildete Lamina elastica interna, wohingegen sie in der Nabelarterie fehlt. Die Muskelzellen der Nabelvene sind weit voneinander durch Bindegewebe getrennt, wodurch die Diffusion und der Transport von Nährstoffen erleichtert werden. Beide Gefäße besitzen Vasa vasorum und bestehen während der ganzen fetalen Entwicklung aus α -smooth-muscle-Aktin (α SMA) exprimierenden Muskelzellen. Die bovinen Nabelgefäße sind nicht innerviert. Dies wurde auch durch das Ergebnis der immunhistologischen Untersuchung des S100 Proteins bestätigt. Die Ultrastruktur der Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen der Nabelgefäße gibt Hinweise auf eine hohe Proteinsyntheseleistung sowie auf einen regen Stofftransport dieser Zellen.

Die bovine WS wird von zahlreichen feinen Blutgefäßen durchzogen. Sie wird im Laufe der fetalen Entwicklung zell- und grundsubstanzärmer, jedoch faserreicher. Im Gegensatz zu der makroskopisch einheitlich erscheinenden WS, stellt sie sich bei mikroskopischer Betrachtung heterogen dar. Dabei lassen sich der Bereich um den Urachus, die schwach ausgebildete Adventitia sowie unter dem Amnionepithel befindliche WS-Bereiche von der restlichen zentralen WS abgrenzen. Der Eindruck der Heterogenität entsteht durch den unterschiedlichen Zellgehalt, durch die Ultrastruktur der Zellen, durch das Verteilungsmuster der Intermediärfilamente und des α SMA sowie durch das Lektinbindungsmuster und durch die Reaktionen in der Alcianblau-Färbung. Besonders auffällig ist die Entstehung einer breiten Schicht α SMA-exprimierender Muskelzellen in der WS subepithelial unter dem Amnionepithel, wobei ein sphinkterähnlicher Muskelring gebildet wird.

Der Urachus weist zunächst ein einschichtiges Epithel auf, das im Laufe der Entwicklung jedoch mehrschichtig wird. Ab einer SSL von 26 cm (4. Trächtigkeitsmonat) wird er von zirkulär angeordneten Muskelzellen umgeben.

Um das Vorkommen und die Verteilung bestimmter Zuckerguppen in der bovinen Nabelschnur zu bestimmen, wurde das Bindungsmuster verschiedener Lektine untersucht. Dabei konnte mit Con A, WGA, ECA, GSA I, PNA und VVA eine deutliche, mit SBA, UEA I und LTA jedoch nur eine schwache Reaktion hervorgerufen werden.

Weiterhin ließ sich eine altersabhängige Expression der Intermediärfilamente Vimentin, Desmin und Pan-Cytokeratin (CK) beobachten. Dabei konnte der Epithelzellmarker CK in einigen Zellen der Nabelgefäßwand bis zum 2. Monat (6,5 cm SSL) und in einigen WS-Zellen bis zum 4. Monat (26 cm SSL) nachgewiesen werden. In den Gefäßmuskelzellen der bovinen Nabelgefäße werden im Laufe der Entwicklung alle drei Intermediärfilamenttypen exprimiert, während in den WS-Zellen, mit Ausnahme der glatten Muskelzellen des Urachus, Desmin immunhistologisch nicht nachweisbar ist.

Da die bovinen Nabelgefäße nicht innerviert sind, muss der umbilikale Blutfluss durch andere, nicht-nervale Faktoren reguliert werden. Dabei sind unter anderem die Anordnung der Gefäßmuskelzellen sowie die Kontraktionsfähigkeit der Nabelgefäße, die sich in der frühen Expression von α SMA aller Gefäßmuskelzellen widerspiegelt, von Bedeutung. Die in den bovinen Nabelgefäßen typische Verteilung der elastischen Fasern spielt diesbezüglich ebenfalls eine wichtige Rolle. Zusätzlich ist der umbilikale Blutfluss von der Struktur und Konsistenz der WS abhängig. Die Zusammensetzung der WS wird dabei entscheidend durch die extrazelluläre Matrix produzierenden WS-Fibrozyten beeinflusst. Eine aktive Beteiligung des sphinkterähnlichen Muskelrings an der Regulation des Blutflusses ist sehr

wahrscheinlich. Einen weiteren Faktor der Blutflussregulation stellen vasoaktive Substanzen dar, wobei die Ultrastruktur der Endothel- und Gefäßmuskelzellen Hinweise auf eine mögliche lokale Produktion dieser Substanzen in den Nabelgefäßen gibt. Der Nachweis von bovinem Progesteron-Rezeptor (bPR) in den Endothelzellen der Nabelgefäße aller untersuchten Feten lässt eine Beteiligung von Progesteron an der umbilikalen Blutflussregulation vermuten.

7. SUMMARY

Light and electron microscopic studies concerning the prenatal development of the bovine umbilical cord (*Bos taurus*)

In the present work the prenatal development and morphology of the bovine umbilical cord was investigated. Umbilical cords of fetuses from second gestational month (CRL 2,5 cm) to 9th month (CRL 89 cm) were collected. In addition to light microscopical stainings (including immuno- and glycohistochemical stainings), electron microscopical techniques were used. Generally, the bovine umbilical cord contains two umbilical veins, two umbilical arteries and one allantoic duct (urachus), which are all embedded in Wharton jelly (WJ). Up to the CRL of 26 cm, the extraembryonal coelom and remnants of the yolk sac stalk are detectable in the bovine umbilical cord. The umbilical cord is surrounded by amniotic epithelium.

The amniotic epithelium consists of simple and multilayered areas. Multilayered areas are formed mainly by circumscribed, glycogen rich plaques (verrucae), which provide the surface with a villous character. The number of the plaques increases with proceeding age. From a CRL of 42 cm (6th month), densely spaced plaques seem to fusion, so that larger areas of multilayered amniotic epithelium can be seen as well. In the 7th gestational month (CRL 53 cm) the amniotic epithelium starts to cornify. Desmosomal cell junctions and interdigitations of the plasmalemma of neighbouring epithelial cells contribute to the high mechanical firmness of the umbilical amniotic epithelium. Partially dilated intercellular spaces within the amniotic epithelium and numerous microvilli of the apical amniotic epithelial cells indicate processes of secretion and resorption.

In contrast to body veins, bovine umbilical veins show a well developed lamina elastica interna, which is absent in the umbilical artery. The smooth muscle cells of the umbilical vein are separated from each other by a wide intercellular space, which facilitates the diffusion and transport of nutrients. Both vessels possess vasa vasorum and consist of contractile α -smooth-muscle-actin (α SMA) expressing smooth muscle cells during the whole fetal development.

The bovine umbilical vessels are not innervated. This was also confirmed by the result of the immunohistochemical investigation of S100 protein. The ultrastructure of the endothelial- and smooth muscle cells of the bovine umbilical vessels suggests a high rate of protein synthesis and transport of metabolites.

WJ possesses numerous small blood vessels. The number of cells and the content of intercellular matrix of WJ decline consistently with fetal age, while its fibre content increases. In contrast to the homogeneous macroscopic appearance of the WJ, the microscopic picture is

somewhat heterogeneous. An area around urachus, adventitia and an area subepithelial under the amniotic epithelium are thereby distinguishable from the central main part of the WJ. This heterogeneity arises by the differences in cell content, by the ultrastructure of the cells, by a different expression pattern of intermediate filaments (IF) and of α SMA, by the lectin binding pattern and the reactions in the Alcian Blue staining. What is very striking, is the formation of a broad layer of α SMA-expressing cells in the subepithelial area of the amniotic epithelium of WJ, which has the character of a sphincter-like structure.

The urachus first exhibits a simple epithelium, which eventually becomes multilayered during fetal development. From a CRL of 26 cm (4th month), the urachus is surrounded by circularly arranged smooth muscle cells.

To determine the existence and the distribution of different sugar groups in the bovine umbilical cord, the binding pattern of different lectins was investigated. Reactions with Con A, WGA, ECA, GSA I, PNA and VVA were quite strong, whereas SBA, UEA I and LTA showed weak reactions.

In addition there was an age-related expression of the intermediate filaments (IF) vimentin, desmin and cytokeratin. The epithelium cell marker pan-cytokeratin was detected in some cells of the wall of umbilical vessels up to the 2nd month (CRL 6,5 cm) and in some WJ cells up to the 4th month (CRL 26 cm). During fetal development the three types of IF were expressed in the smooth muscle cells of bovine umbilical vessels. With the exception of the smooth muscle cells of the urachus, no desmin was detectable in WJ cells.

Since the bovine umbilical vessels are not innervated, umbilical blood flow must be regulated by other, non-nerval factors. Amongst these are the arrangement of the smooth muscle cells in the umbilical vessels and the contractility of umbilical vessels, which is reflected by early α SMA expression in all smooth muscle cells. The typical distribution of elastic fibres in the bovine umbilical vessels also play a role in this regard. Additionally, the umbilical blood flow depends on the structure of WJ. The composition of WJ is essentially determined by extracellular matrix producing fibrocytes of WJ. Participation of the sphincter-like ring of smooth muscle cells in the regulation of the umbilical blood flow is very probable. Vasoactive substances may also be involved in the regulation of umbilical blood flow. The ultrastructure of the endothelial- and smooth muscle cells indicates a local production of these substances in umbilical vessels. Detection of bovine progesterone receptor (bPR) in the endothelial cells of the bovine umbilical vessels of all investigated fetuses suggests a role of progesterone in the regulation of the umbilical blood flow.

8. VERZEICHNISSE

8.1. Literaturverzeichnis

Aharinejad S, Egerbacher M, Nourani F, Bock P, Friederici C, Schraufnagel DE (1996)

Pulmonary venous sphincters in cattle.
Anat. Rec. 246(3): 356-363

Akerman F, Lei ZM, Rao CV (2002)

Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor.
Gynecol. Endocrinol. 16: 299-306

Altura BM, Malaviya D, Reich CF, Orkin LR (1972)

Effects of vasoactive agents on isolated human umbilical arteries and veins.
Am. J. Physiol. 222(2): 345-355

Alvarez-Silva M, Belo-Diabangouaya P, Salaun J, Dieterlen-Lievre F (2003)

Mouse placenta is a major hematopoietic organ.
Development 130(22): 5437-5444

Amoroso EC (1952)

Placentation.
In: Shall's Physiology of Reproduction.
2. Auflage, Hrsg. Parkes AS, Longmans, London

Amselgruber W, Sinowatz F, Schams D, Lehmann M (1992)

S100 protein immunoreactivity in bovine testis.
Andrologia. 24(4): 231-235

Arens Y, Chapados RA, Cox BE, Kamm KE, Rosenfeld CR (1998)

Differential development of umbilical and systemic arteries. II. Contractile proteins.
Am. J. Physiol. 274: R1815-1823

Armstrong WD, Wilt JC, Pritchard ET (1968)

Vacuolation in the human amnion cell studies by time-lapse photography and electron microscopy.
Am. J. Obstet. Gynecol. 102(7): 932-948

Arvy L, Pilleri G (1976)

Le Cordon Ombilicale.
Verlag des Hirnanatomischen Instituts, Ostermündingen

Ashwell G, Morell AG (1974)

The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins.
Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 41: 99-128

Asmussen I, Kjeldsen K (1975)

Intimal ultrastructure of human umbilical arteries. Observations on arteries from newborn children of smoking and nonsmoking mothers.
Circ. Res. 36(5): 579-589

Bacsich P, Boyd H, Young A (1961)

Some observations on the arteries of the bovine umbilical cord.
Journal of anatomy 95: 618

Bader BL, Jahn L, Franke WW (1988)

Low level expression of cytokeratins 8, 18 and 19 in vascular smooth muscle cells of human umbilical cord and in cultured cells derived therefrom, with an analysis of the chromosomal locus containing the cytokeratin 19 gene.

Eur. J. Cell Biol. 47(2): 300-319

Baker VL, Chao VA, Murai JT, Zaloudek CJ, Taylor RN (1997)

Human umbilical vessels and cultured umbilical vein endothelial and smooth muscle cells lack detectable protein and mRNA encoding estrogen receptors.

J. Soc. Gynecol. Investig. 4(6): 316-24

Bankowski E, Sobolewski K, Romanowicz L, Chyczewski L, Jaworski S (1996)

Collagen and glycosaminoglycans of Wharton's jelly and their alterations in EPH-gestosis.

Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 66(2): 109-117

Barcroft J, Kennedy JA, Mason MF (1944)

Oxygen in the blood of the umbilical vessels of the sheep.

J. Physiol. 97: 347-356

Bautzmann H, Schmidt W (1960)

Comparative electron microscopic studies on the amnion of Sauropsida and Mammalia.

Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 51: 571-588

Bayliss WM (1902)

On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure.

J. Physiol. 28: 220-231

Belfort M, Saade GR, Wen TS, Vedernikov YP (1996a)

The direct action of 17 beta-estradiol in isolated omental artery from nonpregnant and pregnant women is related to calcium antagonism.

Am. J. Obstet. Gynecol. 175(5): 1163-1172

Belfort M, Van den Veyver, Vedernikov Y, Ferry R, Saade G, Komm B (1996b)

Estrogen and Progesterone receptor gene expression in umbilical artery and vein during human pregnancy.

J. Soc. Gynecol. Invest. 3: 262A

Benedetti WL, Sala MA, Alvarez H (1973)

Histochemical demonstration of enzymes in the umbilical cord and membranes of human term pregnancy.

J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol. 3: 185-189

Benedetto C, Barbero M, Rey L, Zonca M, Massobrio M, Rocca G, Slater TF (1987)

Production of prostacyclin, 6-keto-PGF1 alpha and thromboxane B2 by human umbilical vessels increases from the placenta towards the fetus.

Br. J. Obstet. Gynaecol. 94(12): 1165-1169

Benirschke K, Bourne GL (1960)

The incidence and prognostic implication of congenital absence of one umbilical artery.

Am. J. Obstet. Gynecol. 79: 251

Benirschke K, Kaufmann P (2000)

Pathology of the Human Placenta.

4.Auflage, Springer Verlag, Berlin

Bergqvist A, Bergqvist D, Ferno M (1993)

Estrogen and progesterone receptors in vessel walls. Biochemical and immunochemical assays.

Acta Obstet. Gynecol. Scand. 72(1): 10-16

Bjoro K, Hovig T, Stokke KT, Stray-Pedersen S (1986)

Formation of prostanoids in human umbilical vessels perfused in vitro.

Prostaglandins. 31(4): 683-698

Bonatz G, Lorcher E, Weisner D, Schulz V, Semm K (1996)

Value of pulsatile Doppler ultrasound in diagnosis of suspected placental insufficiency in comparison with other examination parameters.

Zentralbl. Gynakol. 118(3): 129-132

Bondi J (1902)

Über den Bau der Nabelgefäße.

M Schr. Gebh. Gynäk. 16: 265-274

Boura AL, Walters WA (1991)

Autacoids and the control of vascular tone in the human umbilical-placental circulation.

Placenta 12(5): 453-777

Bourne GL, Lacy D (1960)

Ultrastructure of human amnion and its possible relation to the circulation of amniotic fluid.

Nature 186: 952-954

Boyd JD, Hamilton WJ (1970)

Foetal blood vessels of the placenta.

In: The human placenta.

Heffer, Cambridge

Boyd WC, Shapleigh E (1954)

Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins).

Science 119 (1954): 419

Burnstock G (1990)

Local mechanisms of blood flow control by perivascular nerves and endothelium.

J. Hypertens. Suppl. 8(7): 95-106

Burton AC (1968)

Physiology and Biophysics of the circulation.

2. Auflage, Year Book Medical Publishers Inc., Chicago

Cai WQ, Bodin P, Sexton A, Loesch A, Burnstock G (1993a)

Localization of neuropeptide Y and atrial natriuretic peptide in the endothelial cells of human umbilical blood vessels.

Cell Tissue Res. 272(1): 175-181

Cai WQ, Dikranian K, Bodin P, Turmaine M, Burnstock G (1993b)

Colocalization of vasoactive substances in the endothelial cells of human umbilical vessels.

Cell Tissue Res. 274(3): 533-538

Cai WQ, Terenghi G, Bodin P, Burnstock G, Polak JM (1993c)

In situ hybridization of atrial natriuretic peptide mRNA in the endothelial cells of human umbilical vessels.

Histochemistry 100(4): 277-283

Caprioli A, Jaffredo T, Gautier R, Dubourg C, Dieterlen-Lievre F (1998)

Blood-borne seeding by hematopoietic and endothelial precursors from the allantois.

Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 17 95(4): 1641

Caprioli A, Minko K, Drevon C, Eichmann A, Dieterlen-Lievre F, Jaffredo T (2001)

Hemangioblast commitment in the avian allantois: cellular and molecular aspects.

Dev. Biol. 238(1): 64-78

Catini C, Gheri G (1983)

The glycosaminoglycans in the human umbilical cord.

Arch. Ital. Anat. Embriol. 88(4): 359-373

Cavaillé F, Kacémi A, Mondon F, Fournier T, Ferré F (1995)

Contractile proteins in human fetoplacental vessels.

Am. J. Obstet. Gynecol. 173(6): 1793-1799

- Chaudhuri G, Buga GM, Gold ME, Wood KS, Ignarro LJ (1991)**
Characterization and actions of human umbilical endothelium derived relaxing factor.
Br. J. Pharmacol. 102(2): 331-336
- Clarke JA (1965)**
An X-ray microscopic study of the vasa vasorum of the human umbilical arteries.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 66: 293-299
- Clemmons DR (1997)**
Insulin-like growth factor binding proteins and their role in controlling IGF actions.
Cytokine Growth Factor Rev. 8(1): 45-62
- Cohen DM, Murphy RA (1979)**
Cellular thin filament protein contents and force generation in porcine arteries and veins.
Circ. Res. 45(5): 661-665
- Comparative Placentation (2004)**
Index, Online im Internet
<http://medicine.ucsd.edu/cpa/cowfs.htm>
- Conte FA, Grumbach MM, Ito Y, Fisher CR, Simpson ER (1994)**
A syndrome of female pseudohermaphroditism, hypergonadotropic hypogonadism, and multicystic ovaries associated with missense mutations in the gene encoding aromatase (P450arom).
J. Clin. Endocrinol. Metab. 78(6): 1287-1292
- Czernobilsky B, Moll R, Levy R, Franke WW (1985)**
Co-expression of cytokeratin and vimentin filaments in mesothelial, granulosa and rete ovarii cells of the human ovary.
Eur. J. Cell Biol. 37: 175-190
- Damjanov I (1987)**
Lectin cytochemistry and histochemistry.
Lab. Invest. 57(1): 5-20
- Danforth D, Hull RW (1958)**
The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion.
Am. J. Obstet. Gynecol. 75(3): 536-547
- Danguy A, Akif F, Pajak B, Gabius HJ (1994)**
Contribution of carbohydrate histochemistry to glycobiology.
Histol. Histopathol. 9: 155-171
- Davignon J, Lorenz RR, Sheperd JT (1965)**
Response of human umbilical artery to changes in transmural pressure.
Am. J. Physiol. 209: 51-58
- de Bruijn MF, Speck NA, Peeters MC, Dzierzak E. (2000)**
Definitive hematopoietic stem cells first develop within the major arterial regions of the mouse embryo.
EMBO J 19(11): 2465-2474
- de Ziegler D, Bessis R, Frydman R (1991)**
Vascular resistance of uterine arteries: physiological effects of estradiol and progesterone.
Fertil. Steril. 55(4): 775-779
- Deans RJ, Moseley AB (2000)**
Mesenchymal stem cells biology and potential clinical uses.
Exp. Hematol. 28(8): 875-884

Desmoulière A, Gabbiani G (1994)

Modulation of fibroblastic cytoskeletal features during pathological situations: the role of extracellular matrix and cytokines.

Cell Motil. Cytoskeleton 29(3): 195-203

Di Naro E, Ghezzi F, Raio L, Franchi M, D'Addario V (2001)

Umbilical cord morphology and pregnancy outcome.

Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 96(2): 150-157

Donato R (1999)

Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type.

Biochim Biophys Acta. 1450(3): 191-231

Donato R (2003)

Intracellular and extracellular roles of S100 proteins.

Microsc. Res. Tech. 60: 540-551

Durst-Zivkovic B (1973)

Occurrence of mast cells in the placenta.

Anat. Anz. 134(3): 225-299

Dyer DC (1970)

The pharmacology of isolated sheep umbilical cord blood vessels.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 75(3): 565-570

Dyer DC, Gant DW, Park M (1972)

Actions of histamine on human, sheep and monkey umbilical vasculature.

Pharmacology 7(2): 101-108

Edelstone DI, Rudolph AM (1979)

Preferential streaming of ductus venosus blood to the brain and heart in fetal lambs.

Am. J. Physiol. 237(6): H724-729

Edelstone DI, Rudolph AM, Heymann MA (1978)

Liver and ductus venosus blood flows in fetal lambs in utero.

Circ. Res. 42(3): 426-433

Ehinger B, Gennser G, Owman C, Persson H, Sjöberg NO (1968)

Histochemical and pharmacological studies on amine mechanisms in the umbilical cord, umbilical vein and ductus venosus of the human fetus.

Acta Physiol. Scand. 72(1): 15-24

Ellison JP (1971)

The nerves of the umbilical cord in man and the rat.

Am. J. Anat. 132(1): 53-68

Engberg-Damsgaard TM, Windelborg Nielsen B, Sorensen FB, Henriques U, Schiotz PO (1992)

Estimation of the total number of mast cells in the human umbilical cord. A methodological study.

PMIS 100(9): 845-850

Erpek S (1998)

Mast cell density of the human umbilical cord.

Journal of Turgut Özal Medical Center 5: 43-46

Ertl C, Wrobel KH (1992)

Distribution of sugar residues in the bovine testis during postnatal ontogenesis demonstrated with lectin-horseradish peroxidase conjugates.

Histochemistry 97(2): 161-171

Eyden B (2001)

The fibronexus in reactive and tumoral myofibroblasts: further characterisation by electron microscopy.
Histol. Histopathol. 16(1): 57-70

Eyden BP, Ponting J, Davies H, Bartley C, Torgersen E (1994)

Defining the myofibroblast: normal tissues, with special reference to the stromal cells of Wharton's jelly in human umbilical cord.
J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 26(3): 347-355

Fausett MB, Belfort MA, Nanda R, Saade GR, Vedernikov Y (1999)

The effects of sex steroids on human umbilical artery and vein.
J. Soc. Gynecol. Investig. 6(1): 27-31

Fawcett DW (1986)

A Textbook of Histology.
11. Ausgabe, Hrsg. Bloom W und Fawcett DW, W.B Saunders Company, Washington

Feld SM, Hirschberg R, Artishevsky A, Nast C, Adler SG (1995)

Insulin-like growth factor I induces mesangial proliferation and increases mRNA and secretion of collagen.
Kidney Int. 48(1): 45-51

Firestone GL, Heath EC (1981)

Role of protein glycosylation in the cAMP-mediated induction of alkaline phosphatase in mouse L-cells.
J. Biol. Chem. 256(3): 1404-1411

Fletcher S (1993)

Chirality in the umbilical cord.
Br. J. Obstet. Gynaecol. 100(3): 234-236

Fox H, Jacobson H (1969)

Innervation of the human umbilical cord and umbilical vessels.
Am. J. Obst. and Gynec. 103: 384-389

Fox S, Khong T (1990)

Lack of innervation of human umbilical cord. An immunohistological and histochemical study.
Placenta 11: 59-62

Franc S, Rousseau JC, Garrone R, van der Rest M, Moradi-Ameli M (1998)

Microfibrillar composition of umbilical cord matrix: characterization of fibrillin, collagen VI and intact collagen V.
Placenta 19: 95-104

Franke WW, Schmid E, Breitzkreutz D, Luder M, Boukamp P, Fusenig NE, Osborn M, Weber K (1979a)

Simultaneous expression of two different types of intermediate sized filaments in mouse keratinocytes proliferating in vitro.
Differentiation 14(1-2): 35-50

Franke WW, Schmid E, Osborn M, Weber K (1978)

Different intermediate-sized filaments distinguished by immunofluorescence microscopy.
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 75(10): 5034-5038

Franke WW, Schmid E, Osborn M, Weber K (1979b)

Intermediate-sized filaments of human endothelial cells.
J. Cell Biol. 81(3): 570-580

Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR, Majno G (1972)

Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function.
J Exp Med. 135(4): 719-734

Gabbiani G, Schmid E, Winter S, Chaponnier C, de Ckhasonay C, Vandekerckhove J, Weber K, Franke WW (1981)

Vascular smooth muscle cells differ from other smooth muscle cells: predominance of vimentin filaments and a specific alpha-type actin.
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 78(1): 298-302

Gabius HJ (1997)

Animal Lectins.
Eur. J. Biochem. 243: 543-576

Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Siebert HC (2002)

The sugar code: functional lectinomics.
Biochim. Biophys. Acta. 1572: 165-177

Gabius HJ, Gabius S (1992)

Angewandte Lectinforschung.
BIUZ 22(6): 330-335

Gabius HJ, Rüdiger H, Uhlenbruck G (1988)

Lektine. Spektrum der Wissenschaft 11: 50-60

Gänshirt H (1949)

Bau und Funktion der menschl Nabelschnur.
Morph. Jb., 90: 59-70

Galmiche MC, Koteliansky VE, Briere J, Herve P, Charbord P (1993)

Stromal cells from human long-term marrow cultures are mesenchymal cells that differentiate following a vascular smooth muscle differentiation pathway.
Blood 82(1):66-76

Garcia-Porrero JA, Godin IE, Dieterlen-Lievre F (1995)

Potential intraembryonic hemogenic sites at pre-liver stages in the mouse.
Anat. Embryol. 192(5): 425-435

Gawronska B, Doboszynska T, Zezula-Szpyra A (1995)

Differentiation of lymphatics from blood vessels in the broad ligament of the swine using S100 protein immunohistochemical localization in the vascular endothelium.
Lymphology 28(2): 95-104

Gebrane-Younes J, Hoang NM, Orcel L (1986)

Ultrastructure of human umbilical vessels: a possible role in amniotic fluid formation?
Placenta 7(2): 173-185

Gheri G, Gheri Bryk S, Sgambati E, Gulisano M (1993)

Characterization of the glycoconjugate sugar residues in developing chick esophageal epithelium.
Histol. Histopathol. 8: 351-358

Ghezzi F, Raio L, Di Naro E, Franchi M, Balestreri D, D'Addario V (2001)

Nomogram of Wharton's jelly as depicted in the sonographic cross section of the umbilical cord.
Ultrasound Obstet. Gynecol. 18(2): 121-125

Gill RC, Bowes KL, Kingma YJ (1985)

Effects of progesterone on canine colonic smooth muscle.
Gastroenterology 88: 1941-1947

Glukhova MA, Shekhonin BV, Kruth H, Koteliansky VE (1991)

Expression of cytokeratin 8 in human aortic smooth muscle cells.
Am. J. Physiol. 261: 72-77

Goerttler K (1951)

Die Bedeutung der funktionellen Struktur der Gefäßwand.
Gegenbaurs Morphol Jahrb. 91, 368-393

Goetz KL (1988)

Physiology and pathophysiology of atrial peptides.
Am. J. Physiol. 254: 11-17

Gokhale SD, Gulati OD, Kelkar LV, Kelkar VV (1966)

Effect of some drugs on human umbilical artery in vitro.
Br. J. Pharmacol. 27: 332

Gu J, Pinheiro MB, Yu CZ, D'Andrea M, Muralidharan S, Malik A (1991)

Detection of endothelin-like immunoreactivity in epithelium and fibroblasts of the human umbilical cord.
Tissue and cell 23(4): 437-444

Gunasegaram R, Loganath A, Peh KL, Karim SM, Ratnam SS (1983)

Evidence for cleavage of [26-14 C]cholesterol side-chain by human foetal membranes in vitro.
Acta Endocrinol. 102(2): 288-291

Gunasegaram R, Peh KL, Loganath A, Chew PC, Ratnam SS (1991)

Human umbilical cord as a possible source of progesterone.
Biol. Neonate. 60(6): 367-370

Gunasegaram R, Peh KL, Loganath A, Chew PC, Shanmugaratnam S (1990)

Cholesterol side-chain cleavage activity in the human umbilical cord in vitro.
J. Perinat. Med. 18(6): 495-499

Haegerstrand A, Dalsgaard CJ, Jonzon B, Larsson O, Nilsson J (1990)

Calcitonin gene-related peptide stimulates proliferation of human endothelial cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 87(9): 3299-3303

Haegerstrand A, Hemsén A, Gillis C, Larsson O, Lundberg JM (1989)

Endothelin: presence in human umbilical vessels, high levels in fetal blood and potent constrictor effect.
Acta Physiol. Scand. 137(4): 541-542

Harris RB (2000)

Leptin-much more than a satiety signal.
Annu. Rev. 20: 45-75

Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, Hidaka H, Iguchi A (1995)

Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 214(3): 847-855

Hebenstreit E (1737)

Funiculi umbilicalis.
Pathologia. Lips.

Hees H und Sinowatz F (1992)

Hisologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie
2. Auflage. Hrsg. Hees H und Sinowatz F, Deutscher Ärzteverlag, Köln

Heierhorst J, Kobe B, Feil SC, Parker MW, Benian GM, Weiss KR, Kemp BE (1996)

Ca²⁺/S100 regulation of giant protein kinases.
Nature 380: 636-639

Hempel E (1972)

Ultrastructural differentiation of human amnion epithelium with special reference to the umbilical cord.
Anat. Anz. 132(3): 356-370

Hemsén A, Gillis C, Larsson O, Haegerstrand A, Lundberg JM (1991)

Characterization, localization and actions of endothelins in umbilical vessels and placenta of man.
Acta Physiol. Scand. 143(4): 395-404

Heuser CH, Rock J, Hertig AT (1945)

Two human embryos showing early stages of the definitive yolk sac.
Carnegie Inst. Wash. Publ. 557, Contrib. Embryol. 31: 85-99

Hillier K, Karim SM (1968)

Effects of prostaglandins E1, E2, F1-alpha, F2-alpha on isolated human umbilical and placental blood vessels.
J Obstet. Gynaecol. Br. Commonw. 75(6): 667-673

Hinrichsen KV (1990)

Humanembryologie. Lehrbuch und Atlas der vorgeburtlichen Entwicklung des Menschen.
Hrsg, Hinrichsen KV, Springer, Berlin

Hoboken W (1669)

Anatomia Secundinae.
Ribbium, Ultrjecti

Holthofer H (1983)

Lectin binding sites in kidney. A comparative study of 14 animal species.
J. Histochem. Cytochem. 31(4): 531-537

Holthofer H (1987)

Vascularization of the embryonic kidney. Detection of endothelial cells with *Ulex europaeus* I lectin.
Cell Differ. 20(1): 27-31

Hoyes AD (1969)

Ultrastructure of the epithelium of the human umbilical cord.
J. Anat. 105(1): 149-162

Hsu SM, Raine L, Fanger H (1981)

Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques.
J. Histochem. Cytochem. 29(4): 577-580

Hu J, Castets F, Guevara JL, Van Eldik LJ (1996)

S100 beta stimulates inducible nitric oxide synthase activity and mRNA levels in rat cortical astrocytes.
J. Biol. Chem. 271: 2543-2547

Hughes T (1966)

The role of the folds of Hoboken in the post-natal closure of the human umbilical vessels.
The Physiologist 9: 207

Hülsemann M (1971)

Innervation of the umbilical vessels.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 20: 137-150

Hyrtd T (1870)

Die Blutgefäße der menschlichen Nachgeburt.
Wien

Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD (1991)

Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes.
Physiol. Rev. 71(2): 481-539

Jacobson HN, Chapler FK (1967)

Intrinsic innervation of the human placenta.
Nature 214(83): 103-104

Janosco EO, Jona JZ, Belin RP (1977)

Congenital anomalies of the umbilicus.
Am. Surg. 43(3): 177-185

- Jauniaux E, De Munter C, Vanesse M, Wilkin P, Hustin J (1989a)**
Embryonic remnants of the umbilical cord: morphologic and clinical aspects.
Hum. Pathol. 20(5): 458-462
- Jauniaux E, Donner C, Simon P, Vanesse M, Hustin J, Rodesch F. (1989b)**
Pathologic aspects of the umbilical cord after percutaneous umbilical blood sampling.
Obstet. Gynecol. 73(2): 215-218
- Jensen I, Rinaldo CH, Berge LN, Seternes OM, Moenes U (1998)**
Human umbilical vein endothelial cells lack expression of the estrogen receptor.
Endothelium 61: 9-21
- Johansson B, Eriksson A, Thornell LE (1999)**
Intermediate filament proteins in developing human arteries.
Anat. Embryol. 199(3): 225-231
- Jones CJP, Jauniaux E, Campbell S (1993)**
Development and degeneration of the secondary human yolk sac.
Placenta 14: A32
- Jutte JJ, Geerdink HG, Baljet B (1977)**
The innervation of the umbilical cord of the rat. A histochemical study.
Acta Morphol. Neerl. Scand. 15(2): 135-141
- Kagawa H, Fujimoto S (1987)**
Electron microscopic and immunocytochemical analyses of Weibel-Palade bodies in the human umbilical vein during pregnancy.
Cell Tissue Res. 249(3): 557-563
- Kaiser JR, Cox BE, Roy TA, Rosenfeld CR (1998)**
Differential development of umbilical and systemic arteries. ANG II receptor subtype expression.
Am. J. Physiol. 274(3): R797-807
- Karnovsky A**
A formaldehyde-glutaraldehyd fixative of high osmolarity for use in electron microscopy.
Cell Biol. 27: 137
- Kasper M, Moll R, Stosiek P (1988)**
Distributions of intermediate filaments in human umbilical cord: Unusual triple expression of cytokeratins, vimentin and desmin.
Zool. Jb. Anat. 117: 227-233
- Khong TY, Lane EB, Robertson WB (1986)**
An immunocytochemical study of fetal cells at the maternal-placental interface using monoclonal antibodies to keratins, vimentin and desmin.
Cell Tissue Res. 246(1): 189-195
- King BF (1982)**
Cell surface specializations and intercellular junctions in human amniotic epithelium: an electron microscopic and freeze-fracture study.
Anat. Rec. 203(1): 73-82
- King BF (1985)**
Distribution and characterization of anionic sites in the basal lamina of developing human amniotic epithelium.
Anat. Rec. 212(1): 57-62
- Kobayashi K, Kubota T, Aso T (1998)**
Study on myofibroblast differentiation in the stromal cells of Wharton's jelly: expression and localization of alpha-smooth muscle actin.
Early Hum. Dev. 51(3): 223-233

Kohnen G, Castellucci M, Hsi BL, Yeh CJ, Kaufmann P (1995)

The monoclonal antibody GB 42 -a useful marker for the differentiation of myofibroblasts.
Cell Tissue Res. 281(2): 231-242

Kohnen G, Kertschanska S, Demir R, Kaufmann P (1996)

Placental villous stroma as a model system for myofibroblast differentiation.
Histochem Cell Biol. 105(6): 415-429

Kreutz W, Scheller W, Schippel G, Schutz W (1971)

Structure of the umbilical artery (distal stomach wall section) in premature and neonatal human embryos.
Z. Mikrosk. Anat. Forsch. 83(3): 413-422

Kritzenberger M, Wrobel KH. (2004)

Histochemical in situ identification of bovine embryonic blood cells reveals differences to the adult haematopoietic system and suggests a close relationship between haematopoietic stem cells and primordial germ cells.
Histochem. Cell Biol. 121(4): 273-89

Lachenmeyer L (1971)

Adrenergic Innervation of the umbilical vessels.
Z. Zellforschung 120: 120

Lane EB, Hogan BL, Kurkinen M, Garrels JI (1983)

Co-expression of vimentin and cytokeratins in parietal endoderm cells of early mouse embryo.
Nature 303: 701-704

Lazarides E (1980)

Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space.
Nature 283: 249-256

Leeson C, Leeson T (1965)

The fine structure of the rat umbilical cord at various times of gestation.
Anat. Rec. 151: 183-198

Lehninger AL (1994)

Prinzipien der Biochemie.
2. Auflage Spektrum, Akademischer Verlag, Berlin

Lewis BV (1968)

The response of isolated sheep and human umbilical arteries to oxygen and drugs.
J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw. 75(1): 87-91

Lis H, Sharon N (1986)

Lectins as molecules and as tools.
Annu Rev. Biochem. 55: 35-67

Loganath A, Gunasegaram R, Peh KL, Chow WP, Chew PC, Shanmugaratnam S (1992)

In vitro formation of testosterone via the delta 5-pathway in the human umbilical cord.
Steroids 57(4): 189-192

Loganath A, Gunasegaram R, Peh KI, Ratnam SS (1990)

A role for cholesterol synthesized de novo by human umbilical cord.
Malay J Reprod Health.;8: 92-96

Loris R (2002)

Principles of structures of animal and plant lectins.
Biochim. Biophys. Acta. 1572(2-3): 198-208

Lüscher TF, Vanhoutte PM (1990)

Endothelium derived relaxing factor.

In: The Endothelium: Modulator of cardiovascular function.

8. Auflage: Boca Raton, CRC Press: 23-41

Macara LM, Kingdom J, Kaufmann P (1993)

Control of the fetoplacental circulation.

Fetal and Maternal Medicine 5: 167-179

Majno G, Gabbiani G, Joris I, Ryan GB (1970)

Contraction of non-muscular cells: endothelium and fibroblasts.

Journal of Cell Biology 47: 127

Mak KK, Gude NM, Walters WA, Boura AL (1984)

Effects of vasoactive autacoids on the human umbilical-fetal placental vasculature.

Br. J. Obstet. Gynaecol. 91(2): 99-106

Mäkilä UM, Jouppila P, Kirkinen P, Viinikka L, Ylikorkala O (1983)

Relation between umbilical prostacyclin production and blood-flow in the fetus.

Lancet 1: 728-729

Malpas P (1964)

Length of the human umbilical cord at term.

Br. Med. J. 14: 673-674

Malpas P, Symonds EM (1966)

Observations on the structure of the human umbilical cord.

Surg. Gynecol. Obstet. 123(4): 746-750

Mayani H, Lansdorp PM (1998)

Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells.

Stem Cells 16(3): 153-165

McCoshen JA, Tulloch HV, Johnson KA (1989)

Umbilical cord is the major source of prostaglandin E2 in the gestational sac during term labor.

Am. J. Obstet. Gynecol. 160(4): 973-978

McKay DG, Roby CC, Hertig AT, Richardson MV (1955)

Studies of the function of early human trophoblast. II. Preliminary observations on certain chemical constituents of chorionic and early amniotic fluid.

Am. J. Obstet. Gynecol. 69(4): 735-741

McParland PC, Taylor DJ, Bell SC (2000)

Myofibroblast differentiation in the connective tissues of the amnion and chorion of term human fetal membranes-implications for fetal membrane rupture and labour.

Placenta 21(1): 44-53

McQueen J, Jardine A, Kingdom J, Templeton A, Whittle MJ, Connell JM (1990)

Interaction of angiotensin II and atrial natriuretic peptide in the human fetoplacental unit.

Am. J. Hypertens. 3(8): 641-644

Medvinsky AL, Samoylina NL, Muller AM, Dzierzak EA (1993)

An early pre-liver intraembryonic source of CFU-S in the developing mouse.

Nature 364(6432): 64-67

Meyer FA, Laver-Rudich Z, Tanenbaum R (1983)

Evidence for a mechanical coupling of glycoprotein microfibrils with collagen fibrils in Wharton's jelly.

Biochim. Biophys. Acta. 755(3): 376-387

Meyer WW, Rumpelt HJ, Yao AC, Lind J (1978)

Structure and closure mechanism of the human umbilical artery.

Eur J Pediatr. 19 128(4): 247-259

Miller VM, Vanhoutte P (1991)

Progesterone and modulation of endothelium-dependent responses in canine coronary arteries.
Am. J. Physiol. 261(4): R1022-1027

Minguell JJ, Conget P, Erices A (2000)

Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells.
Braz. J. Med. Biol. Res. 33(8): 881-887

Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM, Martin P, Davis D, Morales L, Helwig B, Beerenstrauch M, Abou-Easa K, Hildreth T, Troyer D (2003)

Matrix Cells from Wharton's Jelly Form Neurons and Glia.
Stem Cells 21(1): 50-60

Moore BW (1965)

A soluble protein characteristic of the nervous system.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 19(6): 739-744

Moore KL (1996)

Embryologie. Lehrbuch und Atlas der Entwicklungsgeschichte des Menschen.
4. Auflage. Hrsg, Moore KL, Schattauer, Stuttgart

Moore MA, Metcalf D (1970)

Ontogeny of the haemopoietic system: yolk sac origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo.
Br. J. Haematol. 18(3): 279-296

Moore T (1958)

Studies on connective tissue: IV. The mast cell and its relation to the ground substance polysaccharides of human umbilical cord.
Lab. invest. 7: 418-425

Moran A, Brown DM, Kim Y, Klein DJ (1991)

Effects of IGF-I and glucose on protein and proteoglycan synthesis by human fetal mesangial cells in culture.
Diabetes 40(10): 1346-1354

Mück AO, Guo Y, Seeger H, Korte K, Lippert TH (1992)

Production of prostacyclin in human umbilical cord blood vessels. Effect of natural and synthetic estrogen.
Zentralbl. Gynakol. 114(8): 414-419

Mugge A, Riedel M, Barton M, Kuhn M, Lichtlen PR (1993)

Endothelium independent relaxation of human coronary arteries by 17 beta-oestradiol in vitro.
Cardiovasc. Res. 27(11): 1939-1942

Mvumbi L, Mancini EA, Ulmer D, Shah AK (1996)

Glycogen levels in human term placental disks, umbilical cords, and membranes.
Pediatr. Pathol. Lab. Med. 6(4): 597-605

Myatt L, Brockman DE, Eis AL, Pollock JS (1993)

Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta.
Placenta 14(5): 487-495

Nadkarni B (1970)

Innervation of the human umbilical artery.
Amer. J. Obstet. Gynec. 15: 303-312

Naeye RL, Tafari N (1983)

Noninfectious disorders of the placenta, fetal membranes and umbilical cord.
In: Risk factors in pregnancy and disease of the fetus and newborn
Williams and Wilkins, Baltimore

Nair X, Dyer DC (1974)

Responses of guinea pig umbilical vasculature to vasoactive drugs.
Eur. J. Pharmacol. 27(3): 294-304

Nanaev AK, Kohnen G, Milova AP, Domogatsky SP, Kaufmann P (1997)

Stromal differentiation and architecture of the human umbilical cord.
Placenta 18(1): 53-64

Nanaev AK, Shirinsky VP, Birukov KG (1991)

Immunofluorescent study of heterogeneity in smooth muscle cells of human fetal vessels using antibodies to myosin, desmin and vimentin.
Cell Tissue Res. 266(3): 535-540

Nikolov SD, Schiebler TH (1973)

Fetal blood vessel system of the human full-term placenta.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 139(3): 333-50

Noden DM, De Lahunta A (1985)

The Embryology of Domestic Animals.
Williams und Wilkins, Baltimore

O'Rahilly R, Müller F (1987)

Developmental stage in human embryos.
Carnegie Inst. Wash. Publ 637

Oberhänsli-Weiss I, Heymann MA, Rudolph AM, Melmon KL (1972)

The pattern and mechanisms of response to oxygen by the ductus arteriosus and umbilical artery.
Pediatr. Res. 6(9): 693-700

Omar HA, Ramirez R, Gibson M (1995)

Properties of a progesterone induced relaxation in human placental arteries and veins.
J. of clinical Endocrinology and Metabolism 80: 370-373

Osterkamp-Baust U, Ammersen F, Heising S (1980)

Zur Ultrastruktur des Endothels der menschlichen Vena umbilicalis.
Anat. Anz. 149: 97

Overbach AM, Daniel SJ, Cassady G (1970)

The value of umbilical cord histology in the management of potential perinatal infection.
J. Pediatr. 76(1): 22-31

Owens GK (1995)

Regulation of differentiation of vascular smooth muscle cells.
Physiol. Rev. 75(3): 487-517

Palka J, Banikowski E, Jaworski S (2000)

An accumulation of IGF-I and IGF-binding proteins in human umbilical cord.
Mol Cell Biochem 206(1-2): 133-139

Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S (1987)

Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.
Nature 327: 524-526

Parry EW (1970)

Some electron microscope observations on the mesenchymal structures of full-term umbilical cord.
J. Anat. 107(3): 505-518

Parry EW, Abramovich DR (1972)

The ultrastructure of human umbilical vessel endothelium from early pregnancy to full term.
J. Anat. 111(1): 29-42

Patten BM, (1946)

Human Embryology.
The Blakiston Company, Philadelphia

Pennati G (2001)

Biomechanical properties of the human umbilical cord.
Biorheology 38(5-6): 355-366

Perrot-Applanat M, Deng M, Fernandez H, Lelaidier C, Meduri G, Bouchard P (1994)

Immunohistochemical localization of estradiol and progesterone receptors in human uterus throughout pregnancy: expression in endometrial blood vessels.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 78(1): 216-224

Pertschuk L (1990)

ERICA and PgRICA in the umbilical cord, endothelial cell culture and kidney.
In: Immunocytochemistry for steroid receptors.
Boca Raton, Florida: CRC Press

Pinto A, Sorrentino R, Sorrentino P, Guerritore T, Miranda L, Biondi A, Martinelli P (1991)

Endothelial-derived relaxing factor released by endothelial cells of human umbilical vessels and its impairment in pregnancy-induced hypertension.
Am. J. Obstet. Gynecol. 164(2): 507-513

Plentl AA (1961)

Transfer of water across the perfused umbilical cord.
Proc. Soc. Exp. Biol Med. 107: 622-626

Potter EL (1961)

Pathology of the Fetus and Infant.
Yearbook, Chicago

Priman J (1959)

A note on the anastomosis of the umbilical arteries.
Anat. Rec. 134: 1-5

Rao CV, Li X, Toth P, Lei ZM, Cook VD (1993)

Novel expression of functional human chorionic gonadotropin/luteinizing hormone receptor gene in human umbilical cords.
J Clin. Endocrinol. Metab. 77(6): 1706-1714

Rao MS, Mattson MP (2001)

Stem cells and aging: expanding the possibilities.
Mech. Ageing. Dev. 122(7): 713-734

Rath W, Osterhage G, Kuhn W, Grone HJ, Fuchs E (1993)

Visualization of ¹²⁵I-endothelin-1 binding sites in human placenta and umbilical vessels.
Gynecol. Obstet. Invest. 35(4): 209-213

Regauer S, Werner W, Virtanen F, Virtanen I (1985)

Intermediate filament cytoskeleton of amnion epithelium and cultured amnion epithelial cells: expression of epidermal cytokeratins in cells of a simple epithelium.
The journal of cell biology 100: 997-1009

Reilly RD, Russell PT (1977)

Neurohistochemical evidence supporting an absence of adrenergic and cholinergic innervation in the human placenta and umbilical cord.
Anat. Rec. 188(3): 277-286

Reuss ML, Rudolph AM, Heymann MA (1981)

Selective distribution of microspheres injected into the umbilical veins and inferior venae cavae of fetal sheep.
Am. J. Obstet. Gynecol. 141(4): 427-432

Reynolds ES (1963)

The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol. 17: 208-212

Reynolds SRM (1952)

The proportion of Wharton's Jelly in the umbilical cord in relation to distention of the umbilical arteries and vein, with observations on the folds of Hoboken.
Anat. Rec. 113: 365-77

Rivera J, Cano A (1989)

Estrogen and progesterone receptors in human term placenta. Measurement by binding assays and immunological methods.
Placenta 10(6): 579-588

Roach MR 1987

The umbilical vessels.
In: Perinatal Medicine- the basic science underlying clinical practice.
Williams und Wilkins, Baltimore

Roach N (1973)

A biophysical look at the relationship of structure and function in the umbilical artery.
In: Foetal and Neonatal Physiology.
Proceedings of the Sir John Barcroft Centenary Symposium. Cambridge University Press

Röckelein G, Scharl A (1988)

Scanning electron microscopic investigations of the human umbilical artery intima. A new conception on postnatal arterial closure mechanism.
Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol. 413(6): 555-561

Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN (2003)

Searching for Alternative Sources of Postnatal Human Mesenchymal Stem Cells: Candidate MSC-Like Cells from Umbilical Cord.
Stem Cells 21(1): 105-110

Romeis B (1989)

Mikroskopische Technik.
17. Aufl., Hrsg, Böck P, Urban und Schwarzenberger, München

Rüdiger H, Gabius HJ (2001)

Plant lectins: occurrence, biochemistry, functions and applications.
Glycoconj. J. 18(8): 589-613

Rudolph AM (1985)

Distribution and regulation of blood flow in the fetal and neonatal lamb.
Circ. Res. 57(6): 811-821

Rudolph AM, Heymann MA (1970)

Circulatory changes during growth in the fetal lamb.
Circ. Res. 26(3): 289-299

Rüsse I, Sinowatz F (1991)

Lehrbuch der Embryologie der Haustiere.
Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg.

Rüsse I, Sinowatz F, Richter L, Lehmann M, Schallenberger E. (1992)

Die Entwicklung des Dottersacks bei Wiederkäuern (Schaf und Rind).
Anat Histol Embryol. 21: 324-47

Salas SP, Power RF, Singleton A, Wharton J, Polak JM, Brown J (1991)

Heterogeneous binding sites for alpha-atrial natriuretic peptide in human umbilical cord and placenta.
Am. J. Physiol. 261(3): R633-638

Sappino AP, Schürch W, Gabbiani G (1990)

Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as markers of phenotypic modulations.

Lab. Invest. 63(2): 144-161

Sara VR, Hall K (1990)

Insulin-like growth factors and their binding proteins.

Physiol Rev. 70(3): 591-614

Scharl A (1986)

New knowledge concerning "Hoboken's valves" of the umbilical artery.

Z. Geburtshilfe Perinatol. 190(6): 266-274

Schmidt E, Osborn M, Rungger-Brändle E, Gabbiani G, Weber K, Franke WW (1982)

Distribution of vimentin and desmin filaments in smooth muscle tissues of mammalian and avian aorta.

Exp. Cell. Res. 137: 329

Schoenberg MD, Moore RD (1958)

Studies on connective tissue. III Enzymatic studies on the formation and nature of the carbohydrate intermediate of the connective tissue polysaccharides in the human umbilical cord.

AMA arch. Pathol. 65: 115-124

Schoenberg MD, Hinman A, Moore RD (1960)

Studies on connective tissue. V Fiber formation in Wharton's jelly.

Lab. Invest. 3: 351-355

Schürch W, Seemayer TA, Lagace R, Gabbiani G (1984)

The intermediate filament cytoskeleton of myofibroblasts: an immunofluorescence and ultrastructural study.

Virchows Arch. A Pathol Anat Histopathol. 403(4): 323-336

Schürch W, Skalli O, Seer TA, Gabbiani G (1987)

Intermediate filament proteins and actin isoforms as markers for soft tissue tumor differentiation and origin. I. Smooth muscle tumors.

Am. J. Pathol. 128(1): 91-103

Senior HD (1925)

An interpretation of the recorded arterial anomalies of the human pelvis and thigh.

Am. J. of anat. 36: 1-46

Sepulveda W (1999)

Time for a more detailed prenatal examination of the umbilical cord?

Ultrasound Obstet. Gynecol. 13(3): 157-160

Sexton AJ, Turmaine M, Cai WQ, Burnstock G (1996)

A study of the ultrastructure of developing human umbilical vessels.

J. Anat. 188: 75-85

Sgambati E, Biagiotti R, Marini M, Brizzi E (2002)

Lectin histochemistry in the human placenta of pregnancies complicated by intrauterine growth retardation based on absent or reversed diastolic flow.

Placenta 23(6): 503-515

Sgambati E, Brizzi E, Marini M, Gheri Bryk S, Gheri G (2003)

Lectin binding in the human umbilical cord from normally grown pregnancies and from pregnancies complicated by intra-uterine growth retardation with absent or reversed diastolic flow.

Biol. Neonate 84(2): 119-134

Sharon N, Lis H (2004)

History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules.

Glycobiology 14(11): 53R-62R

Shepard JT (1968)

Bayliss reponse in the umbilical artery.
Fed. Proc. 27: 1408-1409

Sheppard BL, Bishop AJ (1973)

Electron microscopical observations on sheep umbilical vessels.
Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci. 58(1): 39-45

Shordania J (1929)

Über das Gefäßsystem der Nabelschnur.
Z. Ges. Anat. 89: 696-726

Siegel RJ, Villa LC, Fishbein MC (1987)

Immunohistochemical localization of 6-keto-prostaglandin F1 alpha and prostaglandin E2 in the human umbilical cord before and after labor.
Lab. Invest. 56(5): 550-553

Silva de Sa MF, Meirelles RS (1977)

Vasodilating effect of estrogen on the human umbilical artery.
Gynecol. Invest. 8(5-6): 307-313

Sinha AA (1971)

Ultrastructure of human amnion and amniotic plaques of normal pregnancy.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 122(1): 1-14

Sinha AA, Seal US, Erickson AW (1970)

Ultrastructure of the amnion and amniotic plaques of the white-tailed deer.
Am. J. Anat. 127(4): 369-396

Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzonana G, Gillissen D, Gabbiani G (1986)

A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation.
J. Cell Biol. 103(6): 2787-2796

Slomp J, Gittenberger-de Groot AC, Koteliensky VE, Glukhova MA, Bogers AJ, Poelmann RE (1997)

Cytokeratin expression in human arteries pertinent to intimal thickening formation in the ductus arteriosus.
Differentiation 61(5): 305-311

Sloper KS, Brown RS, Baum JD (1979)

The water content of the human umbilical cord.
Early Hum. Dev. 3(2): 205-210

Sobolewski K, Bankowski E, Chyczewski L, Jaworski S (1997)

Collagen and glycosaminoglycans of Wharton's jelly.
Biol. Neonate 71(1): 11-21

Somlyo AV, Woo CJ, Somlyo AP (1965)

Responses of nerve-free vessels to vasoactive amines and polypeptides.
Amer. J. Physiol. 208: 748-753

Spangrude GJ, Smith L, Uchida N, Ikuta K, Heimfeld S, Friedman J, Weissman IL (1991)

Mouse hematopoietic stem cells.
Blood 78(6): 1395-1402

Spivack M (1943)

The presence or absence of nerves in the umbilical blood vessels of man and guinea pig.
Anat.Rec. 85: 85-109

Spivack M (1946)

Anatomic peculiarities of the human umbilical cord and their clinical significance.
Amer. J. Obstet. Gynecol. 52: 387-401

Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Manson JE, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH (1991)
Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease. Ten-year follow-up from the nurses' health study.
N. Engl. J. Med. 325(11): 756-762

Starck D (1975)
Embryologie.
3. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Stein FJ, Martin JE (1985)
Single umbilical artery and other congenital defects in a calf.
Anat. Anz. 159(1-5): 369-372

Steinert PM, Jones JC, Goldman RD (1984)
Intermediate filaments.
J. Cell Biol. 99: 22-27

Steven DH (1968)
Placental vessels of the foetal lamb.
J. Anat. 103(3): 539-551

Stewart J, Bebington CR, Mukhtar DD (2000)
Lectin binding characteristics of mouse placental cells.
J. Anat. 196: 371-378

Stieve H, Strube J (1933)
Über die Entwicklung des Dottersackkreislaufes beim Menschen.
Ztschr. Mikroskop. Anat. Forsch. 32: 107-175

Stillmark H (1888)
Über Ricin, ein giftiges Ferment aus dem Samen von Ricinus communis L. und einigen anderen Euphorbiaceen.
Diss., Dorpat.

Strong TH (1997)
Factors that provide optimal umbilical protection during gestation.
Contemp. Obstet. Gynecol. 42: 82-105

Strong TH, Elliott JP, Radin TG (1993)
Non-coiled umbilical blood vessels: a new marker for the fetus at risk.
Obstet. Gynecol. 81(3): 409-411

Strong TH, Jarles DL, Vega JS, Feldman DB (1994)
The umbilical coiling index.
Am. J. Obstet. Gynecol. 170: 29-32

Takagi T, Toda T, Leszczynski D, Kummerow F (1984)
Ultrastructure of aging human umbilical artery and vein.
Acta Anat. 119(2): 73-79

Takechi K, Kuwabara Y, Mizuno M. (1993)
Ultrastructural and immunohistochemical studies of Wharton's jelly umbilical cord cells.
Placenta 14(2): 235-245

Tavian M, Hallais MF, Peault B (1999)
Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo.
Development 126 (4): 793-803

Templeton AG, Kingdom JC, Whittle MJ, McGrath JC (1993)
Contractile responses of the human umbilical artery from pregnancies complicated by intrauterine growth retardation.
Placenta 14: 563-570

Ten Berge B (1963)

Nerve elements in the placenta and umbilical cord.
Gynaecologia 156: 49-53

Terragno NA, Terragno A, McGiff JC (1980)

Role of prostaglandins in blood vessels.
Semin. Perinatol. 4(2): 85-90

Thomas CE (1965)

The ultrastructure of human amnion epithelium.
J. Ultrastruct. Res. 13(1): 65-83

Tiedemann K (1972)

Fine structure of the epithelia of the amnion, umbilical cord and skin in fetal sheep of different stages.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 125(2): 252-276

Tiedemann K (1979a)

The allantoic and amniotic epithelia of the pig: SEM and TEM studies.
Anat. Embryol. 156(1): 53-72

Tiedemann K (1979b)

The amniotic, allantoic and yolk sac epithelia of the cat: SEM and TEM studies.
Anat. Embryol. 158: 75-94

Tiedemann K (1982)

The bovine allantoic and amniotic epithelia. SEM and TEM studies.
Anat. Embryol. 163(4): 403-416

Toole BP (1982)

Developmental role of hyaluronate.
Connect. Tissue Res. 10(1): 93-100

Toth P, Rao CV (1992)

Direct novel regulation of cyclooxygenase and prostacyclin synthase by hCG in human amnion.
Placenta 13: A63

Tulenko TN (1979)

Regional sensitivity to vasoactive polypeptides in the human umbilicoplacental vasculature.
Am. J. Obstet. Gynecol. 135(5): 629-636

Tulenko TN (1981)

The actions of prostaglandins and cyclo-oxygenase inhibition on the resistance vessels supplying the human fetal placenta.
Prostaglandins 21(6): 1033-1043

Tuori A, Virtanen I, Uusitalo H (1994)

Lectin binding in the anterior segment of the bovine eye.
Histochem. J. 26: 787-798

Tuvemo T (1980)

Role of prostaglandins, prostacyclin, and thromboxanes in the control of the umbilical-placental circulation.
Semin. Perinatol. 4(2): 91-95

Tuvemo T, Wide L (1973)

Prostaglandin release from the human umbilical artery in vitro.
Prostaglandins 4(5): 689-694

Tuvemo T, Strandberg K, Hamberg M, Samuelsson B (1976)

Maintenance of the tone of the human umbilical artery by prostaglandin and thromboxane formation.
Adv. Prostaglandin Thromboxane Res. 1: 425-428

Van de Voorde J, Vanderstichele H, Leusen I (1987)

Release of endothelium-derived relaxing factor from human umbilical vessels.
Circ. Res. 60(4): 517-522

Van Muijen GN, Ruiter DJ, Warnaar SO (1987)

Coexpression of intermediate filament polypeptides in human fetal and adult tissues.
Lab. Invest. 57(4): 359-369

Vandekerckhove J, Weber K (1981)

Actin typing on total cellular extracts: a highly sensitive protein-chemical procedure able to distinguish different actins.
Eur. J. Biochem. 113(3): 595-603

Vandekerckhove J, Weber K (1978)

At least six different actins are expressed in a higher mammal: an analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide.
J. Mol. Biol. 25 126(4): 783-802

Vázquez F, Rodriguez-Manzanares JC, Lydon JP, Edwards DP, O'Malley BW, Iruela-Arispe ML (1999)

Progesterone regulates proliferation of endothelial cells.
J. Biol. Chem. 274(4): 2185-2192

Vizza E, Correr S, Goraa V, Heyn R, Angelucci PA, Forleo R, Motta PM (1996)

The collagen skeleton of the human umbilical cord at term. A scanning electron microscopy study after 2N-NaOH maceration.
Reprod. Fertil. Dev. 8(5): 885-894

Vizza E, Correr S, Goraa V, Heyn R, Muglia U, Papagianni V (1995)

The collagen fibrils arrangement in the Wharton's jelly of full-term human umbilical cord.
Ital. J. Anat. Embryol. 100 (Suppl 1): 495-501

von Euler US (1938)

Action of adrenalin, acetylcholin and other substances on nerve-free vessels (human placenta).
J. Physiol. 93: 129-143

von Hayek (1935)

Der funktionelle Bau der Nabelarterien und des Ductus Botalli.
Z. anat. Entwicklungsgesch. 105: 15

Wagner RC (1981)

Endothelial vesicles.
Microvascular research 21: 267-298

Walker DW, MacLean JR (1971)

Absence of adrenergic nerves in human placenta.
Nature 229: 344-345

Wang JD, Fu Y, Shi WL, Zhu PD, Cheng J, Qiao GM, Wang YQ, Greene GL (1992)

Immunohistochemical localization of progesterone receptor in human decidua of early pregnancy.
Hum. Reprod. 7(1): 123-127

Wasowicz G, Derecka K, Stepień A, Pelliniemi L, Doboszynska T, Gawronska B, Ziecik AJ (1999)

Evidence for the presence of luteinizing hormone-chorionic gonadotrophin receptors in the pig umbilical cord.
J. Reprod. Fertil. 117(1): 1-9

Wenworth P (1965)

Some anomalies of the foetal vessels of the human placenta.
J. Anat. 99: 273-282

Weser H, Kaufmann P (1978)

Lightmicroscopical and histochemical studies on the chorionic plate of the mature human placenta.
Arch. Gynakol. 225(1): 15-30

Wharton T (1656)

Adenographia sive glandularum totius corporis descriptio.
London

White R (1989)

Pharmacodynamics study of maturation and closure of human umbilical arteries.
Am. J. Obstet. Gynecol. 160: 229-236

Whitwell KE (1975)

Morphology and pathology of the equine umbilical cord.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 23: 599-603

Wijnberger LD, Nikkels PG, van Dongen AJ, Noorlander CW, Mulder EJ, Schrama LH, Visser GH (2002)

Expression in the placenta of neuronal markers for perinatal brain damage.
Pediatr. Res. 51(4): 492-496

Wislocki GB, Bunting H, Dempsey EW (1947)

Metachromasia in mammalian tissues and its relationship to mucopolysaccharides.
Amer. J. Anat. Rec. 81: 1-37

Witschi E (1948)

Migration of the germ cells of human embryos from the yolk sac to the primitive gonadal folds.
Carnegie Inst. Wash. Publ. 575, Contrib. Embryol. 32: 67-80

Wrobel KH, Suss F (1998)

Identification and temporospatial distribution of bovine primordial germ cells prior to gonadal sexual differentiation.
Anat. Embryol. 197(6): 451-467

Wynn RM, French GL (1968)

Comparative ultrastructure of the mammalian amnion.
Obstet. Gynecol. 31(6): 759-774

Yamaguchi TP, Dumont DJ, Conlon RA, Breitman ML, Rossant J (1993)

flk-1, an flt-related receptor tyrosine kinase is an early marker for endothelial cell precursors.
Development 118(2): 489-498

Younes MA, Besch NF, Besch PK (1981)

Estradiol and progesterone binding in human term placental cytosol.
Am. J. Obstet. Gynecol. 141(2): 170-174

Young A (1972)

The primate umbilical cord with special reference to the transverse communicating artery.
J. of Hum. Evolution 1: 345-359

Young A, Bacsich P, Boyd H (1963)

Further observations on the arteries of the human, bovine and ovine umbilical cords, with special reference to the early development of the transverse communicating branch.
Journal of anatomy 97: 143

Zaitev ND (1959)

Development of neural elements in the umbilical cord.
Arkh. Anat. Gistol. Embriol. 37: 81-88

Zawisch C (1955)

Die Whartonsche Sulze und die Gefäße des Nabelstrangs.
Zeitschr. für Zellforschung, 42: 94

8.2. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen:

Makroskopische Bilder

Abb. 1	Nabelstrang nach Entfernung des AE, SSL 53 cm	S. 56
Abb. 2	Nabelstrang nach Entfernung der WS mit Überblick über den intraabdominalen Gefäßverlauf, SSL 53 cm	S. 56
Abb. 3	Spiralisierter Nabelgefäßverlauf, SSL 9 cm	S. 57
Abb. 4	Verbindung des Fetus mit der Plazenta über die Nabelschnur, SSL 15 cm	S. 58
Abb. 5	Anastomose zwischen den Nabelarterien, SSL 15 cm	S. 58

Lichtmikroskopische Bilder

Abb. 6	Übersicht über die Nabelschnur des Rindes, H.E., SSL 2,5 cm	S. 59
Abb. 7	Reste des Dottersackganges im Nabelzöлом, H.E., SSL 2,5 cm	S. 59
Abb. 8	Endothelzellen der Nabelgefäße, H.E., SSL 20 cm	S. 60
Abb. 9	„WS-Inseln“, H.E., SSL 65 cm	S. 63
Abb. 10	Amnionepithelwarze, H.E., SSL 15 cm	S. 64
Abb. 11	Verhornendes Amnionepithel, H.E., SSL 73 cm	S. 64
Abb. 12	Urachusepithel, H.E., SSL 53 cm	S. 65
Abb. 13	Amnionepithelwarze, PAS-Färbung, SSL 20 cm	S. 65
Abb. 14	Urachus, PAS-Färbung, SSL 31,5 cm	S. 66
Abb. 15	Nabelvene, PAS-Färbung, SSL 15 cm	S. 67
Abb. 16	Nabelgefäße, Elastika-Färbung nach Weigert, SSL 89 cm	S. 68
Abb. 17	WS in der Elastika-Färbung nach Weigert, SSL 89 cm	S. 69
Abb. 18	Übersicht über den bovinen Nabelstrang in der Alcianblau-Färbung, SSL 20 cm	S. 70
Abb. 19	Urachus, Alcianblau-Färbung, SSL 53 cm	S. 70
Abb. 20	Verteilung retikulärer Fasern in der WS, Versilberung nach Gomori, SSL 73 cm	S. 71
Abb. 21	Mastzelle in der WS, Toluidinblau-Färbung, SSL 89 cm	S. 71

Immunhistochemische Bilder

Abb. 22	Nabelvene, bPR, SSL 73 cm	S. 73
Abb. 23	Amnionepithel, bPR, SSL 42 cm	S. 73
Abb. 24	Übersicht über die bovine Nabelschnur, α SMA, SSL 2,5 cm	S. 74
Abb. 25	Muskelzellen der Nabelarterie und Nabelvene, α SMA, SSL 53 cm	S. 74
Abb. 26	„Zweischichtige“ Muskelwand der Nabelarterie, α SMA, SSL 53 cm	S. 75
Abb. 27	„Muskel sphinkter“ in der WS, α SMA, SSL 53 cm	S. 75
Abb. 28	Entwicklung der Urachusmuskulatur, α SMA, SSL 11 cm und 53 cm	S. 76
Abb. 29	Pan-CK-Expression in den Epithelzellen des Amnions und des Urachus, SSL 15 cm und 65 cm	S. 77
Abb. 30	Pan-CK-Expression in der WS und in der Gefäßwand einer Nabelarterie, SSL 2,5 cm	S. 78
Abb. 31	Pan-CK-Expression und α SMA-Expression in den Resten des Dottersackstiels, SSL 2,5 cm	S. 78
Abb. 32	Vimentin-Expression in den zentralen Muskelschichten einer Nabelarterie, SSL 53 cm	S. 79
Abb. 33	Übersicht über die Vimentin-Expression in einer Nabelarterie, SSL 53 cm	S. 79
Abb. 34	Vimentin-Expression in der WS im Bereich des Urachus, SSL 11 cm	S. 80
Abb. 35	Desmin-Expression in einer Nabelvene, SSL 11 cm	S. 81
Abb. 36	Desmin-positive Urachusmuskelzellen, SSL 42 cm	S. 81
Abb. 37	Endothelzellen der Nabelgefäße, S100, SSL 53 cm	S. 82
Abb. 38	WS-Gefäße, S100, SSL 89 cm	S. 82

Lektinhistochemische Bilder

Abb. 39	Bindungsmuster von Con A und WGA in den Nabelgefäßen, SSL 53 cm	S. 85
Abb. 40	Bindungsmuster von Con A und WGA im Amnion- und Urachusepithel sowie in der WS, SSL 53 cm	S. 85
Abb. 41	ECA: elastische Fasern in der Nabelvene, SSL 53 cm	S. 86
Abb. 42	GSA I: Endothelzellen einer Nabelarterie, SSL 11 cm	S. 86
Abb. 43	PNA: verhornendes Amnionepithel, SSL 89 cm	S. 87
Abb. 44	UEA I: Ausschnitt aus der Tunica media einer Nabelarterie, SSL 31,5 cm	S. 88
Abb. 45	Bindungsmuster von VVA in einer Nabelarterie und in der WS, SSL 65 cm	S. 88

Elektronenmikroskopische Bilder

Abb. 46	Endothelzellen einer Nabelvene mit Filopodien, SSL 3,4 cm	S. 92
Abb. 47	Endothelzellen einer Nabelvene, SSL 3,4 cm	S. 93
Abb. 48	Endothelzelle einer Nabelvene mit dilatiertem ER, SSL 89 cm	S. 93
Abb. 49	Endothelzelle einer Nabelarterie mit dilatiertem ER, SSL 89 cm	S. 94
Abb. 50	Endothelzellen der Nabelvene, SSL 53 cm	S. 94
Abb. 51	Lamina elastica interna in der Nabelvene, SSL 26 cm	S. 95
Abb. 52	Endothelzellen und Muskelzellen einer Nabelvene, SSL 3,4 cm	S. 95
Abb. 53	Glatte Gefäßmuskelzelle aus der Nabelvene, SSL 89 cm	S. 96
Abb. 54	Glatte Gefäßmuskelzelle aus der Nabelvene mit massiver Glykogeneinlagerung, SSL 15 cm	S. 96
Abb. 55	Ausschnitt aus einer Muskelzelle der Nabelvene mit Pinocytoseaktivität, SSL 53 cm	S. 97
Abb. 56	Gefäßmuskelzelle aus der Nabelvene mit dilatiertem ER, SSL 53 cm	S. 97
Abb. 57	Polygonale Gefäßmuskelzelle aus der Nabelvene, SSL 3,4 cm	S. 98
Abb. 58	Längliche WSZ, SSL 53 cm	S. 100
Abb. 59	WSZ mit stark dilatiertem ER, SSL 53 cm	S. 101
Abb. 60	WSZ, SSL 3,4 cm	S. 101
Abb. 61	Gruppe von WSZ aus dem subepithelialen Bereich unter dem Amnion, SSL 42 cm	S. 102
Abb. 62	Einzelne WSZ aus dem subepithelialen Bereich unter dem Amnion, SSL 53 cm	S. 102
Abb. 63	WSZ im Bereich des Urachus, SSL 3,4 cm	S. 103
Abb. 64	Ausschnitt aus einer WSZ im Bereich des Urachus, SSL 3,4 cm	S. 103
Abb. 65	Mastzelle, SSL 53 cm	S. 104
Abb. 66	Kleines Gefäß in der WS, SSL 42 cm	S. 104
Abb. 67	Einschichtiges und mehrschichtiges Amnionepithel, SSL 3,4 cm	S. 107
Abb. 68	Apikale und mittlere Zellschichten einer Amnionepithelwarze, SSL 53 cm	S. 107
Abb. 69	Filamentreiche Amnionepithelzelle mit Desmosomen, SSL 42cm	S. 108
Abb. 70	Filamentreiche Amnionepithelzellen mit verdickten Zytoplasmamembranen, SSL 42cm	S. 108
Abb. 71	Verhornendes Amnionepithel, SSL 89 cm	S. 109
Abb. 72	Urachusepithel, SSL 3,4 cm	S. 111
Abb. 73	Zweischichtiges Urachusepithel, SSL 53 cm	S. 112

Abb. 74	Mehrschichtiges Urachusepithel, SSL 65 cm	S. 113
Abb. 75	Einzelne Urachusepithelzelle, SSL 89 cm	S. 114

Tabellen:

Tab. 1	Übersicht über vasoaktiv wirkende Substanzen	S. 41
Tab. 2	Übersicht über die verwendeten Feten	S. 46
Tab. 3	Übersicht über die verwendeten Antikörper	S. 51
Tab. 4	Übersicht über die verwendeten Lektine	S. 54
Tab. A1	Übersicht über die Nabelschnurlänge zu verschiedenen Gestationszeitpunkten	S. 177
Tab. A2	Übersicht über die durchschnittliche Gefäßwanddicke und die durchschnittliche Anzahl der Mediaschichten	S. 178
Tab. A3	PAS-Färbung ohne Amylase	S. 179
Tab. A4	PAS-Färbung nach Amylase-Verdau	S. 180
Tab. A5	Alcianblau-Färbung , pH-Wert 2,5	S. 181
Tab. A6	Alcianblau-Färbung , pH-Wert 1,0	S. 182
Tab. A7	Immunhistochemischer Nachweis von bPR	S. 183
Tab. A8	Immunhistochemischer Nachweis von α - smooth-muscle-Aktin	S. 184
Tab. A9	Immunhistochemischer Nachweis von Pan-CK	S. 185
Tab. A10	Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin	S. 186
Tab. A11	Immunhistochemischer Nachweis von Desmin	S. 187
Tab. A12	Immunhistochemischer Nachweis von S100	S. 188
Tab. A13	Übersicht über die Bindungsstellen von Con A	S. 189
Tab. A14	Übersicht über die Bindungsstellen von WGA	S. 191
Tab. A15	Übersicht über die Bindungsstellen von ECA	S. 193
Tab. A16	Übersicht über die Bindungsstellen von GSA I	S. 195
Tab. A17	Übersicht über die Bindungsstellen von PNA	S. 197
Tab. A18	Übersicht über die Bindungsstellen von SBA	S. 199
Tab. A19	Übersicht über die Bindungsstellen von LTA	S. 201
Tab. A20	Übersicht über die Bindungsstellen von UEA I	S. 203
Tab. A21	Übersicht über die Bindungsstellen von VVA	S. 205

8.3. Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
AB	Alcianblau
Ach	Acetylcholin
AGM	Aorta-Gonaden-Mesonephros-Region
Ak	Antikörper
ANG II	Angiotensin II
ANP	atriales natriuretisches Peptid
ATP	Adenosintriphosphat
AT-Rezeptor	Angiotensin-Rezeptor
AVP	Arginin-Vasopressin
bER	boviner Östrogenrezeptor
bFGF	basic fibroblast growth factor
BK	Bradykinin
bPR	boviner Progesteronrezeptor
CGRP	Calcitonin gene-related peptide
CK	Cytokeratin
c-kit	CD 117, stem cell factor ligand
CO ₂	chemische Formel für Kohlendioxid
Con A	Canavalia ensiformes Agglutinin
CRL	Crown-Rump Length
DAB	3,3,-Diaminobenzidin
DAPI	4',6-Diamidino-2-Phenylindol
DBA	Dolichus biflorus-Agglutinin
ECA	Erythrina cristagalli Agglutinin
EZM	extrazelluläre Matrix
EDRF	endothelium-derived-relaxing factor
ER	Östrogenrezeptor
ET-1	Endothelin-1
FITC	Fluoreszeinisothiozyanat
GAG	Glykosaminoglykane
GSA I	Griffonia simplicifolia I Agglutinin

H.E.	Hämatoxylin-Eosin
H ₂ O	chemische Formel für Wasser
HA	Hyaluronsäure
hCG	humanes Chorion-Gonadotropin
HSC	hämatopoietische Stammzelle
HUVEC	human umbilical vein endothelial cells
IGF	insulin like growth factor
IZR	interzellulärer Raum
LH	luteinisierendes Hormon
LTA	Lotus tetragonolobus Agglutinin
MSC	mesenchymale Stammzelle
NA	(Nor)adrenalin
NOS	Nitric-Oxid-Synthase
NPY	Neuropeptid Y
O ₂	chemische Formel für Sauerstoff
PAS	Periodic Acid Schiff
PCR	Polymersae Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PG	Prostaglandin
PNA	Arachis hypogaea Agglutinin
PR	Progesteronrezeptor
rER	raues endoplasmatisches Retikulum
SBA	Glycine max Agglutinin
sER	glattes („smooth“) endoplasmatisches Retikulum
SP	Substanz P
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
SUA	single umbilical artery
Tx	Thromboxan
VIP	vasoaktives intestinales Polypeptid
V.	Vena
Vv.	Venae
VVA	Vicia villosa Agglutinin
WGA	Triticum vulgare Agglutinin
WJ	Wharton jelly
WS	Wharton Sulze

WSZ

Wharton Sulze-Zellen

9. ANHANG

9.1. Ergebnistabellen

Tabelle A1: Übersicht über die Nabelschnurlänge zu verschiedenen Gestationszeitpunkten

SSL in cm	Nabelschnurlänge in cm	Verhältnis Nabelschnurlänge zu Körperlänge in %
2,5	1	40
6,5	3	46,2
11	5	45,5
15	9	60
20	13	65
26	18	69,2
31,5	23	73
42	26	61,9
53	18	34
65	26	40
73	40	54,8
89	56	62,9
Durchschnittliches Verhältnis der Nabelschnurlänge zur Körperlänge in %		54,4

Tabelle A2: Übersicht über die durchschnittliche Gefäßwanddicke und die durchschnittliche Anzahl der Mediaschichten

SSL in cm	durchschnittliche Gefäßwanddicke in μm		durchschnittliche Anzahl der Mediaschichten	
	Nabelarterie	Nabelvene	Nabelarterie	Nabelvene
2,5	101 \pm 1	60 \pm 4	9 \pm 0	3 \pm 1
6,5	147 \pm 5	70 \pm 8	19 \pm 2	8 \pm 1
11	302 \pm 2	207 \pm 5	32 \pm 3	15 \pm 3
15	603 \pm 5	515 \pm 11	50 \pm 5	23 \pm 2
20	805 \pm 4	803 \pm 5	71 \pm 2	43 \pm 1
26	965 \pm 4	937 \pm 5	75 \pm 4	53 \pm 5
31,5	1703 \pm 5	1610 \pm 8	107 \pm 6	76 \pm 5
42	2293 \pm 5	2197 \pm 5	117 \pm 6	82 \pm 6
53	2298 \pm 2	2297 \pm 5	125 \pm 4	92 \pm 6
65	2595 \pm 4	2507 \pm 9	162 \pm 6	118 \pm 6
73	2803 \pm 5	2805 \pm 4	170 \pm 8	138 \pm 6
89	3107 \pm 5	3007 \pm 9	180 \pm 8	143 \pm 5

Tabelle A3: PAS ohne Amylase

SSL in cm	Gefäße (Nabelgefäße, WS-Gefäße)			Adventitia		WS		Urachus			Amnion	
	EZ	MZ	IZR	Zellen	Fasern	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgw.	MZ	einsch.	mehrsch.
2,5	-	+	- bis +	nv		+	+, s.e. ++	-	++	nv	+	++
6,5	-	++	+	++	+	+	+, s.e. ++	-	++	nv	+	+++
11	-	++	+	+	+	+	+, s.e. ++	-	++	nv	++	+++
15	-	+ bis +++	+	-	-	-	-	+++	-	nv	++	+++
20	-	++ bis +++	+	+	+	+	+, s.e. +++	Zm +++	++	++	+++	+++
26	-	+ bis +++	+	-	-	+	+, s.e. +++	+++	-	++	++	+++
31,5	-	+ bis +++	+	-	-	-	-	+++	-	+++	++	+++
42	-	- bis +	+	-	-	++	- bis + s.e. +	+++	-	+	++	+++; BZ -
53	-	+ bis ++	+	-	-	++	+, s.e. ++	Zm ++	-	++	++	+++; BZ -
65	-	++	+	-	-	++	+	+++	-	-	++	+++; BZ -
73	-	++ bis +++	+	-	-	+	++, s.e.+++	+++	+	+	++	+++; BZ -
89	-	+ bis +++	+	-	-	+	++, s.e. +++	++	+	++	+	+++; BZ -
Geb. V	-	+ bis +++	+	nv								

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, IZR=Interzellularraum, WS=Wharton Sulze, Bdgw.=WS im Bereich des Urachus, einsch.=einschichtig, mehrsch.=mehrschichtig, Geb.V.=geburtsreife Vene, BZ=Basalzellen, Zm=Zytoplasmamembran, nv=nicht vorhanden, s.e.=subepithelal unter dem Amnionepithel, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A4: PAS nach Amylase-Verdau

SSL in cm	Gefäße (Nabelgefäße, WS-Gefäße)			Adventitia		WS		Urachus			Amnion	
	EZ	MZ	IZR	Zellen	Fasern	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgw.	MZ	einsch.	mehrsch.
2,5	-	+	-	nv		+	+, s.e. ++	-	++	nv	-	-
6,5	-	+	- bis +	+	+	+	+, s.e. ++	-	++	nv	-	-
11	-	+	- bis +	+	+	+	+, s.e. ++	-	-	nv	-	-
15	-	-	- bis +	-	-	-	-	-	-	nv	-	-
20	-	+	- bis +	+	+	+	+, s.e. +++	-	-	+	-	-
26	-	-	- bis +	-	-	+	+, s.e. +++	-	-	-	-	-
31,5	-	-	- bis +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	-	- bis +	- bis +	-	-	+	-bis +, s.e.+	-	-	-	-	-
53	-	+	- bis +	-	-	+	+, s.e. ++	-	-	+	-	-
65	-	+	- bis +	-	-	+	+, s.e. ++	-	-	+	-	-
73	Artefakt											
89	-	+	- bis +	-	-	+	+, s.e. +++	-	+	+	-	-
Geb. V	-	+	- bis +	nv								

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, IZR=Interzellularraum, WS=Wharton Sulze, Bdgw.=WS im Bereich des Urachus, einsch. =einschichtig, mehrsch. =mehrschichtig, Geb.V.=geburtsreife Vene, nv=nicht vorhanden, s.e.=subepithelial unter dem Amnionepithel, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A5: Alcianblau-Färbung bei pH 2,5

SSL in cm	WS			IZR-Nabelgefäße
	zentral (um Gefäße)	peripher s.e. unter dem Amnionepithel	im Bereich des Urachus	
2,5	+++	+++	++	z +++ , p + bis ++
6,5	+++	+++	+++	z +++ , p + bis ++
11	+++	+++	+++	z +++ , p + bis ++
15	+++	+++	+	z +++ , p + bis ++
20	+++	+++	++	z +++ , p + bis ++
26	+++	+++	++	z +++ , p + bis ++
31,5	- bis +	++	+++	z +++ , p + bis ++
42	-	++	++	z +++ , p + bis ++
53	- bis +	++	+++	z +++ , p + bis ++
65	-, WS-Inseln +	++	++	z +++ , p + bis ++
73	-, WS-Inseln +	++	++	z +++ , p + bis ++
89	-, WS-Inseln +	++	+	z +++ , p + bis ++
Geb.V.	nv			z +++ , p + bis ++
Alle im Nabelstrang vorhandenen Zellen sind negativ				

WS=Wharton Sulze, s.e.=subepithelial, IZR=Interzellularraum, Geb.V.=Geburtsreife Vene, nv=nicht vorhanden, z=zentral, p=peripher, -=keine Reaktion, +=schwache Reaktion, ++=deutliche Reaktion, +++=starke Reaktion

Tabelle A6: Alcianblau-Färbung bei pH 1,0

SSL in cm	WS			IZR-Nabelgefäße
	zentral (um Gefäße)	peripher s.e. unter dem Amnionepithel	im Bereich des Urachus	
2,5	+ bis ++	++	++	z + bis ++, p – bis +
6,5	+ bis ++	++	+++	z + bis ++, p – bis +
11	+	+	+	z + bis ++, p – bis +
15	–	– bis +	– bis +	z + bis ++, p – bis +
20	– bis +	– bis +	+	z + bis ++, p – bis +
26	– bis +	++	+	z + bis ++, p – bis +
31,5	–	+	– bis +	z + bis ++, p – bis +
42	–	++	– bis +	z + bis ++, p – bis +
53	–	+	–	z +, p –
65	–, WS-Inseln +	++	– bis +	z + bis ++, p – bis +
73	–, WS-Inseln +	++	–	z + bis ++, p – bis +
89	–, WS-Inseln +	++, z.T. –	–	z + bis ++, p – bis +
Geb.V.	nv			–
Alle im Nabelstrang vorhandenen Zellen sind negativ				

WS=Wharton Sulze, s.e.=subepithelial, IZR=Interzellularraum, Geb. V.=Geburtsreife Vene, nv=nicht vorhanden, z=zentral, p=peripher, –=keine Reaktion, +=schwache Reaktion, ++=deutliche Reaktion, +++=starke Reaktion

Tabelle A7: Immunhistochemischer Nachweis des bovinen Progesteron-Rezeptors

SSL in cm	Gefäße (Nabelgefäße und WS-Gefäße)				WS	Urachus			Amnion		DS-Rest
	EZ Nabelgefäße	EZ WS-Gefäße	MZ	Adventz.		Epithel	Bdgwz.	MZ	einschichtig	mehrschichtig	
2,5	z.T. -, z.T. ++	z.T. -, z.T. ++	-	nv	-	-	-	nv	-, z.T. +	-	-
6,5	z.T. -, z.T. ++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	nv	-, z.T. +	-	-
11	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	nv	-	-	nv
15	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T.	-, BZ +	-
20	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. + bis ++	-, BZ +	nv
26	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. +	-, BZ +	nv
31,5	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-	-	nv
42	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. + bis +++	-, BZ +	nv
53	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. +	-, BZ +	nv
65	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. +	-, BZ +	nv
73	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. + bis ++	-, BZ +	nv
89	++ bis +++	z.T. -, z.T. ++	-	-	-	-	-	-	-, z.T. + bis ++	-, BZ +	nv

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, WS=Wharton Sulze, Adventz.=Adventitiazellen, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, z.T.=zum Teil, BZ=Basalzellen, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A8: Immunhistochemischer Nachweis von aSMA

SSL in cm	Gefäße (Nabelgefäße, WS-Gefäße)			WS-Zellen		Urachus			Amnion	DS-Rest
	EZ	MZ	Adventz.	zentral	s.e. peripher	Epithel	Bdgwz.	MZ		
2,5	-	+++	nv	-, ums Zölom z.T.++	-, nur ventral ++	-	-	nv	-	z +++, p -
6,5	-	+++	-	-	z.T. ++	-	-	nv	-	-
11	-	z ++, p +++	-, p zum Urachus ++	-	++	-	++	nv	-	nv
15	-	z ++, p +++	-, p zum Urachus ++	-	+++	-	+++	nv	-	nv
20	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	++ bis +++	-	nv
26	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
31,5	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
42	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
53	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
65	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-, z.T.+++	+++	-	nv
73	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
89	-	z ++, p +++	-	-	+++	-	-	+++	-	nv
Geb.V.	-	z ++, p +++	nv							

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Zellen der Adventitia, WS=Wharton Sulze, s.e.=subepithelial unter dem Amnionepithel, Bdgwz.=WSZ im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, Geb.V.=geburtsreife Vene, z=zentral, p=peripher, z.T.=zum Teil, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A9: Immunhistochemischer Nachweis von Pan-Cytokeratin

SSL in cm	Gefäße		Adventz.	WS-Zellen		Urachus			Amnion	DS-Rest
	EZ	MZ		zentral	peripher	Epithel	Bdgwz.	MZ		
2,5	-	z -, p ++	nv	+++ , z.T. -	+++ , z.T. -	+++	+++ , z.T. -	nv	+++	z -, p +++
6,5	-	-, p z.T. +	-, p z.T. ++	+++ , häufiger -	- und +++	+++	+++ , z.T. -	nv	+++	z -, p +++
11	-	-	-, p z.T. ++	+++ , häufiger -	- und +++	+++	-, z.T. ++	nv	+++	nv
15	-	-	-	- und +++	-, selten +++	+++	-, z.T. ++	-	+++	z -, p +++
20	-	-	-	-, ums Zölom +++	-	+++	-, z.T. ++	-	+++	nv
26	-	-	-	-, ums Zölom +++	-	+++	-, z.T. ++	-	+++	z -, p +++
31,5	-	-	-	-	-	+++	-, z.T. ++	-	+++	nv
42	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	nv
53	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	nv
65	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	nv
73	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	nv
89	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	nv

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, Bdgwz.=WSZ im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, z.T.=zum Teil, z=zentral, p=peripher, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A10: Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

SSL in cm	Nabelarterie			Nabelvene			WS-Gefäße	WS	Urachus		DS-Rest
	EZ	MZ	Advz.	EZ	MZ	Advz.			Bdgwz.	MZ	
2,5	++	+++, p ++	nv	+++	++	nv	EZ +++	-, z.T. ums Zölöm und s.e. ++	+++	nv	z ++, p -
6,5	++	+++	++	+++	++	nv	EZ +++	-, z.T. ums Zölöm und s.e. ++	++	nv	-
11	++	++	++	+++	++	+ bis ++	EZ +++	z -, p ++ bis +++	++	nv	nv
15	Artefakt										
20	++	z ++, p +	++	+++	z ++, p +	++	EZ +++, MZ ++	z -, p ++ bis +++	++	++	nv
26	++	z +++, p +	+++	+++	z ++, p +	+++	EZ +++, MZ ++	z -, z.T. ++, p ++ bis +++	++ bis +++	+++	-
31,5	++	z ++, p +	+++	+++	z ++, p +	+++	EZ +++, MZ ++	+++	+++	+++	nv
42	++	z ++, p -	+++	+++	z ++, p -	++	EZ +++, MZ +, p -	+++	+ bis ++	++	nv
53	++	z ++, p -	++	+++	z ++, p -	++	EZ +++, MZ +, p -	+++, z.T. -	-, z.T.+	-	nv
65	++	z ++, p -	++	+++	z ++, p -	++	EZ +++, MZ +, p -	+++	++ bis +++	-	nv
73	++	z ++, p -	+++	+++	z ++, p -	+++	EZ +++, MZ +, p -	+++	+++	-	nv
89	++	-	+++	+++	z ++, p -	+++	EZ +++, MZ - bis+	+++	++, z.T.-	-	nv
Urachusepithel und Amnionepithel immer negativ											

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Advz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WSZ im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, z.T.=zum Teil, s.e.=subepithelial unter dem Amnionepithel, z=zentral, p=peripher, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A11: Immunhistochemischer Nachweis von Desmin

SSL in cm	Nabelarterie			Nabelvene			WS-Gefäße	Urachus-MZ
	MZ zentral	MZ mitte	MZ peripher	MZ zentral	MZ mitte	MZ peripher		
2,5	-	-	-	-	-	-	-	nv
6,5	-	-	-	-	-	-	-	nv
11	-	-	++	-	++	++	-	nv
15	-	-	- bis +	-	++	++	-	-
20	-	-	++	-	+	+++	-	-, z.T. ++
26	-	-	++	-	+	+++	kl -, gr ++	++, z.T. -
31,5	-	-	+++	-	- bis ++	+++	kl -, gr ++	Artefakt
42	-	-	+++	-	- bis ++	+++	kl -, gr ++	+++
53	-	-	+++	- bis +	++	+++	kl -, gr +++	+++
65	++	-	+++	++	-	+++	kl -, gr +++	+++
73	-	-	++	+	-	+++	kl - bis +, gr ++	+ bis ++
89	-	-	+	- bis +	-	++	kl - bis +, gr ++	++
Andere Bestandteile der Nabelschnur negativ (Endothelzellen, Urachusepithel, Amnionepithel, WS, Adventitia, Dottersackreste)								

MZ=Muskelzellen, kl=kleines WS-Gefäß, gr=großes WS-Gefäß, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A12: Immunhistochemischer Nachweis von S100

SSL in cm	Nabelgefäße			WS-Gefäße		WS	Urachus			Amnion	DS-Rest
	EZ	MZ	Adventz.	EZ	MZ		Epithel	Bdgwz.	MZ		
2,5	A +, V -	-	nv	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	nv	-	-
6,5	A +, V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	nv	-	-
11	A ++, V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-, z.T. ++	nv	-	nv
15	A +++ , V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-, z.T. ++	+	-	-
20	A +++ , V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-, z.T. ++	+	-	-
26	A +++ , V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	++	-	nv
31,5	A +++ , V -	z -, m +, p -	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	++	-	nv
42	A +++ , V -	z -, m +, p -	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	++	-	nv
53	A +++ , V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	-	-	nv
65	A +++ , V -	-	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	++	-	nv
73	A +++ , V -	z -, m +, p -	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	++	-	nv
89	A +++ , V -	zA -, zV +, m +, p -	-	z.T. ++, z.T. -	-	-	-	-	-	-	nv

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, A=Nabelarterie, V=Nabelvene, z.T.=zum Teil, nv=nicht vorhanden, z=zentral, m=mitte, p=peripher, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A13: Übersicht über die Bindungsstellen von Con A im bovinen Nabelstrang

Con A	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS-Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	+	++	nv	+, z.T.-	+	++	nv	+, z.T.-	+	+
6,5	+	++	nv	+	++	++	++	+	++	+
11	++	+++	++	+ bis ++	- bis +	+++	++	+	+	++
15	+++	++	++	+	+	+++	++	+	++	++
20	++	++	++	+ bis ++	+	+++	++	+	+	++
26	+	++	+ bis ++	+	++	++	+	+, z.T.-	- bis +	++
31,5	+++	+++	++	+	++	+++	++	+	+	++
42	+	++ bis +++	++	+	+	++ bis +++	++	+	+	++
53	++	++ bis +++	++	+, z.T.-	++	++ bis +++	++	+, z.T.-	++	++
65	- bis ++	++	++	+	- bis ++	++	++	+	+	++
73	++	+++	++	+, z.T.-	++	+++	++	+, z.T.-	++	++
89	Artefakt									
Geb.V.	+++	++	++	+	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, z.T.=zum Teil, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A13: Übersicht über die Bindungsstellen von Con A im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

Con A SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	++	+, z.T.-	+++	+	nv	+, z.T.-	++	+
6,5	++	+	+++	+	nv	+	++	+
11	+++	+ bis ++	+++	++	nv	+	++	nv
15	+++	+	+++	++	+	+	+ bis +++	+
20	++	+	++	++	+	+	++	nv
26	++	+	++	++ bis +++	+	+ bis ++	++	+
31,5	+++	+	++	++	+	+	++	nv
42	+++	+	+++	++	++	+	++	nv
53	++ bis +++	+, z.T.-	++	++ bis +++	++	+, z.T.-	+ bis ++	nv
65	+++	+ bis ++	++	++ bis +++	++	+ bis ++	++	nv
73	++ bis +++	+, z.T.-	++	++	++	+, z.T.-	++	nv
89	Artefakt							

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, z.T.=zum Teil, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A14: Übersicht über die Bindungsstellen von WGA im bovinen Nabelstrang

WGA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ / Fasern
2,5	-	-	nv	+++	-	-	nv	+++	-	-
6,5	-	-	nv	++	-	-	-	+++	-	-
11	-	-	-	++	-	-	-	+++	-	-
15	-	-	+	++	-	-	++	++	-	-
20	Zm ++	-	+ bis ++	++	Zm +	-	- bis ++	++	Zm +	-
26	-	-	- bis +	++ bis+++	-	-	- bis ++	+ bis ++	-	-
31,5	-	-	- bis +	++	-	-	- bis +	++	-	-
42	Zm +	-	++	++ bis +++	Zm + bis+++	-, z.T. +	++	++ bis+++	-	MZ + / Fasern ++
53	Zm ++	+, z.T. -	++	++ bis +++	Zm +++	-, z.T. +	++	++ bis+++	Zm +	MZ + / Fasern ++
65	Zm ++	+ bis++	++	++ bis +++	-	+	++	++ bis +++	-	MZ + / Fasern ++
73	Zm +	+	- bis +	+++	Zm - bis ++	+	- bis +	++ bis +++	Zm +	MZ + / Fasern ++
89	Zm ++	+	+	+++	Zm +	+	++	++ bis +++	-	MZ + / Fasern ++
Geb.V.	Zm +	+	- bis +	+++	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, Zm=Zytoplasmamembran, nv=nicht vorhanden, z.T.=zum Teil, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A14: Übersicht über die Bindungsstellen von WGA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

WGA SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	–	+++	Zm ++	–	nv	+++	Zm ++	++
6,5	–	+++	Zm ++	–	nv	+++	Zm +	++
11	–	+++	Artefakt				Zm ++	nv
15	–	++ bis+++	Zm ++	++	–	++	Zm ++	–
20	–	+++	Zm ++	–, z.T.+	–	++	Zm ++	nv
26	–, s.e. +	++ bis +++	Zm ++	–	–	++	Zm ++	nv
31,5	–, s.e. +	++ bis+++	Zm ++	–	–	++	Zm ++	nv
42	–, s.e. +	++ bis+++	Zm ++	–	–	++ bis +++	Zm ++	nv
53	–, s.e. +	++ bis +++	Zm ++	–, z.T.+	+, z.T.–	++ bis +++	Zm ++	nv
65	–, s.e. +	+++	Zm ++	–	+, z.T.–	++	Zm ++	nv
73	–, s.e. +	++ bis +++	Zm ++	–, z.T.+	+, z.T.–	++ bis +++	Zm +	nv
89	–, s.e. +	+++	Zm ++	–	+, z.T.–	+++	Zm ++, verhornt –	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest =Reste des Dottersackstiels, s.e.=subepithelial unter dem Amnionepithel, z.T.=zum Teil, Zm=Zytoplasmamembran, nv=nicht vorhanden, – =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A15: Übersicht über die Bindungsstellen von ECA im bovinen Nabelstrang

ECA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	+ bis ++	-	nv	-	- bis +	-	nv	+ bis ++	-	-
6,5	Z +	Z +	nv	-	Z +	Z +	Z ++	-	-	-
11	Z +	Z +	Z +	-	Z +	Z +	Z +	-	-	-
15	Z ++	Z +	Z +	-	Z +	K ++, Z +	Z +	-	Z +	Z +
20	Z ++	-	-	++ (elast.)	Z +	-	-	++ (elast.)	Z +	-
26	Z +	Z +	-	++ (elast.)	Z +	z K +, p Z +	-	++ (elast.)	Z +	-
31,5	-	Z +	-	++ (elast.)	-	p Z +	-	++ (elast.)	Z +	-
42	-	Z +, K +	-	++ (elast.)	Z +	K und Z +	-	++ (elast.)	-	-
53	-	-	-	++ (elast.)	Z +	-	-	++ (elast.)	-	Z +
65	-	Z +	-	++ (elast.)	-	K und Z +	Z +	+ (elast.)	-	Z +
73	Z +	-	-	++ (elast.)	Z +	-	-	++ (elast.)	-	-
89	Z - bis +	-	-	++ (elast.)	Z +	-	-	++ (elast.)	-	Z +
Geb.V.	Z - bis +	-	-	++ (elast.)	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, K=Kern, Z=Zytoplasma, p=peripher, z=zentral, elast.=elastische Fasern, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A15: Übersicht über die Bindungsstellen von ECA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

ECA	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	SSL in cm	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ		
2,5	Z +	–	Zm ++	–	nv	–	Zm ++	+
6,5	Z ++	–	Z ++	Z +	nv	–	Z ++	+
11	Z+ bis ++	–	Artefakt				Z ++	nv
15	Z +	p –, z +	Zm ++	Z +	–	+	Z + bis +++	+
20	K +, Z +	p –, z +	Zm +	Z +	+	+	Z +++	nv
26	–	+	Zm ++	–	+	+	Zm ++	nv
31,5	–	–, z.T. +	Z +	K +	+	+	nv	nv
42	K +, Z +	+	Z +	–	+	+	Z ++	nv
53	–	++(auch elast.)	Z +	–	+	–	Z + bis ++	nv
65	K und Z +	++(auch elast.)	Z +	K und Z +	+	++	Z + bis ++	nv
73	Artefakt						Z – bis ++	nv
89	–	–, z.T. +	–	–	– bis +	– bis +	–	nv

WS=Wharton Sulze; Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, K=Kern, Z=Zytoplasma, Zm=Zytoplasmamembran, p=peripher, z=zentral, elast.=elastische Fasern, z.T.=zum Teil, nv=nicht vorhanden, – =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A16: Übersicht über die Bindungsstellen von GSA I im bovinen Nabelstrang

GSA I	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS-Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	++	-	nv	-	++	-	nv	-	++	-
6,5	++	-	nv	-	++	-	-	-	++	-
11	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
15	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
20	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
26	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
31,5	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
42	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
53	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
65	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
73	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
89	++	-	-	-	++	-	-	-	++	-
Geb.V.	++	-	-	-	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A16: Übersicht über die Bindungsstellen von GSA I im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

GSA I SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Reste
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
6,5	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	nv
15	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	nv
26	-	-	-	-	-	-	-	-
31,5	-	-	-	-	-	-	-	nv
42	-	-	-	-	-	-	-	nv
53	-	-	-	-	-	-	-	nv
65	-	-	-	-	-	-	-	nv
73	-	-	-	-	-	-	-	nv
89	-	-	-	-	-	-	-	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Reste=Reste des Dottersackstiels, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A17: Übersicht über die Bindungsstellen von PNA im bovinen Nabelstrang

PNA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	- bis +	Z - bis +	nv	- bis +	+ bis ++	Z - bis +	nv	- bis +	-	-
6,5	++	-	nv	-	++	Z + bis ++	-	-	-	-
11	-	z -, p K ++	K ++	z -, p ++	+++	K ++ bis +++	K ++ bis +++	+	-	-
15	++	z -, p K +	+	++	++ bis +++	Z + bis ++	Z + bis ++	- bis +	++	-
20	-	-	-	-	+	- bis +	-	-	+	-
26	++	-	-	++	+	K ++	-	++	++	+
31,5	+	-	-	+ bis ++	-	-	-	z ++, p +	++	- bis +
42	+	-	-	+ bis ++	-	K + bis ++	Z + bis ++	+ bis ++	++	-
53	-	-	-	-	-	-	-	-	z.T. ++	-
65	+	z -, p Z +	-	++	+	- bis +	-	++	+	-
73	- bis +	-	-	- bis +	-	-	-	z +, p -	++	-
89	+	-	-	+	-	-	-	-	++	-
Geb.V.	++ bis +++	-	-	+	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, K=Kern, Z=Zytoplasma, z=zentral, p=peripher, z.T.=zum Teil, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A17: Übersicht über die Bindungsstellen von PNA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

PNA SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	+	+	Zm ++	Z +	nv	+	++ bis +++	+
6,5	+ bis ++	-	Z ++ bis +++	Z +	nv	+	++ bis+++	++
11	++	+	K +	+	nv	+	++ bis +++	nv
15	K ++	++	Zm ++	+	-	+	++ bis +++	++
20	z -, p ++	z +, p -	- bis +	-	-	+	++ bis +++	nv
26	++	+++	Zm +++	-	-	+++	++	nv
31,5	-	+ bis ++	++ bis +++	-	-	+ bis ++	++	nv
42	K ++	++	Zm ++	-	-	+ bis ++	+++	nv
53	-	-	-	-	-	-	+++	nv
65	+ bis ++	++ bis +++	++	+	++	++	++	nv
73	-	-	Artefakt					nv
89	-	-	-	-	-	-	+++	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, K=Kern, Z=Zytoplasma, Zm=Zytoplasmamembran, z=zentral, p=peripher, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A18: Übersicht über die Bindungsstellen von SBA im bovinen Nabelstrang

SBA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	- bis +	-	nv	-	- bis +	-	nv	-	- bis +	-
6,5	- bis +	-	nv	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
11	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
15	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
20	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
26	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
31,5	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
42	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
53	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
65	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
73	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
89	- bis +	-	-	-	- bis +	-	-	-	- bis +	-
Geb.V.	- bis +	-	-	-	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A18: Übersicht über die Bindungsstellen von SBA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

SBA SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	-	-	-	-	-	-	-	-
6,5	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	nv
15	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	nv
26	-	-	-	-	-	-	-	-
31,5	-	-	-	-	-	-	-	nv
42	-	-	-	-	-	-	-	nv
53	-	-	-	-	-	-	-	nv
65	-	-	-	-	-	-	-	nv
73	-	-	-	-	-	-	-	nv
89	-	-	-	-	-	-	-	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus; DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A19: Übersicht über die Bindungsstellen von LTA im bovinen Nabelstrang

LTA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS-Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	–	–	nv	–	–	–	nv	–	–	–
6,5	–	Z +	nv	+	–	–	–	–	–	–
11	–	Z +	Z +	–	–	Z +	Z +	–	–	–
15	Z +	Z +	Z +	–	Z +	Z +	Z +	–	–	–
20	Z +	Z +	–	–	Z +	–	–	–	–	–
26	Z +	Z +	–	–	Z +	Z +	K +	–	–	–
31,5	Z – bis +	Z +	–	–	Z +	Z +	K – bis +	–	–	–
42	Z – bis +	Z +	–	–	Z – bis +	Z – bis +	K – bis +	–	–	–
53	Artefakt									
65	Z +	Z +	Z +	–	–	Z +	–	–	Z +	Z +
73	Z – bis +	–	–	–	Z – bis +	Z – bis +	Z – bis +	–	Z +	Z +
89	Z – bis +	z Z +, p –	–	–	Z +	Z – bis +	Z – bis +	Z – bis +	Z +	Z +
Geb.V.	–	–	–	–	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, WS=Wharton Sulze, Adventz.=Adventitiazellen, Geb.V.=geburtsreife Vene, Z=Zytoplasma, K=Kern, z=zentral, p=peripher, nv=nicht vorhanden, – =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A19: Übersicht über die Bindungsstellen von LTA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

LTA	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	SSL in cm	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ		
2,5	-	-	-	-	nv	-	Z +	-
6,5	Z +	+	Zm +	Z +	nv	+	Z +	- bis +
11	Z +	-	Z und K +	Z +	nv	-	Z +	nv
15	Z +	-	Artefakt				Z +	-
20	Z p +, z -	p -, z +	Z - bis +	-	Zm +	- bis +	Z +	nv
26	Z - bis +	-	Zm +	Z - bis +	Z - bis +	-	Z +	-
31,5	Z - bis +	-	Zm +	Z - bis +	Z - bis +	-	Z +	nv
42	-	-	-	-	Z +	-	Z +	nv
53	Artefakt							
65	Z +	-, z.T. +	-	Z - bis +	Z +	-	Z +	nv
73	-	+	-	-	-	+	Z +	nv
89	-	+	-	-	-	+	Z+, verhornt -	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest =Reste des Dottersackstiels, Z=Zytoplasma, K=Kern, Zm=Zytoplasmamembran, z=zentral, p=peripher, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A20: Übersicht über die Bindungsstellen von UEA I im bovinen Nabelstrang

UEA I	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	+	+	nv	-	+	+	nv	-	-	+
6,5	+	+	nv	-	+	+	+	-	-	+
11	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+
15	+	+	+	-	+	K +	+	-	-	+
20	+	K+	+	-	+	+	+	-	-	+
26	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
31,5	- bis +	K +	- bis +	-	- bis +	K +	- bis +	-	- bis +	- bis +
42	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
53	+	- bis +	+	-	+	- bis +	+	-	+	+
65	- bis +	- bis +	- bis +	-	- bis +	- bis +	- bis +	-	-	+
73	Artefakt									
89	- bis +	- bis +	- bis +	-	- bis +	- bis +	- bis +	-	-	+
Geb.V.	-	-	-	-	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, K=Kern, nv=nicht vorhanden, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A20: Übersicht über die Bindungsstellen von UEA I im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

UEA I SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	- bis +	-	Zm - bis +	- bis +	nv	-	Zm +	-
6,5	- bis +	-	Zm - bis +	- bis +	nv	-	Zm +	-
11	- bis +	-	Zm - bis +	- bis +	nv	-	Zm +	nv
15	+	-	Zm +	+	- bis +	-	Zm +	-
20	+	-	Zm +	+	- bis +	-	Zm +	nv
26	+	-	Zm +	+	- bis +	-	Zm +	-
31,5	+	-	Zm - bis +	-	- bis +	-	Zm +	nv
42	- bis +	-	Zm +	-	- bis +	-	Zm - bis +	nv
53	- bis +	-	Zm +	-	- bis +	-	Zm - bis +	nv
65	+	-	Zm +	-	- bis +	-	Zm +	nv
73	Artefakt							
89	+	-	Zm +	-	- bis +	-	Zm +	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, Zm=Zytoplasmamembran, - =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A21: Übersicht über die Bindungsstellen von VVA im bovinen Nabelstrang

VVA	Gefäße									
	Nabelvene				Nabelarterie				WS- Gefäße	
SSL in cm	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ	Adventz.	Fasern	EZ	MZ
2,5	–	K – bis +	nv	–	–	K – bis +	nv	–	–	K – bis +
6,5	–	K – bis +	nv	–	–	K – bis +	K – bis +	–	–	K – bis +
11	–	K ++	K ++	–	–	K ++	K ++	–	–	K – bis +
15	–	K +	K +	–	–	K +	K +	–	–	K – bis +
20	–	K – bis +	K – bis +	–	–	K – bis +	K – bis +	–	–	K – bis +
26	–	K ++	K ++	–	–	K ++	K ++	–	–	K ++
31,5	–	K +	K +	–	–	K ++	K ++	–	–	K +
42	–	K +	K +	–	–	K ++	K ++	–	–	K +
53	–	K – bis +	K – bis +	– bis +	–	K – bis +	K – bis +	– bis +	–	K – bis +
65	–	K ++	K ++	–	–	K ++	K ++	–	–	K ++
73	–	K +	K +	– bis +	–	K +	K +	–	–	K +
89	–	K +	K +	– bis +	–	K +	K +	–	–	K +
Geb.V.	–	K + bis ++	K +	–	nv					

EZ=Endothelzellen, MZ=Muskelzellen, Adventz.=Adventitiazellen, WS=Wharton Sulze, Geb.V.=geburtsreife Vene, K=Kern, nv=nicht vorhanden, – =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

Tabelle A21: Übersicht über die Bindungsstellen von VVA im bovinen Nabelstrang (Fortsetzung)

VVA SSL in cm	WS		Urachus				Amnion	DS-Rest
	Zellen	Fasern	Epithel	Bdgwz.	MZ	Fasern		
2,5	K – bis +	–	K – bis +	K – bis +	nv	–	K – bis +	+
6,5	K – bis +	–	K – bis +	K – bis +	nv	–	K – bis +	–
11	K ++	–	K ++	K ++	nv	–	Artefakt	nv
15	K +	–	K +	K +	K +	–	K +	–
20	K +	–	K +	K +	K +	–	K +	nv
26	K ++	–	K +	K ++	K ++	–	K ++	–
31,5	K ++	–	K ++	K +	K +	–	K ++	nv
42	K ++	–	K ++	K ++	K +	–	K ++	nv
53	K – bis +	– bis +	K – bis +	K – bis +	K – bis +	– bis +	K ++	nv
65	K ++	–	K +++	K ++	K ++	–	K +++	nv
73	K +	– bis +	K ++	K +	–	–	K ++	nv
89	K +	– bis +	K ++	K +	–	–	K ++	nv

WS=Wharton Sulze, Bdgwz.=WS-Zellen im Bereich des Urachus, DS-Rest=Reste des Dottersackstiels, K=Kern, nv=nicht vorhanden, – =keine Reaktion, + =schwache Reaktion, ++ =deutliche Reaktion, +++ =starke Reaktion

9.2. Rezepte

Lösungen für die Lichtmikroskopie

Bouin'sche Lösung

15 ml gesättigte Pikrinsäure¹

5 ml 35 %iges Formalin¹

1 ml Eisessig¹

Methanol-Eisessig-Lösung

Methanol und Eisessig im Verhältnis 2:1

Formalin

35%iges Formalin verdünnen im Verhältnis 1:10

PBS (Phosphate Buffered Saline), pH 7,4

NaCl¹ 42,50 g

Na₂HPO₄ 2H₂O¹ 6,35 g

NaH₂PO₄ H₂O¹ 1,95 g

Aqua dest. ad 5,00 l

pH auf 7,4 einstellen

TRIS-Puffer, pH 6,8

NaCl 43,90 g

TRIZMA-HCl² 34,25 g

TRIZMA-Base² 4,50 g

Aqua dest. ad 5,00 l

pH auf 6,8 einstellen

Zitratpuffer (10 mM, pH 6,0)

0,1 M Zitronensäure¹ 9 ml

0,1 M Natriumzitat¹ 4 ml

mit 450 ml Aqua dest. auffüllen und vermischen

DAB (3, 3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid)-Wasserstoffperoxid-Lösung

Lösung A

Aqua dest.	60 ml
DAB ⁶	6 Tabletten

Lösung B

Aqua dest.	5 ml
30% H ₂ O ₂ ¹	15 µl

Gebrauchslösung

Lösung A	60 ml
Lösung B	400 µl

gut mischen und filtrieren

Lösungen für die Elektronenmikroskopie**Fixierungslösung nach Karnovsky**

10% Paraformaldehyd-Lösung

Paraformaldehyd ¹	10 g
Aqua dest.	ad 100 ml
NaOH, 1 M ¹	bis zu 6 Tropfen

Karnovsky Stammlösung

Paraformaldehyd-Lösung, 10%	20 ml
Cacodylat-Puffer, 0,2 M	50 ml
Kalziumchlorid, wasserfrei ⁵	0,05g

Karnovskygebrauchslösung

Karnovsky Stammlösung	10 ml
Glutaraldehyd, 25% ⁴	1,37 ml

Propylenoxid

Propylenoxid¹

Kontrastierungslösung

Osmiumtetroxid-Lösung, 2%

Osmiumtetroxid, 4%ig³ 2 ml

Cacodylat-Puffer, 0,1 M 2 ml

Kaliumferrocyanid-Lösung, 3%

Kaliumferrocyanid² 0,3 g

Cacodylat-Puffer, 0,1 M ad 10 ml

Osmiumtetroxid (1%)-Kaliumferrocyanid (1,5%) in Cacodylat-Puffer, 0,1 M

Osmiumtetroxid-Lösung, 2% 4 ml

Kaliumferrocyanid-Lösung, 3% 4 ml

Cacodylat-Puffer

Lösung A

Cacodylat $\text{Na}(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ⁴ 8,56 g

Aqua dest. ad 200 ml

Lösung B

HCl 0,2 M¹

Cacodylat-Puffer 0,2 M, pH 7,2

Lösung A 50,0 ml

Lösung B 4,2 ml

Aqua dest. ad 100,0 ml

Cacodylat-Puffer 0,1 M, pH 7,2

Cacodylat-Puffer 0,2 M 50 ml

Aqua dest. 50 ml

EponPoly/bed 812³ 16 mlDDSA³ 10 mlNMA³ 9 mlDMP-30³ 0,3 – 0,5 ml

Bleicitrat-Lösung nach Reynolds

Natriumcitrat Stock

Natriumcitrat $\text{Na}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7) \times 2 \text{H}_2\text{O}$ ¹	35,7 g
Aqua dest	ad 100 ml

Bleinitrat Stock

Bleinitrat $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ¹	33,1 g
Aqua dest	ad 100 ml

Bleicitrat-Lösung

Aqua dest.	16 ml
Natriumcitrat Stock	3 ml
Bleinitrat Stock	2 ml
NaOH, 1 M ¹	4 ml
Aqua dest.	ad 100 ml

1 Merck, Darmstadt

2 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen

3 Polysciences Inc., Warrington, USA

4 Agar Scientific LTD, Essex, England

5 Serva, Heidelberg

6 Kem-En-Tec, Kobenhavn, Dänemark

10. DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie die stets gewährte Beratung und Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz sehr herzlich danken.

Ebenso bedanke ich mich vielfach bei allen Mitarbeitern des Institutes für Tieranatomie II, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben. Ein ganz besonderer Dank gilt Frau C. Neumüller für ihre bereitwillige und engagierte Hilfe bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen. Bei Frau G. Rußmeier, Frau C. Zahn und Herrn M. Kosarian möchte ich mich für die Einarbeitung in lichtmikroskopische, immun- und glykohistochemische Techniken bedanken. Herrn S. Baidl bin ich für seine große und prompte Hilfe bei allen den Computer betreffenden Fragen sehr dankbar.

Für Unterstützung bei der Probennahme danke ich den Mitarbeitern der Gynäkologischen Tierklinik der LMU sowie Herrn Hans Kelm.

Einen ganz besonderen Dank möchte ich meiner Mutter und meinem bereits verstorbenen Vater aussprechen, die mir die Ausbildung ermöglicht haben und mich während dieser Arbeit unterstützt haben.

Weiterhin möchte ich mich bei meiner Schwester Alexandra sowie bei Oli für Formatierungsarbeiten am Computer bedanken. Ein herzliches Dankeschön geht auch noch an Silvia für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

11. LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Hirle Yvonne
Geboren am: 04.03.1977
Geburtsort: München/Pasing
Eltern: Vater, Wilhelm Hirle, Studiendirektor, im Juli 2000 verstorben
Mutter, Ingeborg Hirle, geb. Rock
Geschwister: Alexandra Hirle

Schulbildung

Sept. 1983 - Juli 1987 Grundschule Grafrath
Sept. 1987 - Mai 1996 Viscardi-Gymnasium in Fürstenfeldbruck

Hochschulstudium

Nov. 1996 - Dez. 2001 Tiermedizinstudium an der LMU in München
18.12.2001 Staatsexamen
15.01.2002 Approbation

Promotionsstudium und berufliche Tätigkeit

Seit 15.04.2002 Wissenschaftliche Assistentin am Institut für Tieranatomie II der LMU München und Anfertigen der Dissertation