

## **4 Eigene Untersuchungen**

### **4.1 Charakterisierung zyklischer Angiogenese und vaskulärer Regression**

Die verschiedenen Stadien der Gelbkörperan- und Rückbildung wurden nach MODLICH (1997) anhand des größten Durchmessers der Querschnittsfläche in cm sowie der Farbe des Corpus luteum in folgende Stadien unterteilt: Stadium 1 (Corpus hämorrhagicum), Stadium 2 (Corpus rubrum), Stadium 3 (Corpus luteum in Blüte), Stadium 4 (früher Regressionsgelbkörper), Stadium 5 (später Regressionsgelbkörper), Stadium 6 (früher Residualgelbkörper) und Stadium 7 (später Residualgelbkörper). Mittels lichtmikroskopischer Untersuchung wurde die Zuordnung überprüft.

#### **4.1.1 Lichtmikroskopische Untersuchung des Corpus luteum**

In der Trichromfärbung nach Ladewig stellen sich Zellkerne dunkelbraun, Bindegewebe blau bis blauviolett, Erythrozyten hellorange und Fibrin leuchtend rot dar.

##### **4.1.1.1 Corpus hämorrhagicum**

Nach der Ovulation ist die Follikelhöhle mit seröser Flüssigkeit und Massen von Erythrozyten angefüllt. Das 0-3 Tage nach der Ovulation entstehende Corpus hämorrhagicum gliedert sich in drei Zonen (Abb. 7). Zone 1, das kreisrunde Zentrum des Corpus hämorrhagicum besteht aus Erythrozyten und Fibrin (Abb. 8). Die sich nach außen anschließende Zone 2 enthält hauptsächlich Erythrozyten, Bindegewebe und vereinzelt Makrophagen mit phagozytierten Blutbestandteilen (Abb. 9). Aus diesem Bereich ziehen Bindegewebsstränge in die Peripherie. Die als Zone 3 definierte Peripherie besteht aus Luteinzellen, Kapillaren und Arteriolen (Abb. 10). Arteriolen mit zwei bis vier Lagen glatter Muskelzellen verfügen über eine breite Adventitia. In unmittelbarer Gefäßnähe finden sich eosinophile Granulozyten.

##### **4.1.1.2 Corpus rubrum**

4-7 Tage nach der Ovulation wölbt sich das Corpus rubrum über die Oberfläche des Ovars (Abb. 11). Auf dem kuppelähnlichen proximalen Anteil liegen Fibrinschichten, die durch eine bindegewebige Kapsel vom umliegenden Ovargewebe abgegrenzt sind (Abb. 12 und 13). In dem sich anschließenden Bereich aus proliferierenden Granulosazellen und Bindegewebe sind

Fremdkörperriesenzellen mit Mikrovilli zu sehen (Abb. 12 und 14). Der zentrale Teil des Corpus rubrum enthält zahlreiche Makrophagen mit phagozytierten Blutbestandteilen (Abb. 12). In Gefäßnähe sind eosinophile Granulozyten zu sehen.

#### **4.1.1.3 Corpus luteum in Blüte**

Ausgehend von der umgebenden Bindegewebskapsel ziehen Bindegewebsstränge in Begleitung von größeren Gefäßen in das Gelbkörpergewebe. Das Corpus luteum in Blüte (Abb. 15) ist durch homogen gefärbte Luteinzellen mit einem euchromatischen Zellkern charakterisiert. Jede Luteinzelle ist von zwei bis vier Kapillaranschnitten umgeben. Vereinzelt sind apoptotische Luteinzellen und eosinophile Granulozyten zu sehen (Abb. 16).

#### **4.1.1.4 Früher Regressionsgelbkörper**

Der frühe Regressionsgelbkörper (Abb. 17) weist in regelmäßigen Abständen Bindegewebsstränge auf. Arterien verfügen über eine dickwandige Adventitia (Abb. 18). Die Luteinzellen unterscheiden sich in Form und Größe. Zahlreiche Luteinzellen sind vakuolisiert, wodurch der Zellkern an den Zellrand gedrängt wird. Vereinzelt treten apoptotische Luteinzellen, eosinophile Granulozyten und Makrophagen auf (Abb. 18).

#### **4.1.1.5 Später Regressionsgelbkörper**

Der späte Regressionsgelbkörper (Abb. 19) ist durch eine verdickte bindegewebige Kapsel sowie breite, in Richtung Zentrum ziehende Bindegewebsstränge gekennzeichnet (Abb. 20). Das Zentrum bilden Arterien mit breiter Adventitia. Das Bild ist ferner durch größere Blutgefäße und Arteriolen bestimmt (Abb. 20). Die noch verbliebenen Luteinzellen bestehen aus Zytoplasmaresten und spindelförmigen Zellkernen (Abb. 20).

#### **4.1.1.6 Früher Residualgelbkörper**

Durch Proliferation der umgebenden Bindegewebskapsel und der in das Gewebe ziehenden Bindegewebsstränge erhält der frühe Residualgelbkörper ein sternförmiges Aussehen. Er besteht aus kontrahierten Arteriolen, größeren Blutgefäßen sowie zahlreichen Fibrozyten und Makrophagen. Vereinzelt sind apoptotische Luteinzellen zu sehen (Abb. 22).

#### **4.1.1.7 Später Residualgelbkörper**

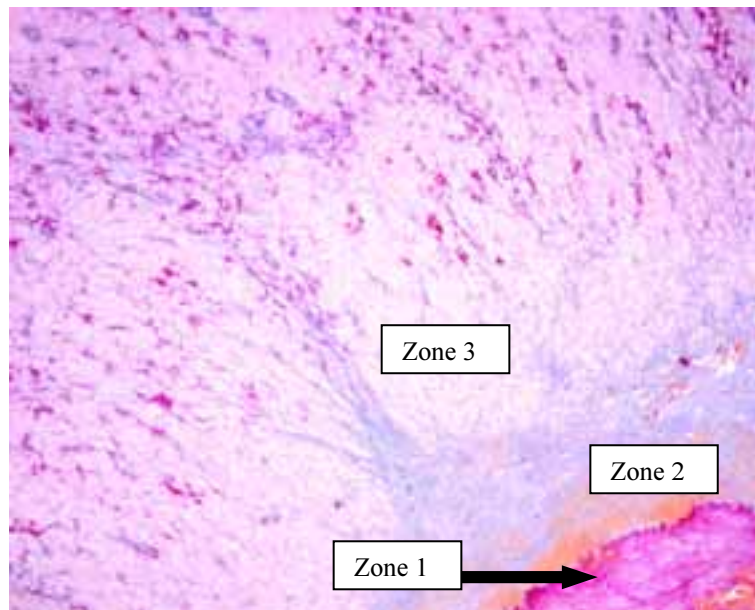
Arteriolen und Arterien mit bis zu 10 Lagen glatter Muskelzellen füllen nahezu die gesamte Querschnittsfläche des späten Residualgelbkörpers aus (Abb. 24). Jede Arterie ist von ca. 7-8 Arteriolen umgeben. Der Raum zwischen den Arteriolen wird von fischzugartig angeordnetem Bindegewebe mit spindelförmigen Zellkernen ausgefüllt.

#### **4.1.2 Lichtmikroskopische Untersuchung des Corpus albicans**

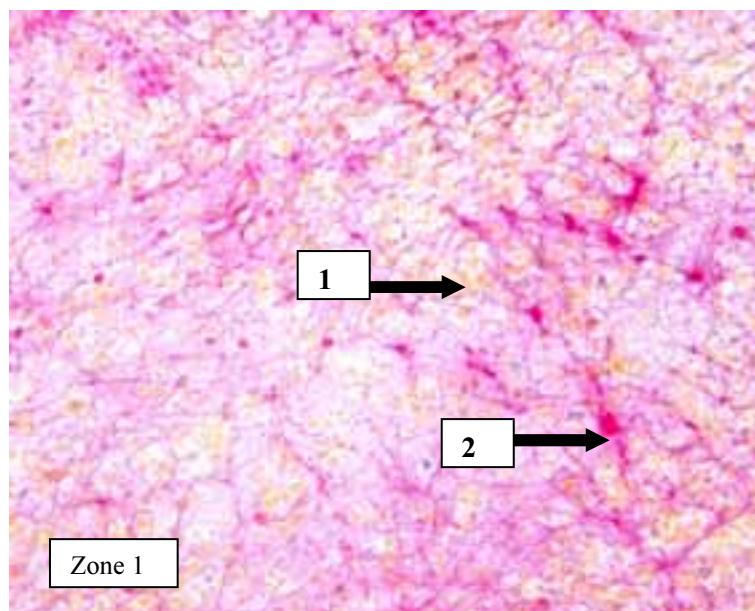
Der Durchmesser der Corpora albicantia reichte von 400-5000  $\mu\text{m}$ . Die frühen Stadien des Corpus albicans enthalten hauptsächlich größere arterioläre Gefäße mit dickwandiger Adventitia (Abb. 25).

Aus morphologischen Merkmalen wie einem unregelmäßig geformten Zellkern und schaumigem Zytoplasma ist abzuleiten, dass es sich bei den zwischen den arteriolären Gefäßen auftretenden Gewebekomponenten um Makrophagen handelt (Abb. 26). Das Corpus albicans (nach dem 30. Tag post ovulationem) gliedert sich in zwei Zonen, eine Innenzone und eine Außenzone (Abb. 27). Die Außenzone enthält radiär angeordnete dichte Bindegewebsstränge. Die Gefäßanzahl innerhalb dieser Zone nimmt von außen nach innen ab. Neben den zentripetal verlaufenden Blutgefäßen finden sich Fibrozyten und Fibroblasten (Abb. 27).

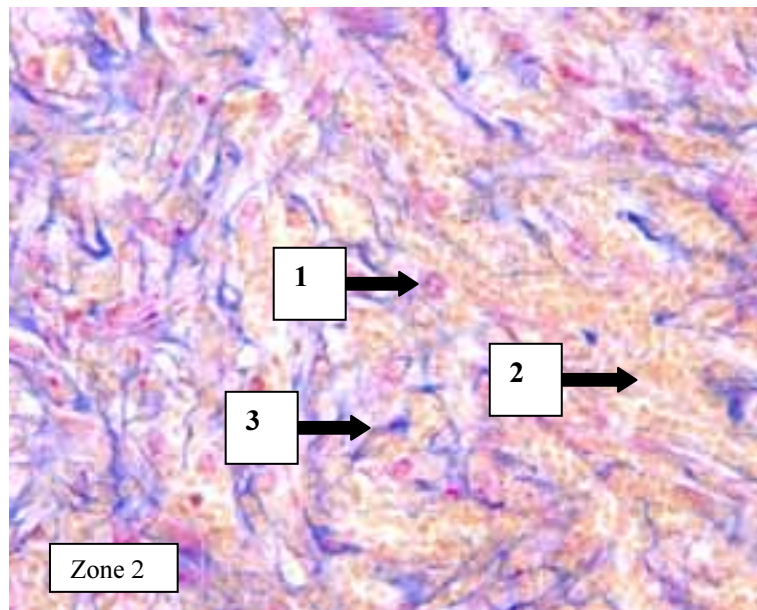
Ein lockeres Bindegewebsnetz mit Makrophagen, Lymphozyten, Granulozyten und Fibrozyten bildet die Innenzone (Abb. 27). Die radiär angeordneten Blutgefäße weisen keine glatten Muskelzellen auf und können somit als Kapillaren eingestuft werden.



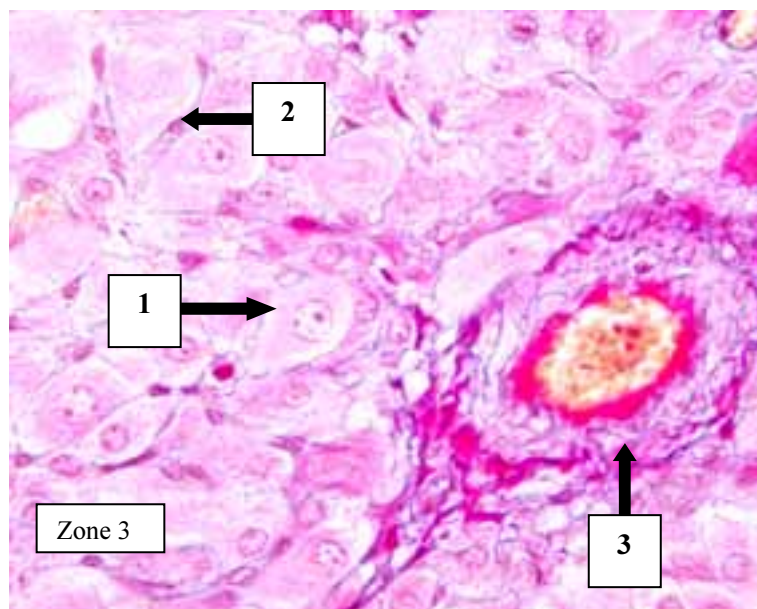
**Abb. 7:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus hämorrhagicum; Zone 1: Kreisrundes Zentrum bestehend aus Erythrozyten und Fibrin; Zone 2: Makrophagen mit phagozytierten Blutbestandteilen und Erythrozyten eingebettet in Bindegewebe; Zone 3: Von Kapillaren umgebene Luteinzellen; Vergrößerung 2,5 x



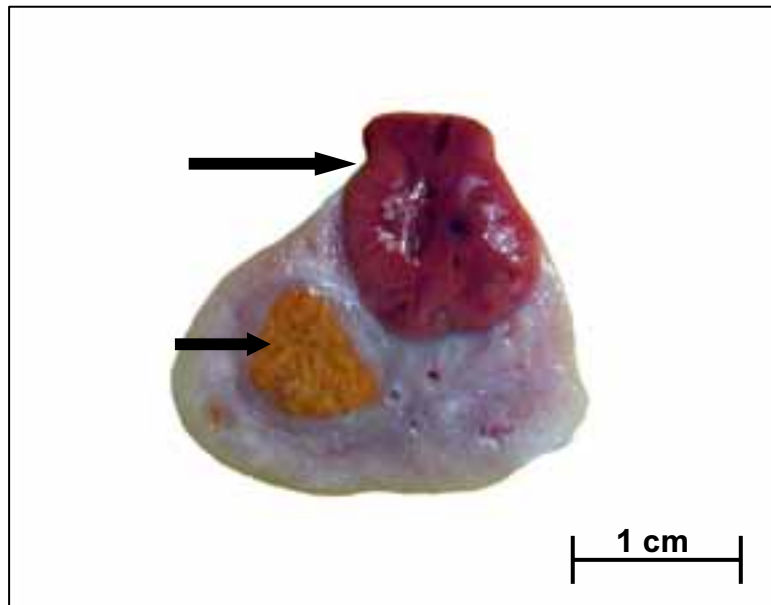
**Abb. 8:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus hämorrhagicum; Zone 1: Kreisrundes Zentrum bestehend aus Erythrozyten (1) und Fibrin (2); Vergrößerung 20 x



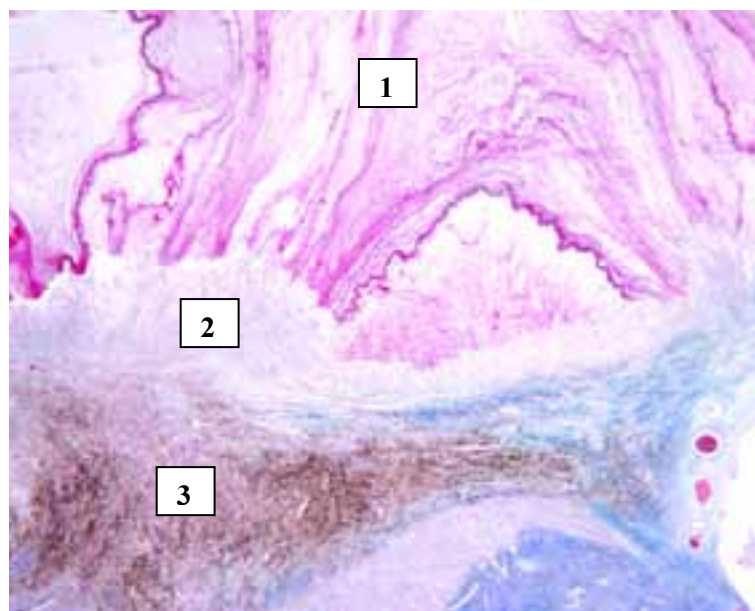
**Abb. 9:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus hämorrhagicum; Zone 2: Makrophage (1) und Erythrozyten (2) eingebettet in Bindegewebe (3); Vergrößerung 20 x



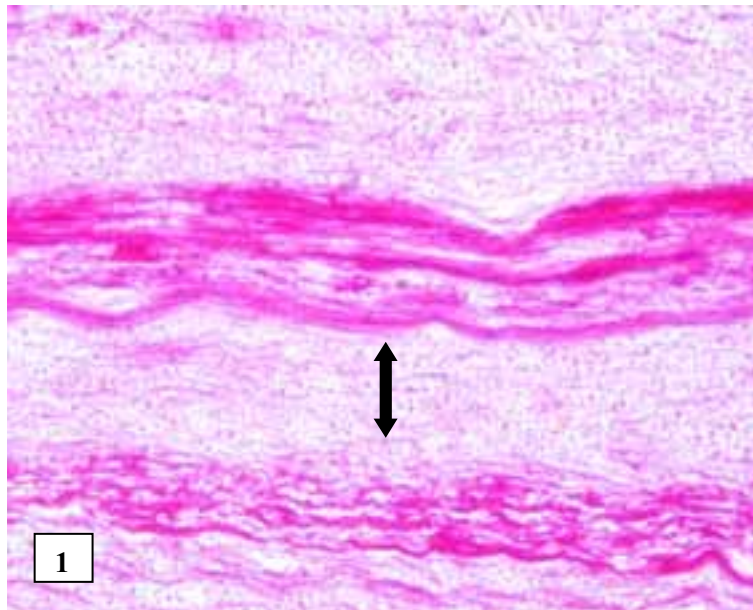
**Abb. 10:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus hämorrhagicum; Zone 3: Luteinzelle (1); Kapillare (2); Arterie (3); Vergrößerung 40 x



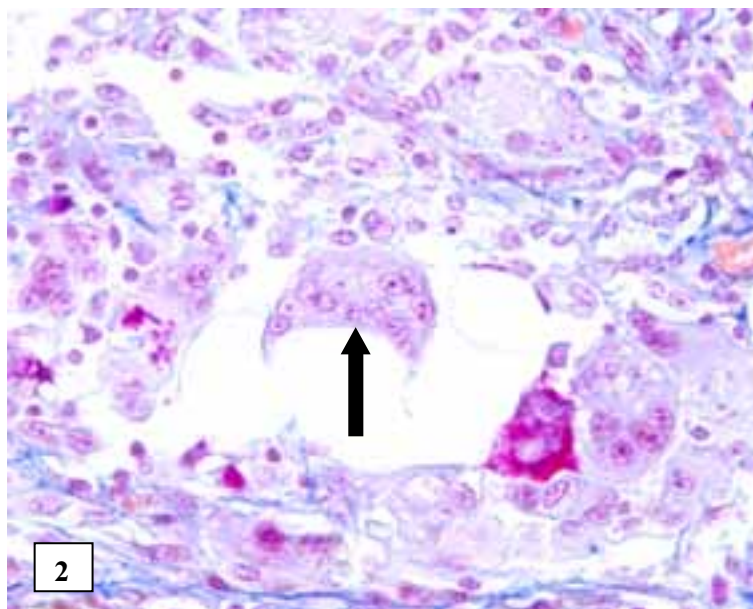
**Abb. 11:** Ovar mit Corpus rubrum (Pfeil) und frühem Regressionsgelbkörper (kleiner Pfeil); Längsschnitt



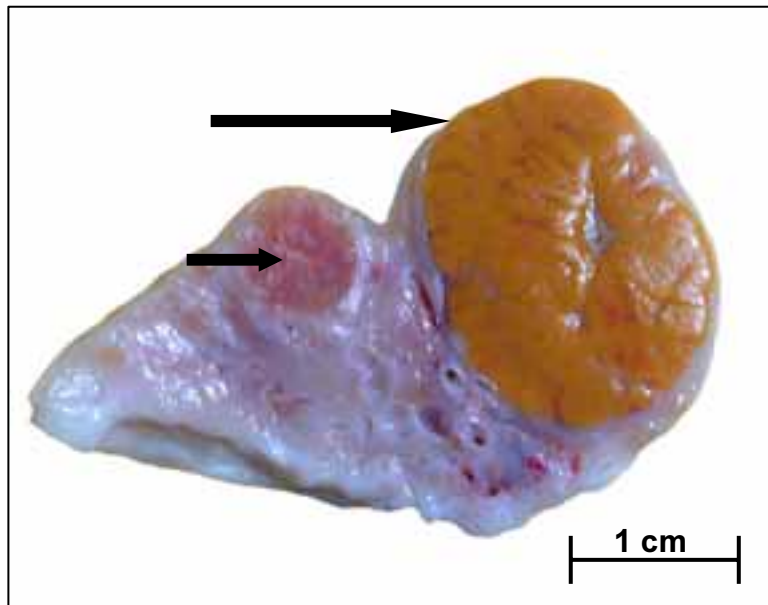
**Abb. 12:** Mit Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus rubrum; Proximaler Anteil aus Fibrinmassen (1); Granulosazellen und Fremdkörperriesenzellen (2) eingebettet in Bindegewebe; Makrophagen mit phagozytierten Blutbestandteilen (3); Vergrößerung 2,5 x



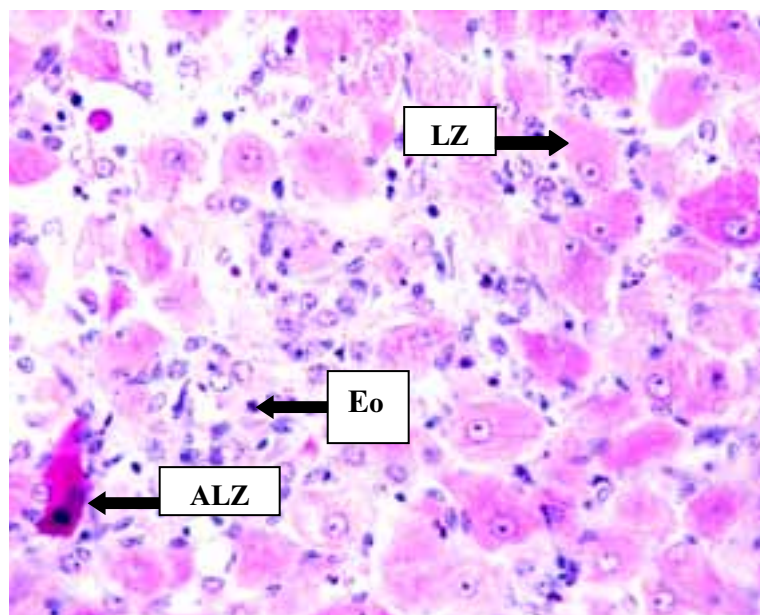
**Abb. 13:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus rubrum; 1: Proximaler Anteil aus Fibrinmassen (Pfeil) mit dazwischen liegenden Erythrozyten; Vergrößerung 40 x



**Abb. 14:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus rubrum; 2: Fremdkörperriesenzelle (Pfeil); Vergrößerung 40 x

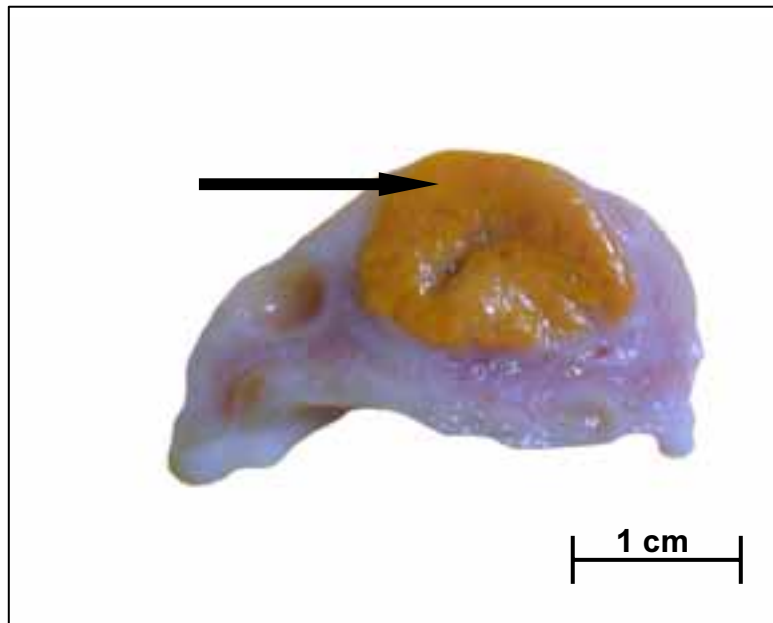


**Abb. 15:** Ovar mit Corpus luteum in Blüte (Pfeil) und spätem Residualgelbkörper (kleiner Pfeil); Längsschnitt

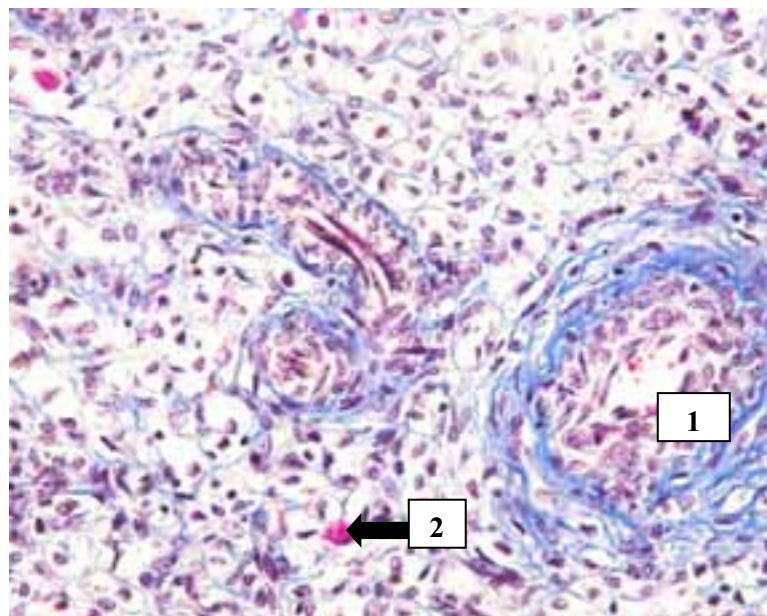


**Abb. 16:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus luteum in Blüte; Luteinzelle (LZ) umgeben von Kapillaren; Apoptotische Luteinzelle (ALZ); Eosinophiler Granulozyt (Eo); Vergrößerung 40 x

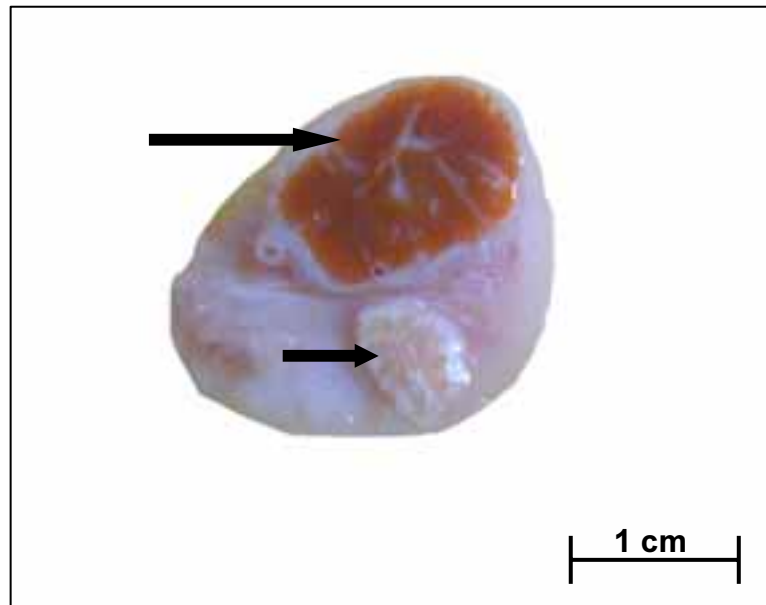




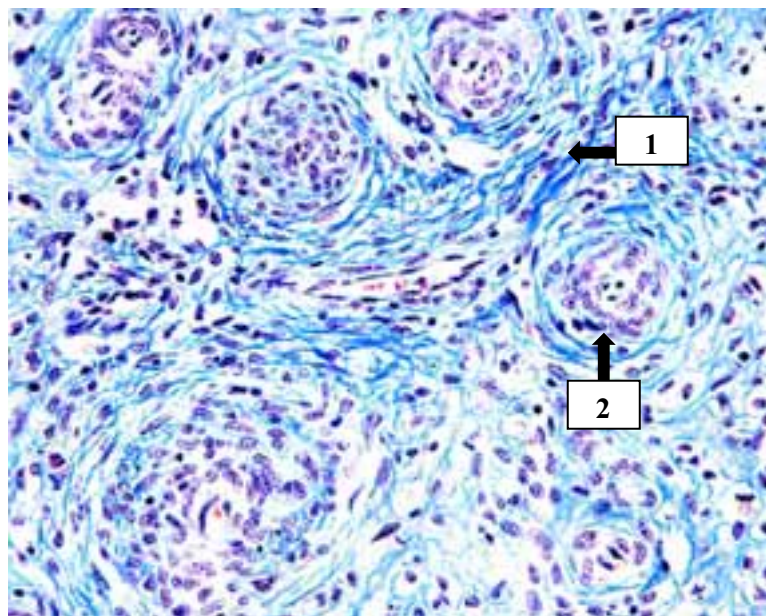
**Abb. 17:** Ovar mit frühem Regressionsgelbkörper (Pfeil); Längsschnitt



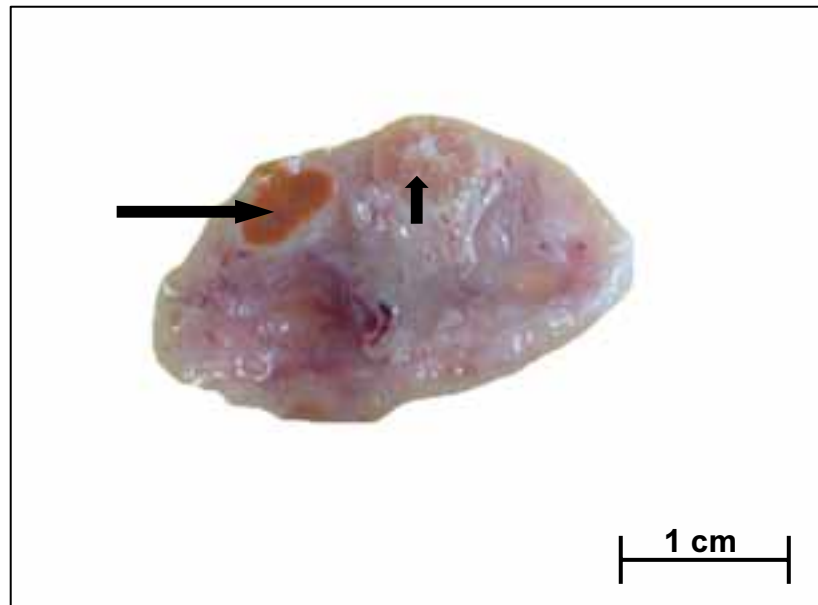
**Abb. 18:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbter früher Regressionsgelbkörper; Größeres arterioläres Gefäß (1); Apoptotische Luteinzelle (2), Vergrößerung 40 x



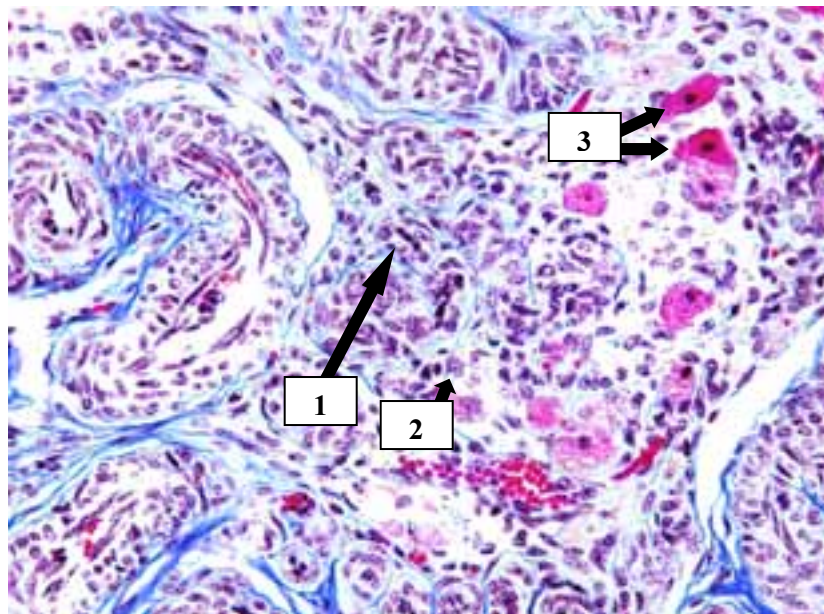
**Abb. 19:** Ovar mit spätem Regressionsgelbkörper (Pfeil) und spätem Residualgelbkörper (kleiner Pfeil); Längsschnitt



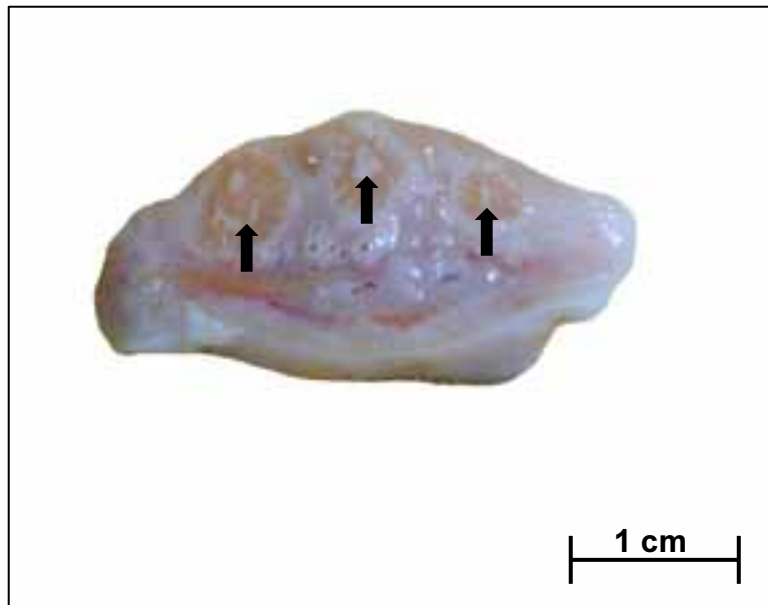
**Abb. 20:** Mit Trichromfärbung nach Ladewig gefärbter später Regressionsgelbkörper; breite Bindegewebsstränge (1); Arteriole mit breiter Adventitia (2); Vergrößerung 20 x



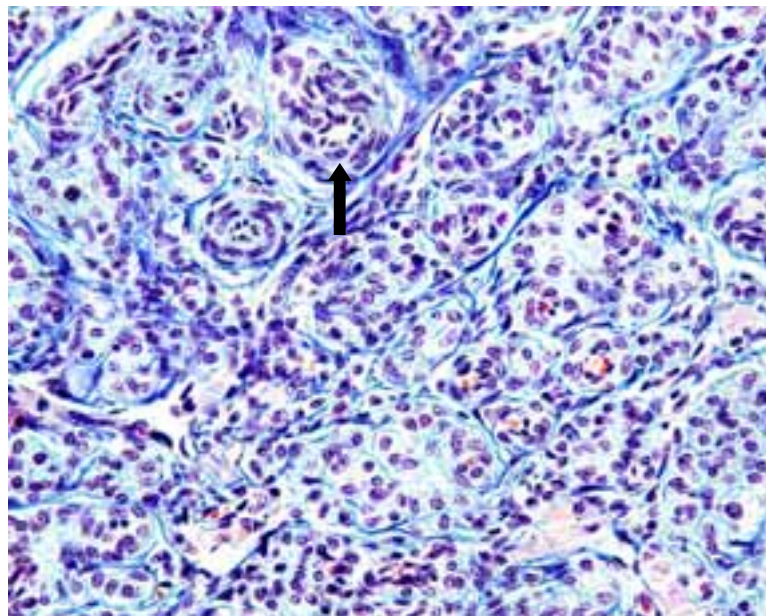
**Abb. 21:** Ovar mit frühem (Pfeil) und spätem Residualgelbkörper (kleiner Pfeil); Längsschnitt



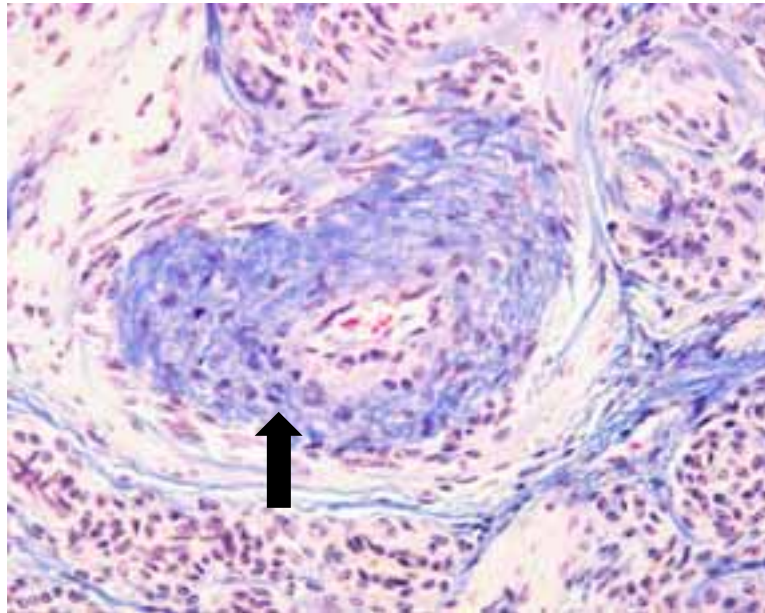
**Abb. 22:** Mit Trichromfärbung nach Ladewig gefärbter früher Residualgelbkörper; Arteriole (1); Makrophage (2); Apoptotische Luteinzellen (3); Vergrößerung 20 x



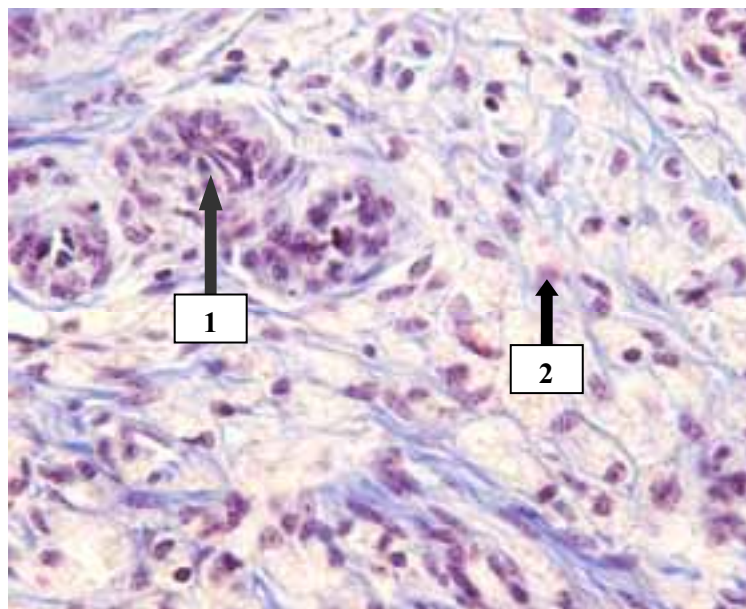
**Abb. 23:** Ovar mit späten Residualgelbkörpern (Pfeile);  
Längsschnitt



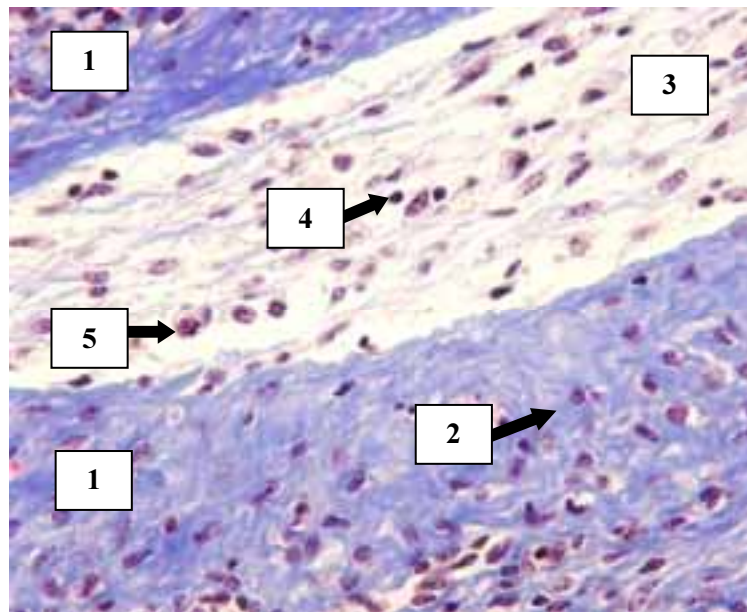
**Abb. 24:** Mit Trichromfärbung nach Ladewig gefärbter  
später Residualgelbkörper; Arteriole (Pfeil);  
Vergrößerung 20 x



**Abb. 25:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes frühes Stadium des Corpus albicans; Arteriole mit dickwandiger Adventitia (Pfeil); Vergrößerung 40 x



**Abb. 26:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus albicans; Arteriole (1); Makrophage (2); Vergrößerung 40 x



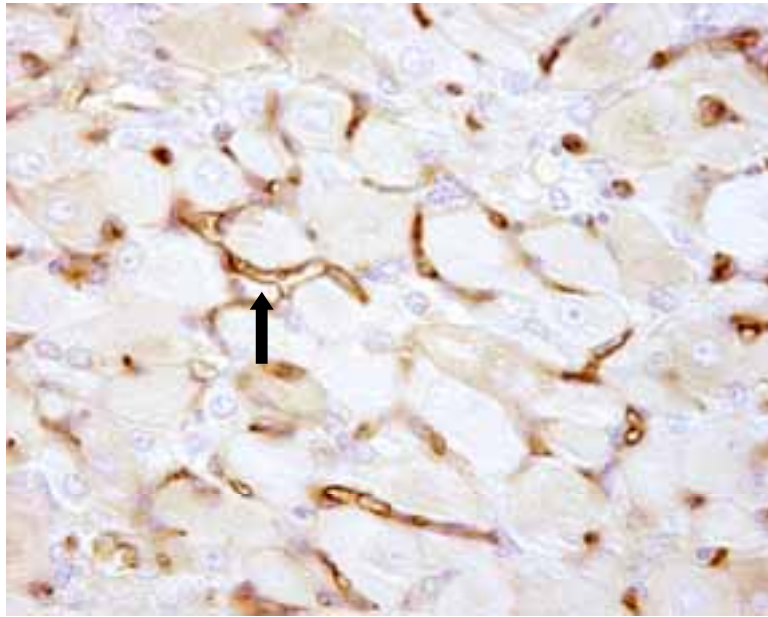
**Abb. 27:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus albicans > 30 Tage; Außenzone (1) mit Fibroblast (2); Innenzone (3) mit Lymphozyt (4); Makrophage (5); Vergrößerung 20 x;

## 4.2 Quantifizierung der Gefäßdichte

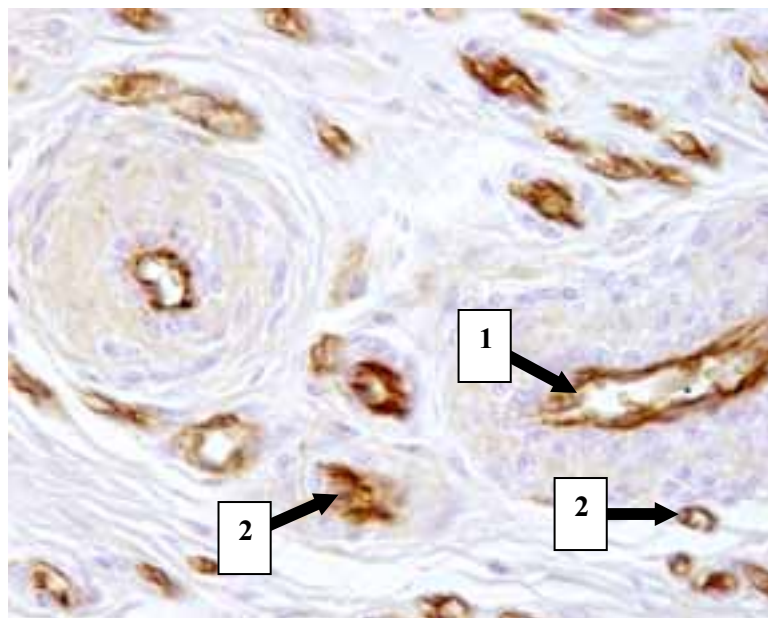
Die Quantifizierung lutealer Gefäße im Corpus luteum und Corpus albicans erfolgte mittels lektinhistochemischer Darstellung des Lektins *Bandeiraea simplicifolia* Agglutinin I (BSL I) auf Paraffinschnitten. Die frühe Anbildungsphase des Corpus luteum ist durch Ansammlungen gelb-braun gefärbter Erythrozyten und bräunlich gefärbter Eisenpigmente gekennzeichnet. In allen folgenden Stadien des Corpus luteum und Corpus albicans sind die Endothelzellen von Kapillaren und größeren Gefäße markiert (Abb. 28-31).

### 4.2.1 Quantifizierung der Gefäßdichte im Corpus luteum

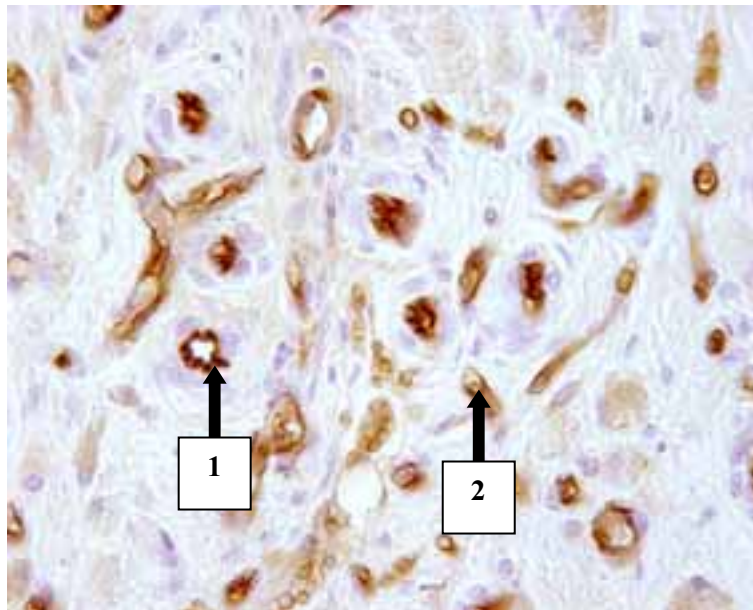
Aufgrund morphologischer Kriterien wurden die lutealen Gefäße in Kapillaren und Arteriolen unterschieden. Kapillaren zeichnen sich durch ein Kaliberspektrum bis maximal 20 µm aus und verfügen im Gegensatz zu Arteriolen nicht über eine durchgehende glatte Muskelzellschicht.



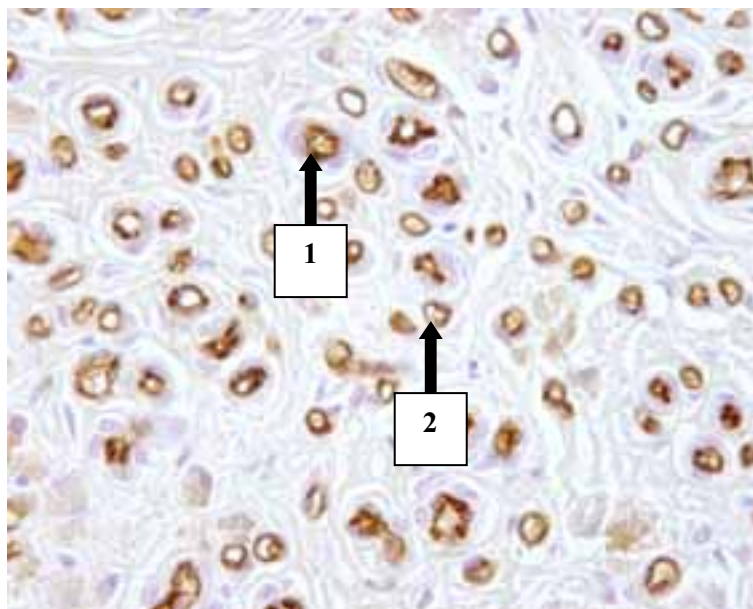
**Abb. 28:** Mit BSL I markiertes Endothel einer Kapillare im Corpus luteum in Blüte (Pfeil); Vergrößerung 40 x



**Abb. 29:** Mit BSL I markiertes Endothel einer Arterie (1), Arteriole (2) und Kapillare (3) im Regressionsgelbkörper; Vergrößerung 40 x



**Abb. 30:** Mit BSL I markiertes Endothel einer Arteriole (1) und Kapillare (2) im frühen Residualgelbkörper; Vergrößerung 40 x

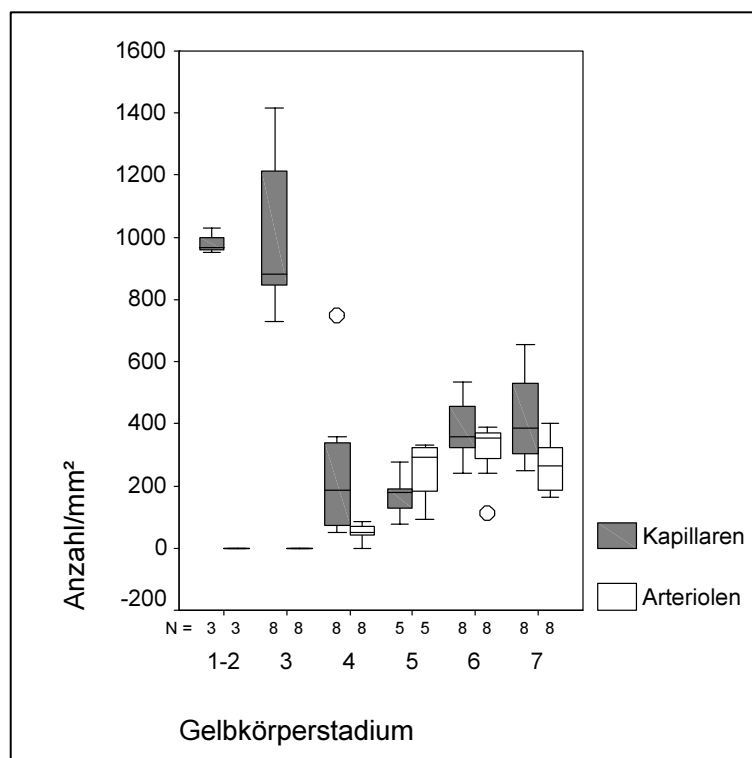


**Abb. 31:** Mit BSL I markiertes Endothel einer Arteriole (1) und Kapillare (2) im späten Residualgelbkörper; Vergrößerung 40 x



#### 4.2.1.1 Anzahl der Kapillaren und Arteriolen pro mm<sup>2</sup>

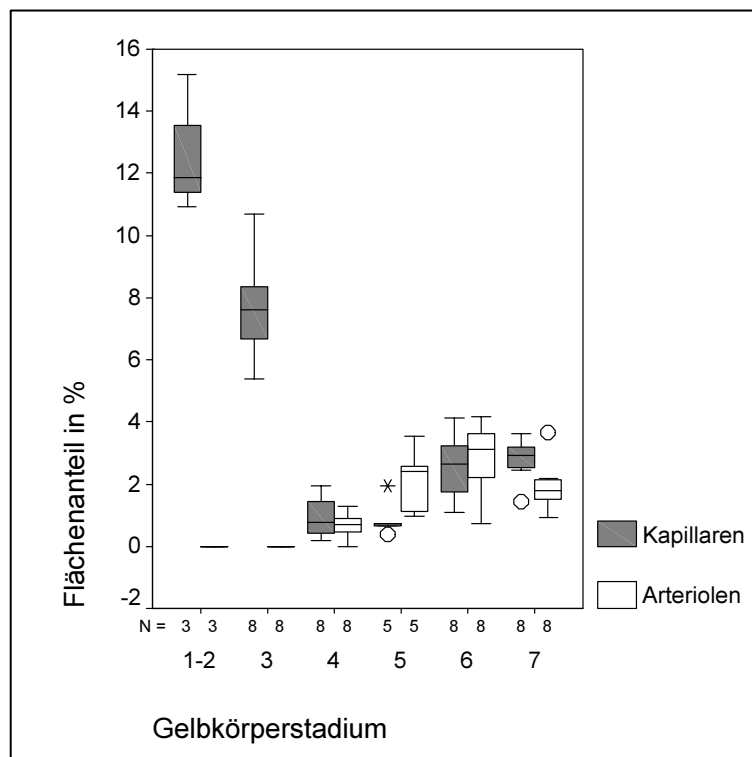
Abb. 32 zeigt die Anzahl der Kapillaren und Arteriolen pro mm<sup>2</sup> Gelbkörperquerschnittsfläche in Abhängigkeit vom lutealen Entwicklungsstadium. In der Anbildungsphase des Corpus luteum (Stadium 1-2) wurde der höchste Median gemessen. Im Corpus luteum in Blüte sinkt die Anzahl der Kapillaren auf 880 pro mm<sup>2</sup>. Mit Einsetzen der Luteolyse (Stadium 4 und 5) verringert sich der Median signifikant auf 186 bzw. 178 Kapillaren pro mm<sup>2</sup>. Demgegenüber ist in Stadium 6 ein signifikanter Anstieg auf 359 Kapillaren pro mm<sup>2</sup> zu beobachten. In Stadium 7 wurden 386 Kapillaren pro mm<sup>2</sup> gemessen. Bei der Untersuchung des Merkmals „Arteriolen pro mm<sup>2</sup>“ muss berücksichtigt werden, dass während der Anbildung und Blüte des Corpus luteum so wenige Arteriolen auftreten, dass sie mit dem Messprogramm nicht erfasst wurden. Zu Beginn der Regression wurde der niedrigste Median gemessen. Im späten Regressionsgelbkörper erhöht sich der Median signifikant auf 292 Arteriolen pro mm<sup>2</sup>. In Stadium 6 wurden 354 Arteriolen gemessen. Demgegenüber sinkt die Anzahl der Arteriolen gegen Ende der Luteolyse auf 264 pro mm<sup>2</sup> (minimal: 162; maximal: 400).



**Abb. 32:** Vergleich der Anzahl von Kapillaren und Arteriolen pro mm<sup>2</sup> in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

#### 4.2.1.2 Prozentualer Flächenanteil der Lumina von Kapillaren und Arteriolen

Abb. 33 belegt, dass sich der prozentuale Anteil der Lumenfläche der Kapillaren und Arteriolen wie die Anzahl der Kapillaren und Arteriolen pro mm<sup>2</sup> verhält. Der Flächenanteil der Kapillaren ist mit 12% im Corpus luteum in Anbildung am größten. Im Corpus luteum in Blüte beträgt der Flächenanteil der Kapillaren 7,6%. Mit Einsetzen der Luteolyse ist ein signifikanter Abfall des Medians auf 0,8% zu beobachten. Auf diesem niedrigen Niveau liegt auch der Median in Stadium 5. In Stadium 6 steigt der Flächenanteil der Kapillaren signifikant auf 2,7%. Gegen Ende der Luteolyse beträgt der Flächenanteil 2,9%. In den Stadien 1-2 und 3 sind so wenige Arteriolen vorhanden, so dass sie mit dem Messprogramm nicht erfasst wurden. Der Flächenanteil der Arteriolen im frühen Regressionsgelbkörper beträgt 0,7%. Demgegenüber vergrößert sich der luminale Flächenanteil in Stadium 5 signifikant auf 2%. In Stadium 6 beträgt der Flächenanteil 3%, in Stadium 7 sinkt er auf 1,8%.

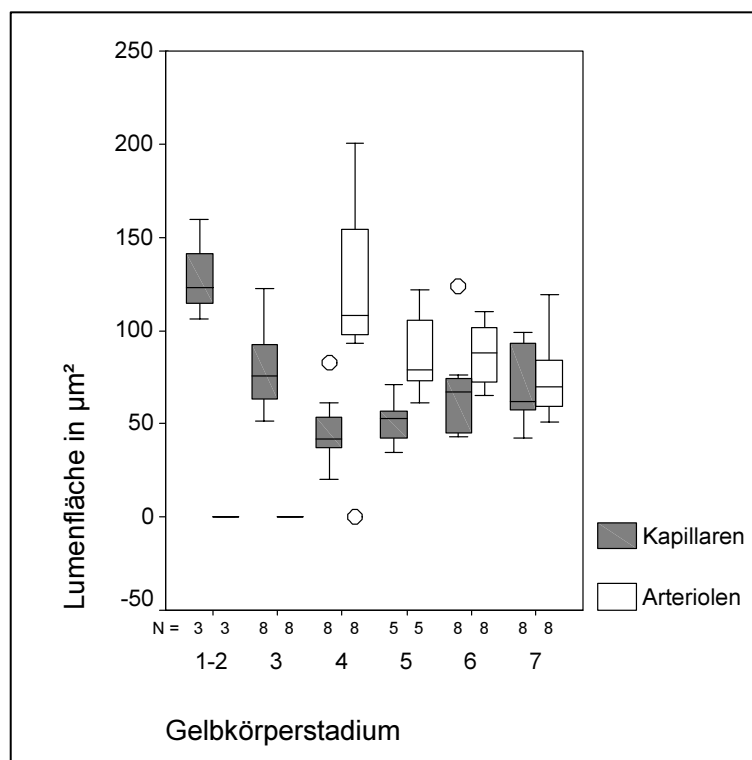


**Abb. 33:** Vergleich des prozentualen Flächenanteils von Kapillaren und Arteriolen in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

#### 4.2.1.3 Lumenfläche von Kapillaren und Arteriolen in $\mu\text{m}^2$

Abb. 34 veranschaulicht die Lumenfläche der Kapillaren und Arteriolen im Corpus luteum. Die Lumenfläche der Kapillaren ist mit  $123 \mu\text{m}^2$  im Corpus luteum in Anbildung (Stadium 1-2) am größten. Im Corpus luteum in Blüte umfasst die Lumenfläche der Kapillaren  $76 \mu\text{m}^2$ . Im frühen Regressionsgelbkörper verringert sich die Lumenfläche der Kapillaren signifikant auf  $42 \mu\text{m}^2$ . Im weiteren Verlauf steigt der Median auf  $53$  bzw.  $67 \mu\text{m}^2$ . Gegen Ende der Luteolyse sinkt der Median auf  $62 \mu\text{m}^2$ .

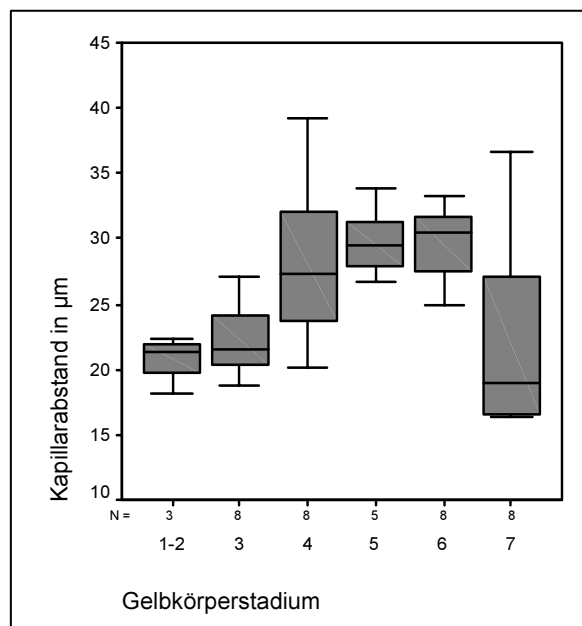
Während Anbildung und Blüte des Corpus luteum treten so wenige Arteriolen auf, dass sie mit dem Messprogramm nicht erfasst wurden. Im frühen Regressionsgelbkörper umfasst die Lumenfläche der Arteriolen  $108 \mu\text{m}^2$ . In Stadium 5 verkleinert sich die Lumenfläche der Arteriolen signifikant auf  $79 \mu\text{m}^2$ . Nach einem Anstieg des Medians auf  $88 \mu\text{m}^2$  in Stadium 6, ist in Stadium 7 ein Abfall des Medians auf  $70 \mu\text{m}^2$  zu beobachten, wobei die Spannweite der Messergebnisse größer ist.



**Abb. 34:** Vergleich der Lumenfläche von Kapillaren und Arteriolen in  $\mu\text{m}^2$  in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

#### 4.2.1.4 Kapillarabstand in $\mu\text{m}$

Der Abstand zwischen zwei Kapillaren ist in Abb. 35 dargestellt. Je Probe wurden durchschnittlich 144 Abstandsmessungen vorgenommen (minimal: 66; maximal: 302). Die kürzesten Distanzen zwischen zwei Kapillaren wurden während der Anbildung und Blüte sowie der späten Rückbildung des Corpus luteum gemessen. Während der Anbildung und Blüte beträgt die interkapilläre Distanz  $21 \mu\text{m}$ . Demgegenüber vergrößert sich der Abstand in den folgenden Stadien auf  $27, 29$  bzw.  $31 \mu\text{m}$ . Im späten Residualgelbkörper wurde mit  $18 \mu\text{m}$  der niedrigste Median und die größte Messwertspannweite gemessen.



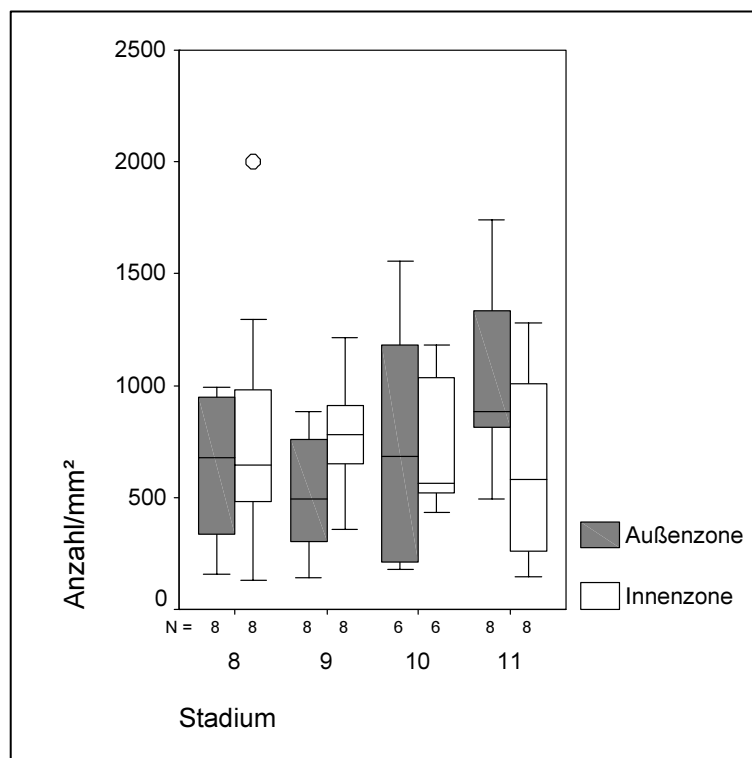
**Abb. 35:** Vergleich des Kapillarabstandes in  $\mu\text{m}$  in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

## 4.2.2 Quantifizierung der Gefäßdichte im Corpus albicans

Bei den gemessenen Gefäßen der Corpora albicantia handelt es sich um Kapillaren, da sie im Durchmesser nicht größer als 20  $\mu\text{m}$  sind und über keine glatte Muskelzellschicht verfügen. Die Stadien wurden anhand des größten Durchmessers der Querschnittsfläche wie folgt bestimmt: Stadium 8 (5000-1090  $\mu\text{m}$ ), Stadium 9 (1090-860  $\mu\text{m}$ ); Stadium 10 (860-630  $\mu\text{m}$ ) und Stadium 11 (630-400  $\mu\text{m}$ ).

### 4.2.2.1 Anzahl der Gefäße pro $\text{mm}^2$

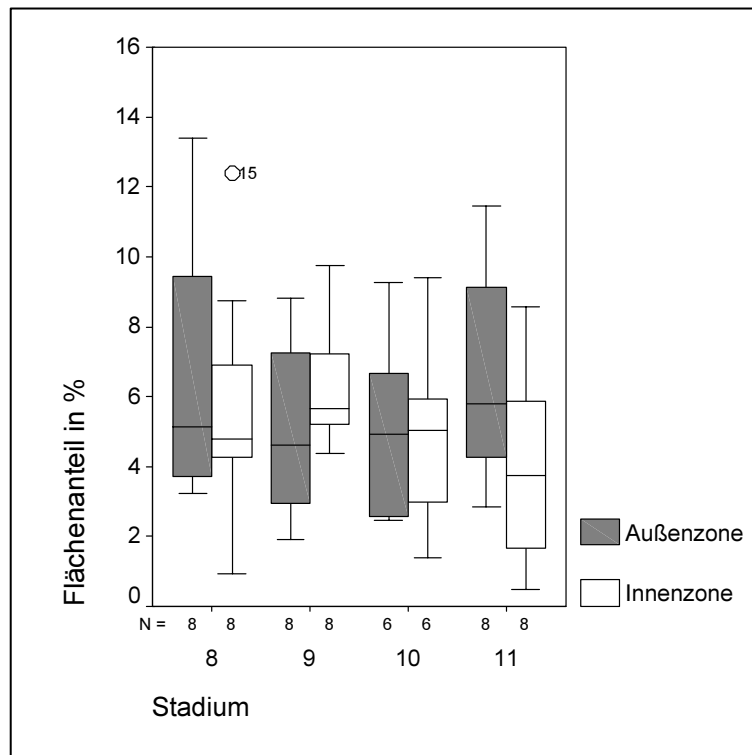
Abb. 36 zeigt die Anzahl der Gefäße der Innen- und Außenzone boviner Corpora albicantia pro  $\text{mm}^2$  in Abhängigkeit von deren Alter. In Stadium 8 konnten in der Innenzone 644 Gefäße pro  $\text{mm}^2$  gemessen werden. In Stadium 9 beträgt die Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  782. In den Stadien 10 und 11 war ein Abfall der Mediane auf 563 bzw. 578 Gefäße pro  $\text{mm}^2$  festzustellen. In der Außenzone wurden in Stadium 8 675 Gefäße pro  $\text{mm}^2$  gemessen. In Stadium 9 verringert sich die Anzahl der Gefäße auf 491 pro  $\text{mm}^2$ . Im weiteren Verlauf war ein Anstieg der Mediane auf 682 bzw. 882 Gefäße pro  $\text{mm}^2$  zu verzeichnen.



**Abb. 36:** Vergleich der Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  in der Außenzone (AZ) und Innenzone (IZ) in den verschiedenen Stadien des Corpus albicans

#### 4.2.2.2 Prozentualer Flächenanteil der Gefäßlumina

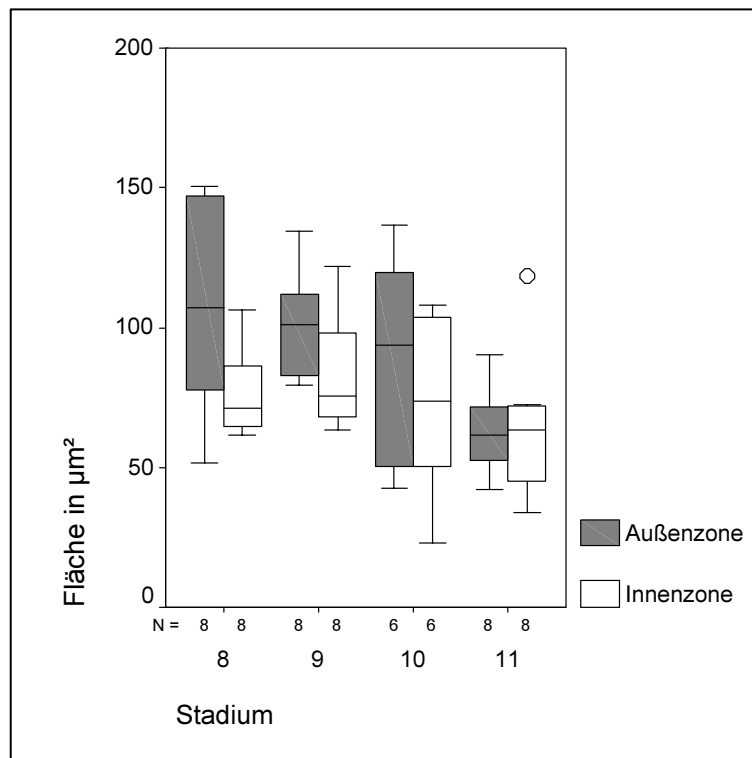
Der prozentuale Flächenanteil der Gefäßlumina ist in Abb. 37 dargestellt. Der Flächenanteil der Gefäße in der Innenzone in Stadium 8 beträgt 4,8%. In Stadium 9 vergrößert sich der Flächenanteil der Gefäße auf 5,66%. In weiteren Verlauf sinken die Mediane auf 5,02 bzw. 3,74%. Der Flächenanteil der Gefäße in der Außenzone beträgt 5,15%. In den folgenden Stadien verringert er sich auf 4,63 bzw. 4,92%. Demgegenüber war in Stadium 11 ein Anstieg des Medians auf 5,8% zu beobachten.



**Abb. 37:** Vergleich des prozentualen Flächenanteils der Gefäßlumina in der Außenzone (AZ) und Innenzone (IZ) in den verschiedenen Stadien des Corpus albicans

#### 4.2.2.3 Fläche der Gefäßlumina in $\mu\text{m}^2$

Abb. 38 veranschaulicht die Fläche der Gefäßlumina in  $\mu\text{m}^2$  in den verschiedenen Corpora albicantia. Die Gefäßlumina in der Innenzone in Stadium 8 weisen eine Fläche von  $71 \mu\text{m}^2$  auf. Auf diesem Niveau befinden sich auch die Mediane der folgenden Stadien. In Stadium 11 verkleinert sich die Fläche der Gefäßlumina auf  $63 \mu\text{m}^2$ . Die Außenzone in Stadium 8 verfügt über eine Lumenfläche von  $106 \mu\text{m}^2$  auf. Im weiteren Verlauf sinken die Mediane auf 100 bzw.  $93 \mu\text{m}^2$ . Der mit Abstand niedrigste Median wurde in Stadium 11 erreicht.



**Abb. 38:** Vergleich der Gefäßfläche in  $\mu\text{m}^2$  in der Außenzone (AZ) und Innenzone (IZ) in den verschiedenen Stadien des Corpus albicans

#### 4.2.2.4 Irrtumswahrscheinlichkeit „p“ für die untersuchten Variablen für das Corpus luteum

Für alle mittels H-Test nach Kruskal und Wallis untersuchten Variablen war  $H_0$  abzulehnen (Tab. 5). Es folgte der U-Test nach Mann und Whitney (Tab. 6).

**Tab. 5:** H-Test nach Kruskal und Wallis

Untersuchte Variable	Irrtumswahrscheinlichkeit (p)
Kapillaren/mm <sup>2</sup> (Kap/mm <sup>2</sup> )	0.000*
Anteil der Lumenfläche Kapillaren % (Kfläch %)	0.000*
Lumenfläche Kapillaren $\mu\text{m}^2$ (Kfläch $\mu\text{m}^2$ )	0.004*
Arteriolen/mm <sup>2</sup> (Art/mm <sup>2</sup> )	0.000*
Anteil der Lumenfläche Arteriolen % (Afläch %)	0.000*
Lumenfläche Arteriolen $\mu\text{m}^2$ (Afläch $\mu\text{m}^2$ )	0.000*
Kapillarabstand $\mu\text{m}$ (KapAb)	0.004*

**Tab. 6:** U-Test nach Mann und Whitney

Stad	Kap/mm <sup>2</sup>	Kfläch %	Kfläch $\mu\text{m}^2$	Art/mm <sup>2</sup>	Afläch %	Afläch $\mu\text{m}^2$	KapAb
1-2 + 3	0.540	0.014	0.025	1.000	1.000	1.000	0.540
3 + 4	0.001*	0.001*	0.009*	0.001*	0.001*	0.001*	0.027
4 + 5	0.770	0.884	0.558	0.003*	0.008*	0.242	0.464
5 + 6	0.005*	0.008*	0.188	0.067	0.188	0.884	0.884
6 + 7	0.674	0.529	0.916	0.207	0.141	0.172	0.027

**Tab. 7:** Übersicht über signifikante Variablen für das Corpus luteum

Anzahl der Kapillaren und Arteriolen pro mm <sup>2</sup>	
Stadium 3 > Stadium 4	Kapillaren **, Arteriolen **
Stadium 4 > Stadium 5	Arteriolen **
Stadium 5 > Stadium 6	Kapillaren **
Prozentualer Flächenanteil der Lumina von Kapillaren und Arteriolen	
Stadium 3 > Stadium 4	Kapillaren **, Arteriolen **
Stadium 4 > Stadium 5	Arteriolen **
Stadium 5 > Stadium 6	Kapillaren **
Lumenfläche von Kapillaren und Arteriolen in $\mu\text{m}^2$	
Stadium 3 > Stadium 4	Kapillaren **, Arteriolen **



#### 4.2.2.5 Irrtumswahrscheinlichkeit „p“ für die untersuchten Variablen für das Corpus albicans

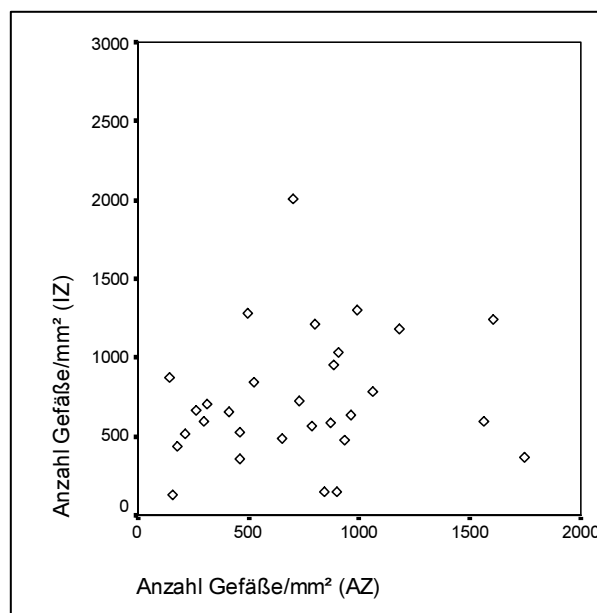
Für alle mittels H-Test nach Kruskal und Wallis untersuchten Variablen war  $H_0$  anzunehmen (Tab. 8).

**Tab. 8:** H-Test nach Kruskal und Wallis

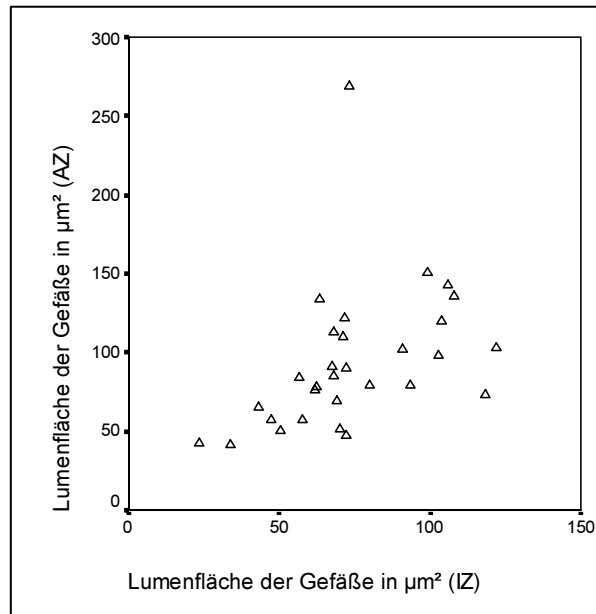
Untersuchte Variable	Irrtumswahrscheinlichkeit (p)
Gefäße/Außenzone	0,240
Anteil der Lumenfläche (Außenzone)	0,411
Lumenfläche (Außenzone)	0,240
Gefäße/Innenzone	0,108
Anteil der Lumenfläche (Innenzone)	0,188
Lumenfläche (Innenzone)	0,555

#### 4.2.2.6 Korrelationen zwischen den Messwerten für die Außen- und Innenzone des Corpus albicans

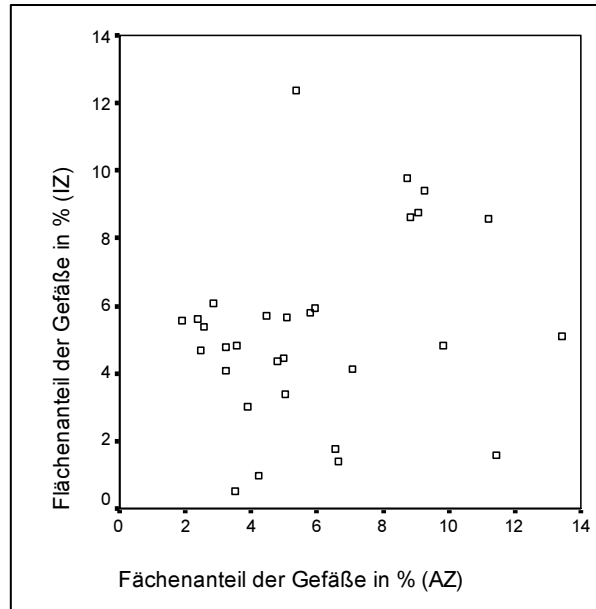
Eine schwache positive Korrelation existiert zwischen den im Corpus albicans untersuchten Merkmalen „Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  in der Innenzone“ und „Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  in der Außenzone“ ( $r_s = 0,2$ ) (Abb. 39).



**Abb. 39:** Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  in der Innenzone (IZ) des Corpus albicans in Abhängigkeit von der Anzahl der Gefäße pro  $\text{mm}^2$  in der Außenzone (AZ) des Corpus albicans



**Abb. 40:** Lumenfläche in der Innenzone (IZ) des Corpus albicans in Abhängigkeit von der Anzahl der Gefäße pro mm<sup>2</sup> in der Außenzone (AZ) des Corpus albicans



**Abb. 41:** Prozentualer Flächenanteil der Gefäße in der Innenzone (IZ) des Corpus albicans in Abhängigkeit vom prozentualen Flächenanteil der Gefäße in der Außenzone (AZ) des Corpus albicans

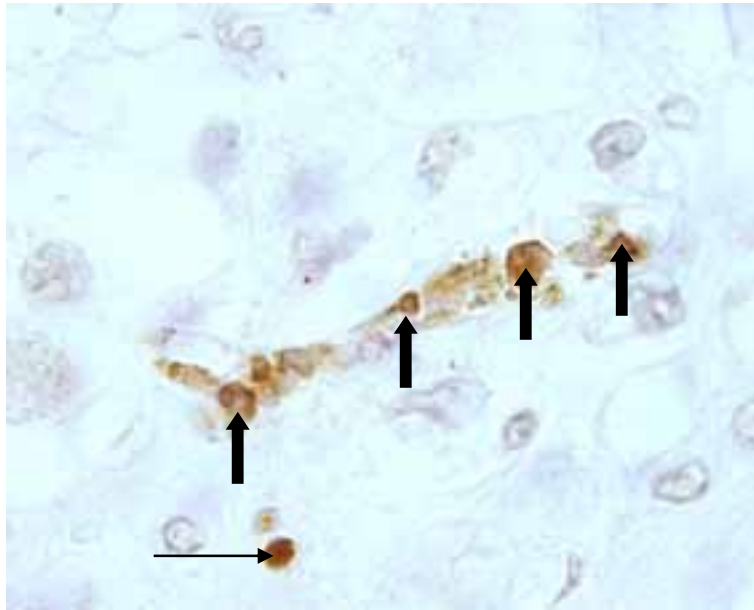
Zwischen der im Corpus albicans untersuchten Lumenfläche der Gefäße in  $\mu\text{m}^2$  in der Außenzone und der Lumenfläche der Gefäße in  $\mu\text{m}^2$  in der Innenzone besteht eine mittlere positive Korrelation ( $r_s = 0,6$ ) (Abb. 40). Die Parameter „Prozentualer Flächenanteil der Gefäße in der Innenzone“ und „Prozentualer Flächenanteil der Gefäße in der Außenzone“ sind schwach positiv korreliert ( $r_s = 0,2$ ) (Abb. 41).

**Tab. 9:** Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_s$ )

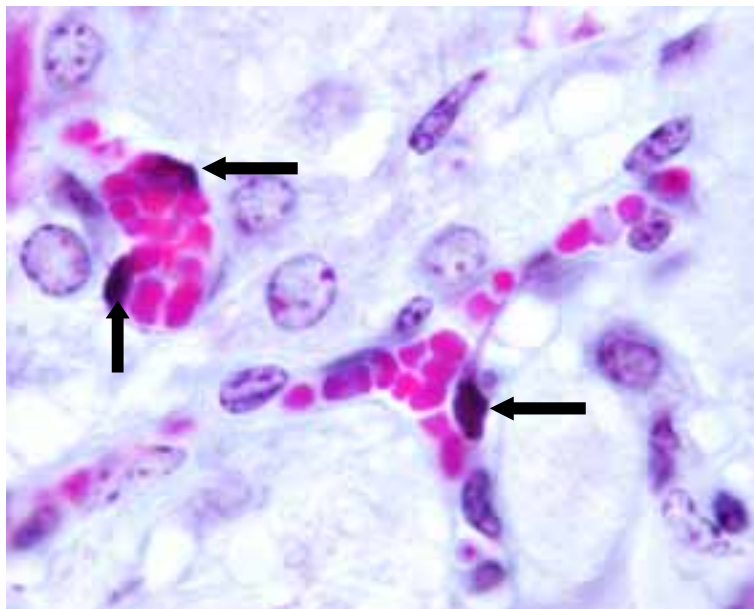
Spearman ( $r_s$ )	Gefäße/ $\text{mm}^2$ (AZ)	Flächenteil Gefäße (AZ)	Fläche Gefäße (AZ)
Gefäße/ $\text{mm}^2$ (IZ)	0,0205		
Flächenteil Gefäße (IZ)		0,215	
Fläche Gefäße (IZ)			0,6**

### 4.3 Nachweis von Apoptosen

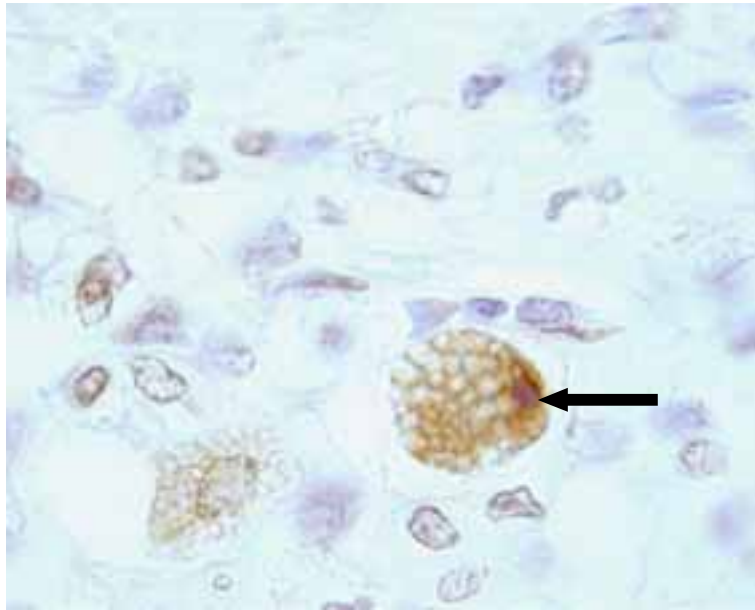
Mittels Terminal-Desoxynucleotidyl-Transferase (TdT) wird die DNA apoptotischer Endothel- und Luteinzellen am 3'OH Ende markiert und durch Zugabe eines Chromogens markiert. Die Corpora lutea und Corpora albicantia weisen markierte sichelförmige oder unregelmäßig geformte Zellkernfragmente auf, die von Zytoplasma umgeben sind. Darüber hinaus sind markierte runde Strukturen so genannte „Apoptosekörperchen“ zu sehen, die sowohl einzeln als auch in Gruppen angeordnet sein können. Die Differenzierung in apoptotische Endothel- und Luteinzellen erfolgt aufgrund morphologischer Kriterien wie Lokalisation und Zellform (Abb. 42-45).



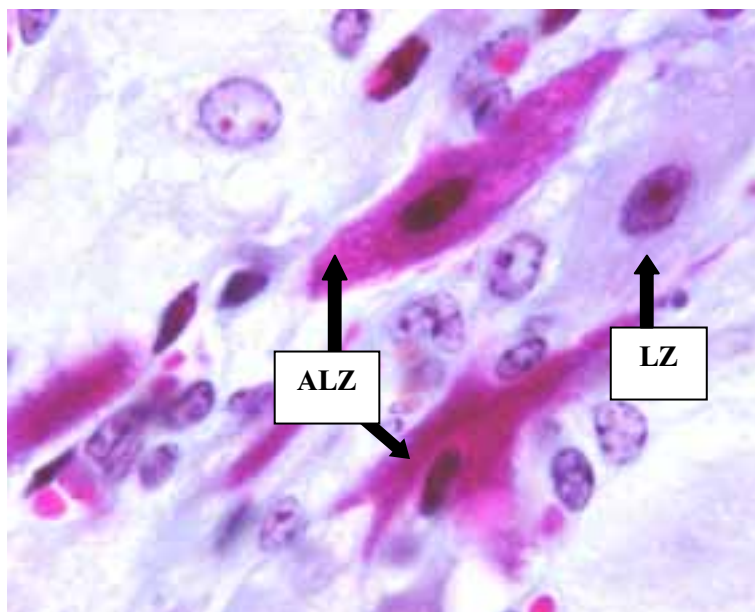
**Abb. 42:** Mit TdT markierte apoptotische Endothelzellen (Blockpfeile) einer Kapillare im Corpus luteum in Rückbildung; apoptotische Luteinzelle (Pfeil); Vergrößerung 40 x



**Abb. 43:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus luteum in Rückbildung; Apoptotische Endothelzellen (Pfeile) zweier Kapillaren; Vergrößerung 100 x



**Abb. 44:** Mit TdT markierte apoptotische Luteinzelle (Pfeil) im Corpus luteum in Rückbildung;  
Vergrößerung 40 x



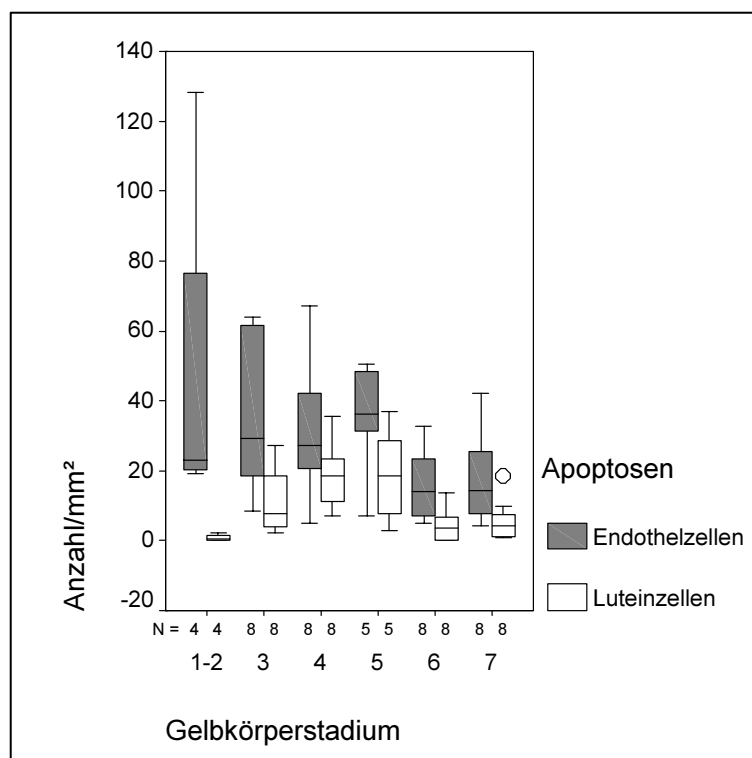
**Abb. 45:** Mit der Trichromfärbung nach Ladewig gefärbtes Corpus luteum in Rückbildung; Intakte Luteinzelle (LZ) und apoptotische Luteinzellen (ALZ);  
Vergrößerung 100 x

### 4.3.1 Semiquantifizierung von Apoptosen im Corpus luteum

#### 4.3.1.1 Anzahl apoptotischer Zellen pro mm<sup>2</sup>

Aus Abb. 46 wird die Anzahl apoptotischer Endothel- und Luteinzellen pro mm<sup>2</sup> Gelbkörperquerschnittsfläche im Verlauf der An- und Rückbildung des Corpus luteum ersichtlich. Während der Anbildung wurden 23 apoptotische Endothelzellen gemessen. Im Corpus luteum in Blüte steigt die Anzahl apoptotischer Endothelzellen pro mm<sup>2</sup> signifikant auf 29. Zu Beginn der Luteolyse konnten 27 apoptotische Endothelzellen pro mm<sup>2</sup> gemessen werden. Demgegenüber steigt der Median im späten Regressionsgelbkörper auf 36. In den Residualgelbkörpern verringert sich die Anzahl auf 13 bzw. 14 apoptotische Endothelzellen pro mm<sup>2</sup>.

Die Untersuchung des Merkmals „Anzahl apoptotischer Luteinzellen/mm<sup>2</sup>“ zeigt eine Steigerung der Mediane, Minimal- und Maximalwerte im Regressionsgelbkörper gegenüber dem Corpus luteum in Anbildung und Blüte. In den Residualgelbkörpern ist ein Abfall der Mediane auf 3,5 bzw. 4 apoptotische Luteinzellen festzustellen.



**Abb. 46:** Vergleich der Anzahl apoptotischer Endothel- und Luteinzellen pro mm<sup>2</sup> in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

#### 4.3.1.2 Prozentualer Flächenanteil apoptotischer Zellkerne und Fläche apoptotischer Zellkerne in $\mu\text{m}^2$

Die Untersuchung des Merkmals „Prozentualer Flächenanteil apoptotischer Zellkerne“ zeigt, dass sowohl der prozentuale Flächenanteil apoptotischer Endothelzellkerne als auch der prozentuale Flächenanteil apoptotischer Luteinzellkerne im späten Regressionsgelbkörper am größten ist. Die Fläche apoptotischer Endothel- und Luteinzellkerne ist im späten Residualgelbkörper am größten.

#### 4.3.1.3 Irrtumswahrscheinlichkeit „p“ für die untersuchten Variablen im Corpus luteum

Folgende Variablen im Corpus luteum wurden mittels H-Test nach Kruskal und Wallis untersucht. (Tab. 10). Für die Variablen „Fläche apoptotischer Endothelzellen in  $\mu\text{m}^2$  (FläAEZ  $\mu\text{m}^2$ )“, „Apoptotische Luteinzellen/mm<sup>2</sup> (ALZ/mm<sup>2</sup>)“ und „Fläche apoptotischer Luteinzellen  $\mu\text{m}^2$  (FläALZ  $\mu\text{m}^2$ )“ erfolgte der U-Test nach Mann-Whitney (Tab. 11).

**Tab. 10:** H-Test nach Kruskal Wallis

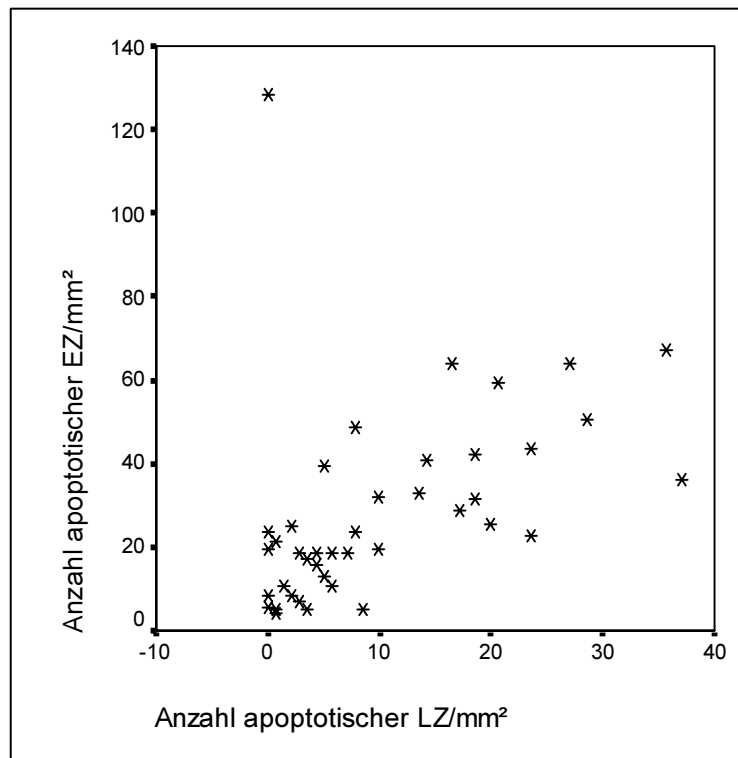
Untersuchte Variablen	Irrtumswahrscheinlichkeit p
Apoptotische Endothelzellen/mm <sup>2</sup>	0.112
Flächenanteil apoptotischer Endothelzellen %	0.303
Fläche apoptotischer Endothelzellen $\mu\text{m}^2$ (FläAEZ $\mu\text{m}^2$ )	0.034*
Apoptotische Luteinzellen/mm <sup>2</sup> (ALZ/mm <sup>2</sup> )	0.001*
Flächenanteil apoptotischer Luteinzellen %	0.116
Fläche apoptotischer Luteinzellen $\mu\text{m}^2$ (FläALZ $\mu\text{m}^2$ )	0.027*

**Tab. 11:** U-Test nach Mann und Whitney

Stadium	FläAEZ $\mu\text{m}^2$	ALZ/mm <sup>2</sup>	FläALZ $\mu\text{m}^2$
1-2 und 3	0.308	0.008*	0.496
3 und 4	0.528	0.115	0.345
4 und 5	0.04	1.000	0.188
5 und 6	0.661	0.046	0.303
6 und 7	0.529	0.460	0.027

#### 4.3.1.4 Korrelationen zwischen apoptotischen Endothel- und Luteinzellen

Zwischen der Anzahl apoptotischer Endothelzellen pro mm<sup>2</sup> im Corpus luteum und der Anzahl apoptotischer Luteinzellen pro mm<sup>2</sup> im Corpus luteum besteht eine mittlere positive Korrelation ( $r_s=0,62^{**}$ ) (Abb. 47).



**Abb. 47:** Anzahl apoptotischer Endothelzellen (EZ) pro mm<sup>2</sup> im Corpus luteum in Abhängigkeit von der Anzahl apoptotischer Luteinzellen (LZ) pro mm<sup>2</sup> im Corpus luteum

**Tab. 12:** Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_s$ )

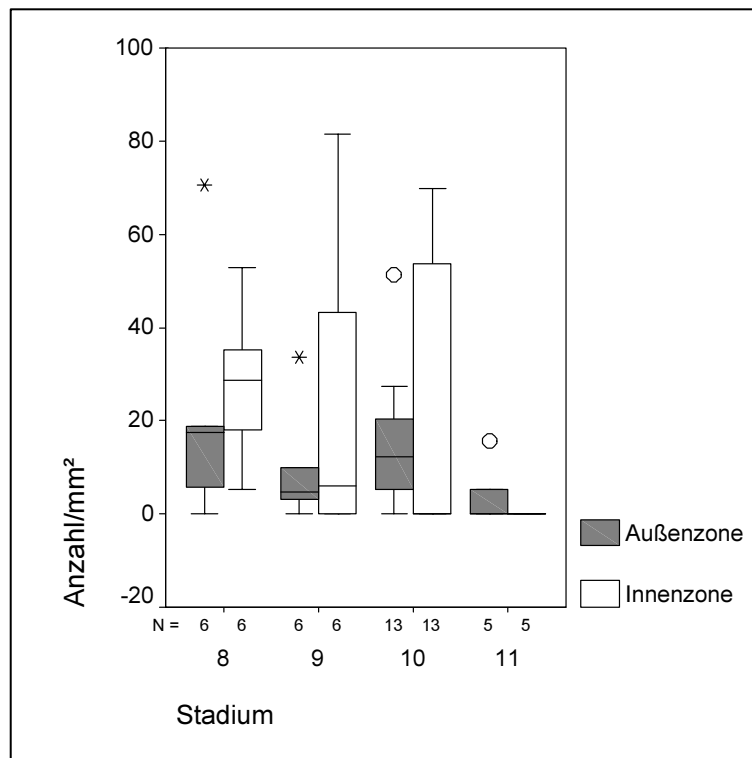
Spearman ( $r_s$ )	Apoptotische Endothelzellen/mm <sup>2</sup>
Apoptotische Luteinzellen/mm <sup>2</sup>	0,617**



### 4.3.2 Semiquantifizierung von Apoptosen im Corpus albicans

#### 4.3.2.1 Anzahl apoptotischer Zellen pro mm<sup>2</sup>

Abb. 48 stellt die Anzahl apoptotischer Zellen innerhalb der Innen- und Außenzone verschiedener Corpora albicantia pro mm<sup>2</sup> in Abhängigkeit von deren Alter dar. In der Innenzone in Stadium 8 konnten 29 apoptotische Zellen gemessen werden. In Stadium 9 sinkt der Median auf 6. Im Stadium 11 wurden keine apoptotischen Zellen gemessen. In der Außenzone in Stadium 8 wurden 17 apoptotische Zellen erfasst. In Stadium 9 fällt der Median zunächst auf 5 um dann in Stadium 10 wieder einen Wert von 12 zu erreichen. In Stadium 11 traten kaum noch apoptotischen Zellen auf.



**Abb. 48:** Vergleich der Anzahl apoptotischer Zellen pro mm<sup>2</sup> in der Innenzone (IZ) und Außenzone (AZ) in den Stadien des Corpus albicans

#### 4.3.2.2 Prozentualer Flächenanteil und Fläche apoptotischer Zellkerne

Vergleicht man den prozentualen Flächenanteil apoptotischer Zellkerne in der Außen- und Innenzone zwischen den verschiedenen Stadien des Corpus albicans, so sind keine signifikanten Änderungen zu beobachten. Bezüglich der Fläche apoptotischer Zellkerne in der Außen- und Innenzone sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Stadien des Corpus albicans festzustellen.

#### 4.3.2.3 Irrtumswahrscheinlichkeit „p“ für die untersuchten Variablen im Corpus albicans

Für alle mittels H-Test nach Kruskal und Wallis untersuchten Variablen im Corpus albicans war  $H_0$  anzunehmen (Tab. 13):

**Tab. 13:** H-Test nach Kruskal und Wallis

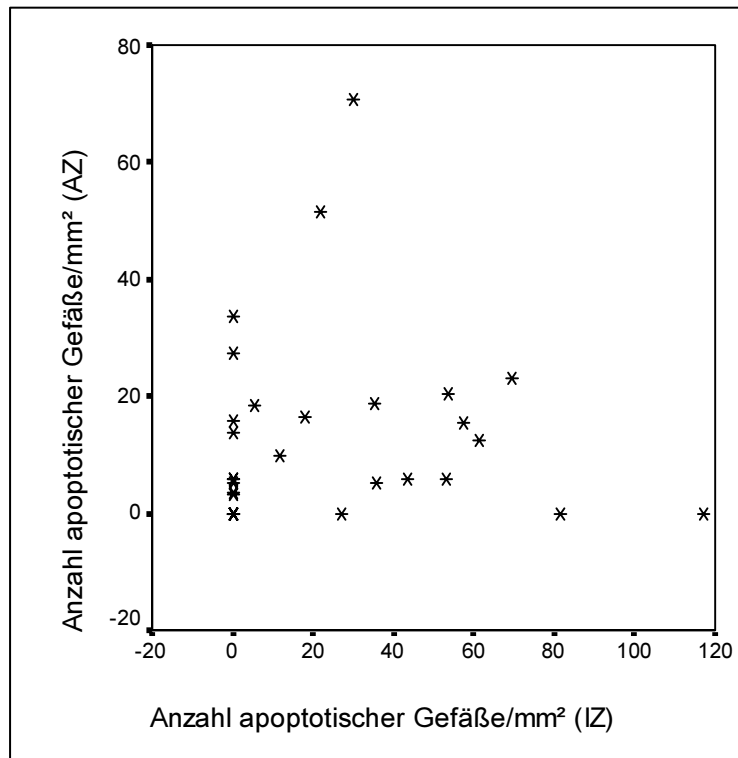
Untersuchte Variablen	Irrtumswahrscheinlichkeit p
Anzahl apoptotischer Zellen (Außenzone)	0.209
Flächenanteil apoptotischer Zellen (Außenzone)	0.241
Fläche apoptotischer Zellen (Außenzone)	0.282
Anzahl apoptotischer Zellen (Innenzone)	0.538
Flächenanteil apoptotischer Zellen (Innenzone)	0.437
Fläche apoptotischer Zellen (Innenzone)	0.175

#### 4.3.2.4 Korrelationen zwischen den Messwerten für die Außen- und Innenzone des Corpus albicans

Zwischen den im Corpus albicans untersuchten Merkmalen „Anzahl apoptotischer Zellen pro  $\text{mm}^2$  in der Außenzone“ und „Anzahl apoptotischer Zellen pro  $\text{mm}^2$  in der Innenzone“ besteht eine schwache positive Korrelation ( $r_s = 0,17$ ) (Abb. 49).

**Tab. 14:** Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ( $r_s$ )

Spearman ( $r_s$ )	Apoptotische Zellen/ $\text{mm}^2$ (AZ)
Apoptotische Zellen/ $\text{mm}^2$ (IZ)	0,17



**Abb. 49:** Anzahl apoptotischer Gefäße pro mm<sup>2</sup> in der Außenzone (AZ) des Corpus albicans in Abhängigkeit von der Anzahl apoptotischer Zellen pro mm<sup>2</sup> in der Innenzone (IZ) des Corpus albicans

#### 4.4 Immunolokalisation von VEGF, VEGF-R2 und Ang-2 im Corpus luteum

Zur immunhistochemischen Untersuchung der Lokalisation von VEGF, VEGF-R2 und Ang-2 im Gelbkörper wurden für Stadium 3, 4, 6 und 7 je elf Proben und für Stadium 5 fünf Proben genutzt. Stadium 1 und 2 konnten wegen der schlechten Differenzierbarkeit aufgrund der Vielzahl von Erythrozyten im mikroskopischen Blickfeld nicht ausgewertet werden. VEGF und VEGF-R2 konnten im Zytoplasma von Endothelzellen, Luteinzellen und vaskulären glatten Muskelzellen dargestellt werden. Die Ang-2-Nachweise gelangen im Zytoplasma von Endothelzellen und vaskulären glatten Muskelzellen.

#### 4.4.1 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Das Corpus luteum in Anbildung dominieren mit anti-VEGF markierte Luteinzellen im Bereich der nach der Ovulation eingefallenen Granulosazellschicht.

Im Corpus luteum in Blüte sind ca. 75% der Luteinzellen mit anti-VEGF markiert. Einzelne, häufig in Gruppen innerhalb des Zentrums angeordnete Luteinzellen sind intensiver markiert (Abb. 50).

Im frühen Regressionsgelbkörper finden sich im Vergleich zum Corpus luteum in Blüte ca. 20% weniger VEGF-positive Luteinzellen. Intensiver mit anti-VEGF markierte Luteinzellen sind im Randbereich des frühen Regressionsgelbkörpers zu sehen. Einzelne vaskuläre glatte Muskelzellen sind mit anti-VEGF markiert.

Der späte Regressionsgelbkörper ist durch VEGF-positive vaskuläre glatte Muskelzellen und Endothelzellen (Abb. 52 und 54) sowie vereinzelt auftretende VEGF-positive Luteinzellen gekennzeichnet.

In den Residualgelbkörpern ist ca. die Hälfte aller vaskulären glatten Muskelzellen mit anti-VEGF markiert.

In Blutgefäßnähe treten Makrophagen und Mastzellen mit intensiv gefärbten, intrazytoplasmatischen Granula auf (Abb. 56 und 57).

##### 4.4.1.1 Semiquantifizierung von VEGF im Corpus luteum

Abb. 62 veranschaulicht die Anzahl VEGF-positiver Zellen in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand des Corpus luteum.

##### Luteinzellen:

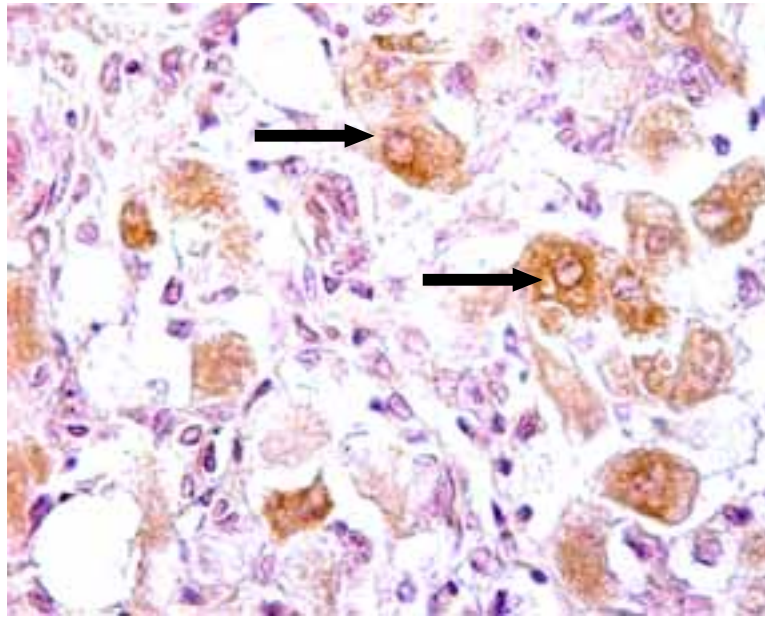
Die größte Anzahl VEGF-positiver Luteinzellen wurde in Stadium 3 gemessen. Mit Einsetzen der Luteolyse sinkt die Anzahl der mittels anti-VEGF markierten Luteinzellen auf die Hälfte. Im weiteren Verlauf der Regression verringert sich die Anzahl VEGF-positiver Luteinzellen nochmals um die Hälfte. Gegen Ende der Luteolyse wird das Minimum erreicht.

##### Vaskuläre glatte Muskelzellen:

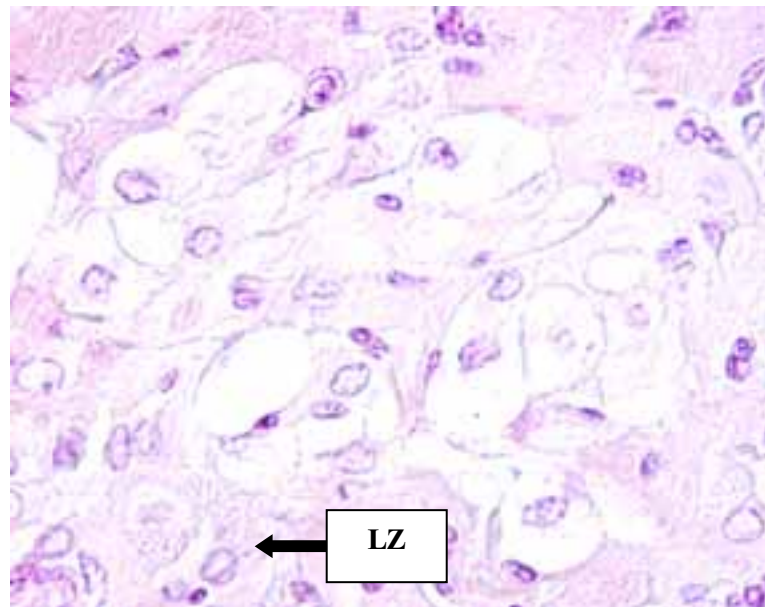
Das Corpus luteum in Blüte weist die geringste Anzahl VEGF-positiver vaskulärer glatter Muskelzellen auf. Mit Beginn der Regression verfünffacht sich die Anzahl der mittels anti-VEGF markierten, vaskulären glatten Muskelzellen. Demgegenüber ist gegen Ende der Regression eine Verringerung auf ein Sechstel festzustellen.

Endothelzellen:

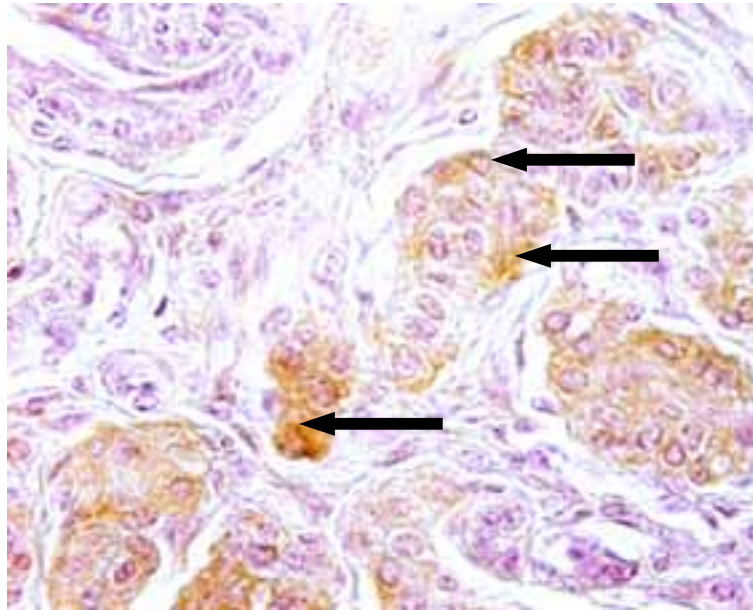
Die Anzahl VEGF-positiver Endothelzellen im frühen Regressionsgelbkörper ist doppelt so groß wie im Corpus luteum in Blüte. Die Anzahl markierter Endothelzellen im späten Regressionsgelbkörper entspricht der im Corpus luteum in Blüte. In Stadium 6 konnte mit Abstand die größte Anzahl mit anti-VEGF markierter Endothelzellen gezählt werden. In Stadium 7 ist hingegen ein Abfall auf ein Zehntel im Vergleich zu Stadium 6 zu beobachten.



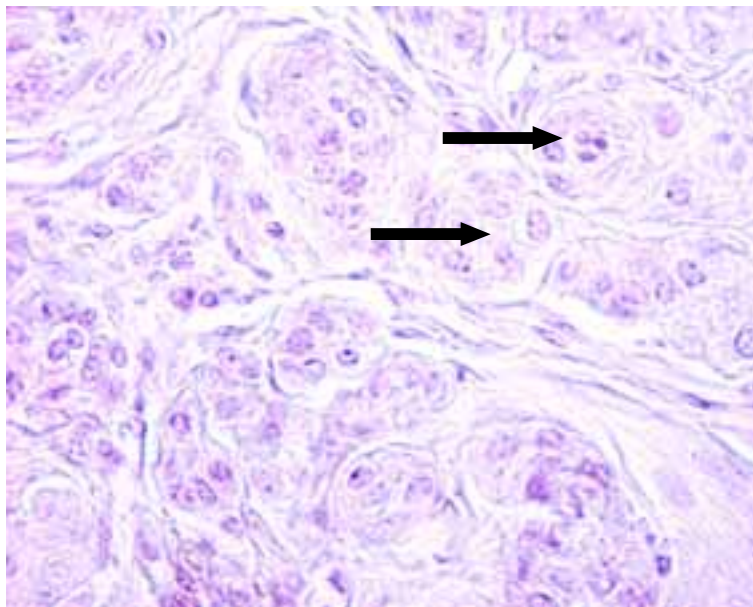
**Abb. 50:** Mit anti-VEGF markierte Luteinzellen (Pfeile) im Corpus luteum in Blüte; Vergrößerung 40 x



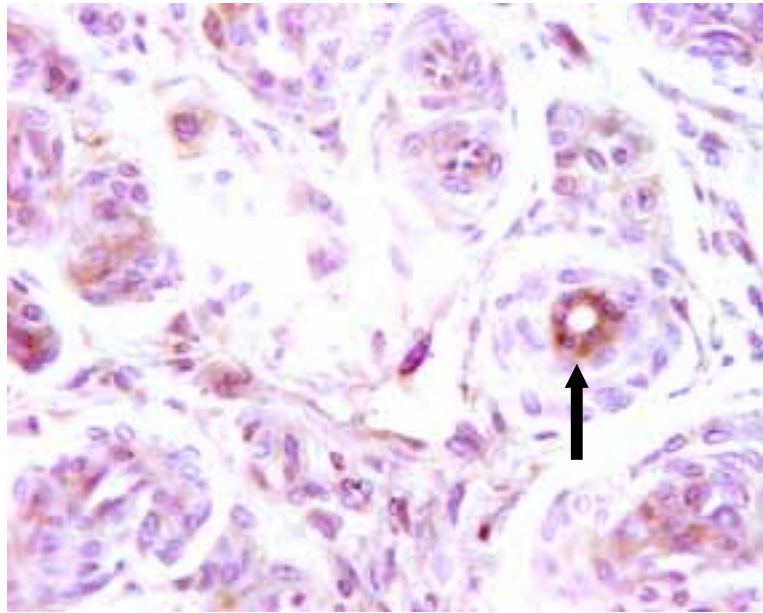
**Abb. 51:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Blüte; Luteinzelle (LZ); Vergrößerung 40 x



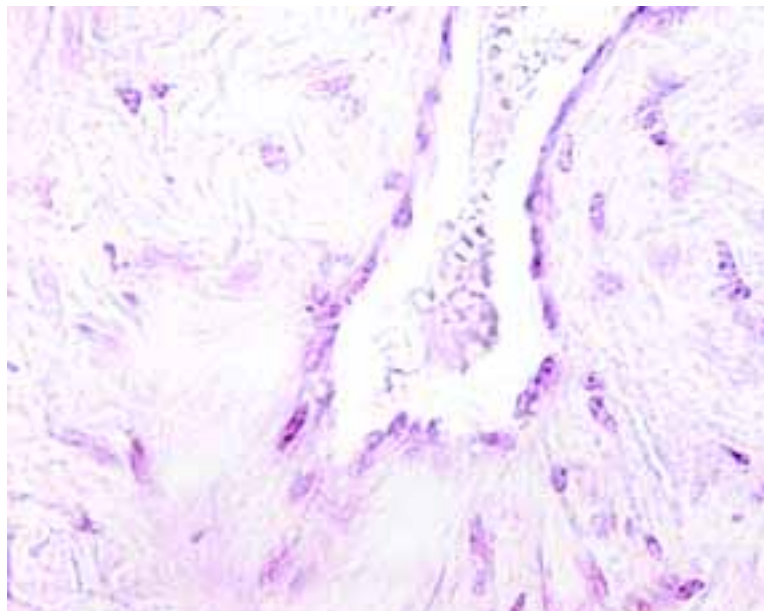
**Abb. 52:** Mit anti-VEGF markierte vaskuläre glatte Muskelzellen (Pfeile) im Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x



**Abb. 53:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Rückbildung; Arteriolen (Pfeile); Vergrößerung 40 x

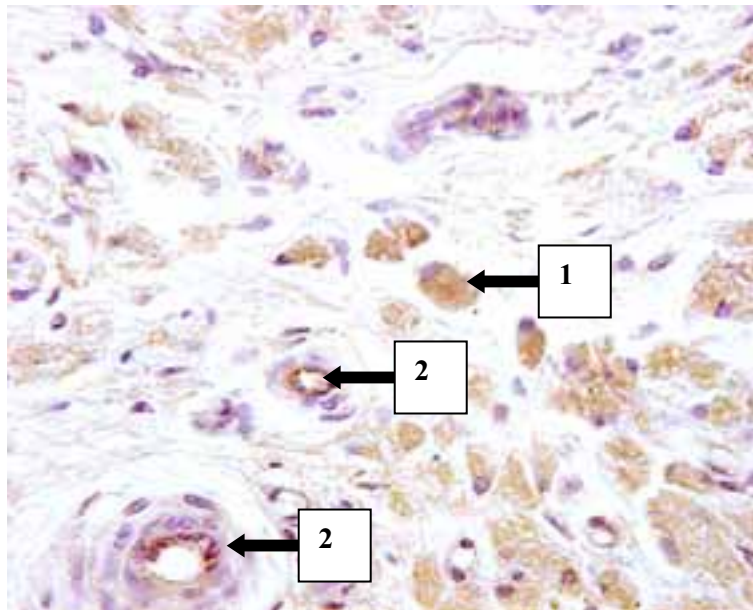


**Abb. 54:** Mit anti-VEGF markiertes Endothel (Pfeil) einer kontrahierten Arteriole im Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x

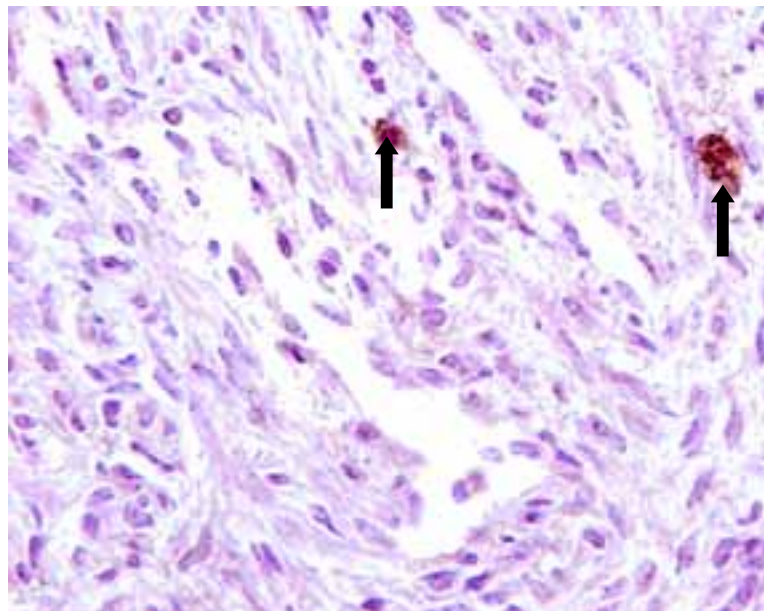


**Abb. 55:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Rückbildung; Arterie; Vergrößerung 40 x

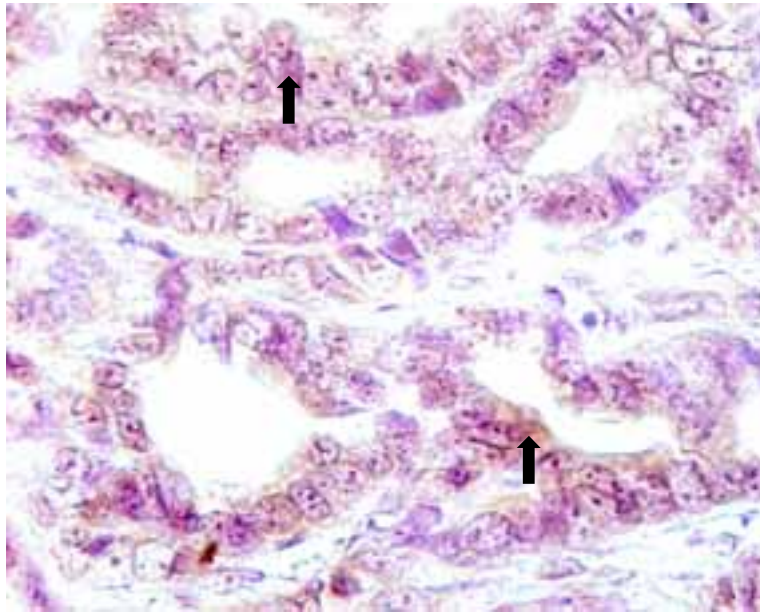




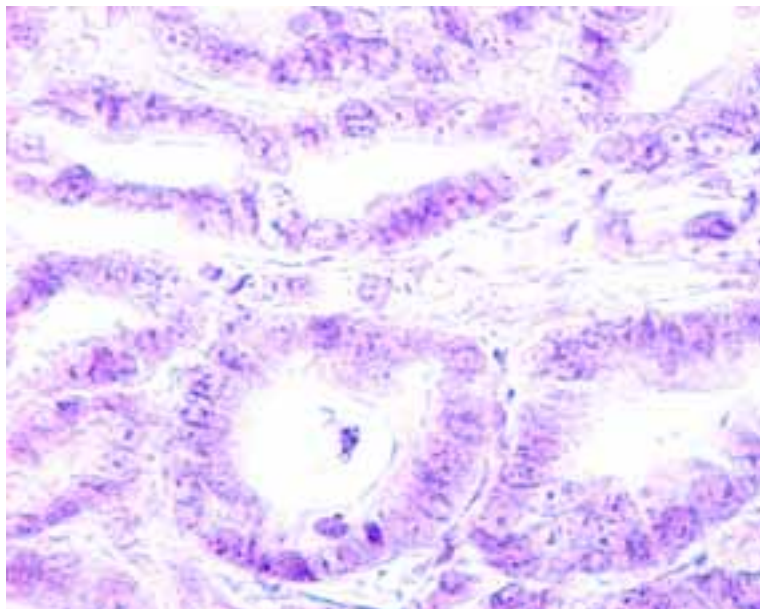
**Abb. 56:** Mit anti-VEGF markierter Makrophage (1) und Endothelzellen (2) im Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x



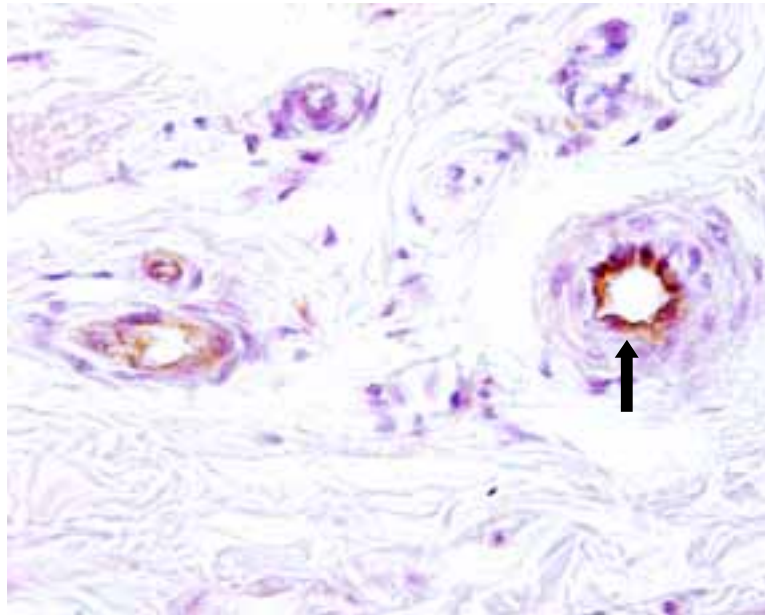
**Abb. 57:** Mit anti-VEGF markierte Mastzellen (Pfeile) im Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x



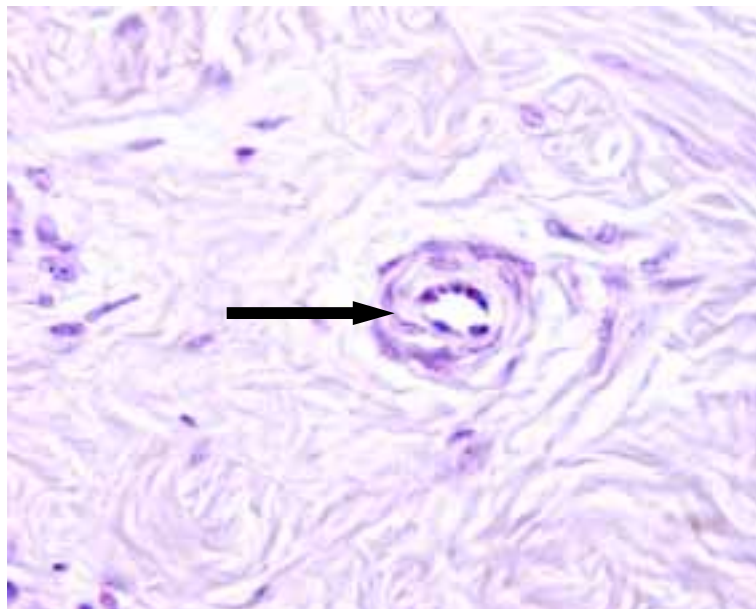
**Abb. 58:** Kontrolle: Mit anti-VEGF markierte Zellen (Pfeile) eines Kolonkarzinoms einer Ratte; Vergrößerung 40 x



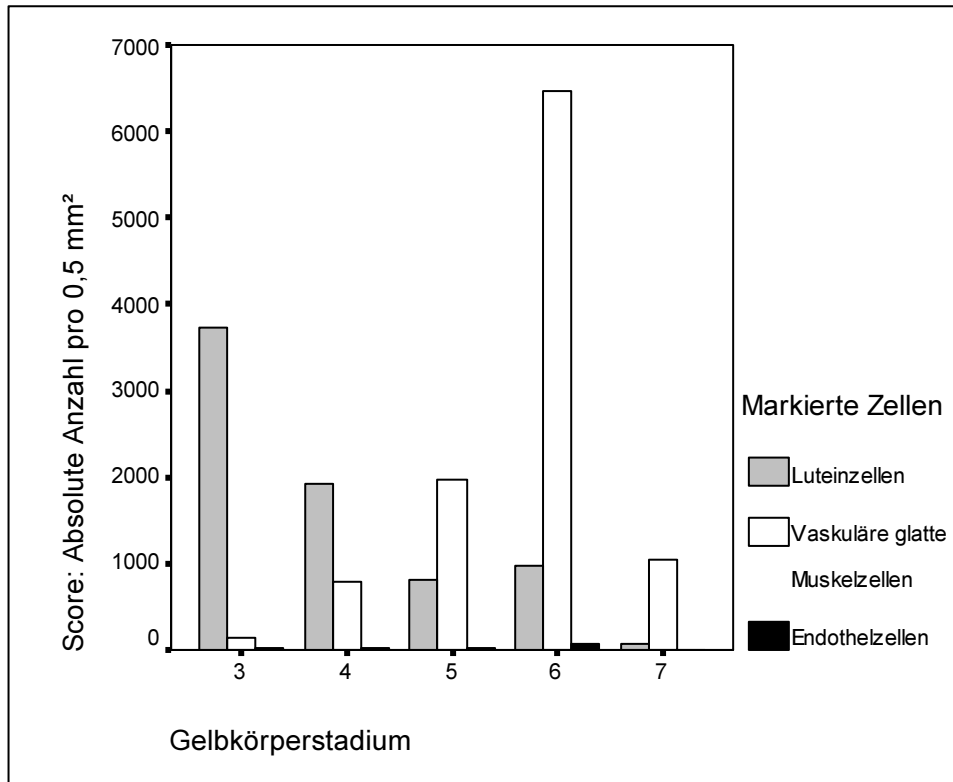
**Abb. 59:** Negativkontrolle: Kolonkarzinom einer Ratte; Vergrößerung 40 x



**Abb. 60:** Kontrolle: Mit anti-VEGF markiertes Endothel einer kontrahierten Arteriole (Pfeil) einer Rinderzitze; Vergrößerung 40 x



**Abb. 61:** Negativkontrolle: Arteriole einer Rinderzitze (Pfeil); Vergrößerung 40 x



**Abb. 62:** Vergleich der absoluten Anzahl VEGF-positiver Zellen pro 0,5 mm<sup>2</sup> Gelbkörperquerschnittsfläche in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

#### **4.4.2 Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGF-R2)**

Im Corpus luteum in Anblüte sind mit anti-VEGF-R2 markierte Granulosazellen, Endothelzellen und Mastzellen zu sehen.

Im Corpus luteum in Blüte sind insbesondere Lutein- und Endothelzellen VEGF-R2-positiv (Abb. 63 und 67). Glatte Muskelzellen der in bindegewebigen Septen des Corpus luteum enthaltenen, größeren Blutgefäße sind hingegen nur vereinzelt mit anti-VEGF-R2 markiert.

Im frühen und späten Regressionsgelbkörper sowie im frühen Residualgelbkörper dominieren VEGF-R2-positiv Endothelzellen und vaskuläre glatte Muskelzellen (Abb. 65). Mit anti-VEGF-R2 markierte Luteinzellen sind nur vereinzelt zu sehen.

Im späten Residualgelbkörper treten ausschließlich VEGF-R2-positiv Endothelzellen und vaskuläre glatte Muskelzellen auf. Markierte Luteinzellen sind nicht zu sehen.

##### **4.4.2.1 Semiquantifizierung von VEGF-R2 im Corpus luteum**

Abb. 71 zeigt die Anzahl mit anti-VEGF-R2 markierter Zellen in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand des Corpus luteum.

##### Luteinzellen:

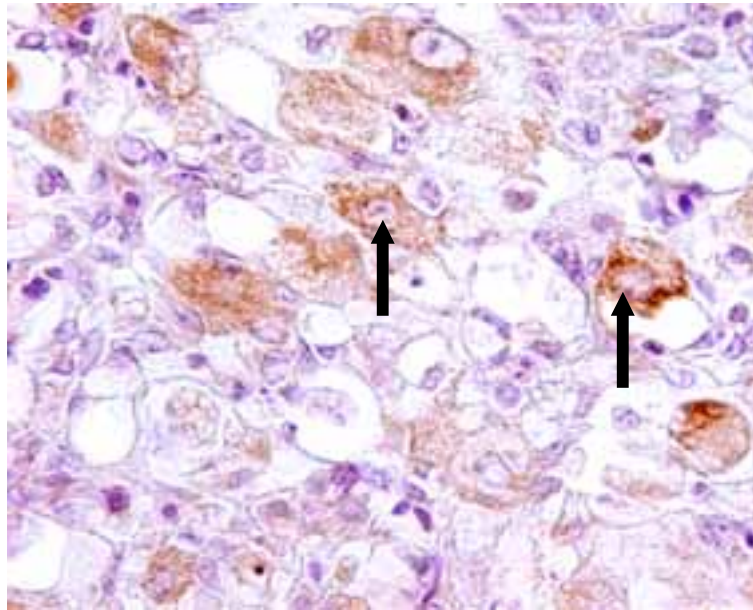
Die größte Anzahl VEGF-R2-positiver Luteinzellen konnte im Corpus luteum in Blüte gemessen werden. Zu Beginn der Luteolyse sinkt die Anzahl mit anti-VEGF-R2 markierter Luteinzellen auf ein Viertel. Im späten Regressionsgelbkörper erreicht die Anzahl VEGF-R2-positiver Luteinzellen das Minimum.

##### Vaskuläre glatte Muskelzellen:

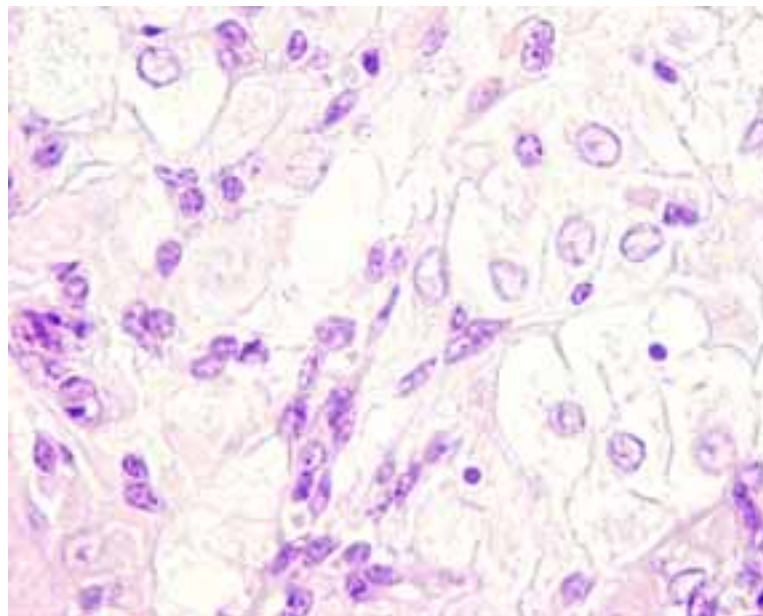
Die Anzahl VEGF-R2-positiver vaskulärer glatter Muskelzellen konnten in Stadium 5, 6 und 7 gemessen werden, wobei das Maximum in Stadium 6 erreicht wurde.

##### Endothelzellen:

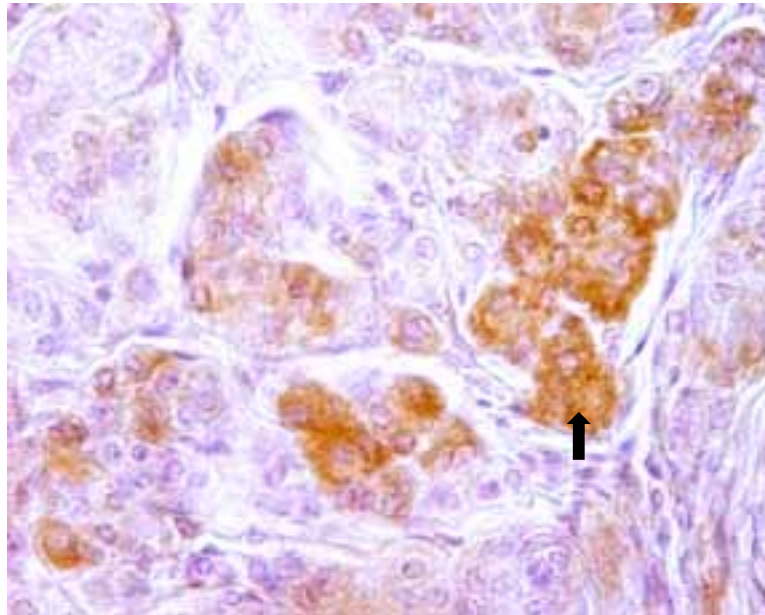
Im Corpus luteum in Blüte wurden pro mm<sup>2</sup> 103 mit anti-VEGF-R2 markierte Endothelzellen gemessen. Demgegenüber vervierfacht sich die Anzahl VEGF-R2-positiver Endothelzellen mit Einsetzen der Luteolyse. Im weiteren Verlauf der Regression sinkt die Anzahl auf 56,5 bzw. 42 mit anti-VEGF markierter Endothelzellen.



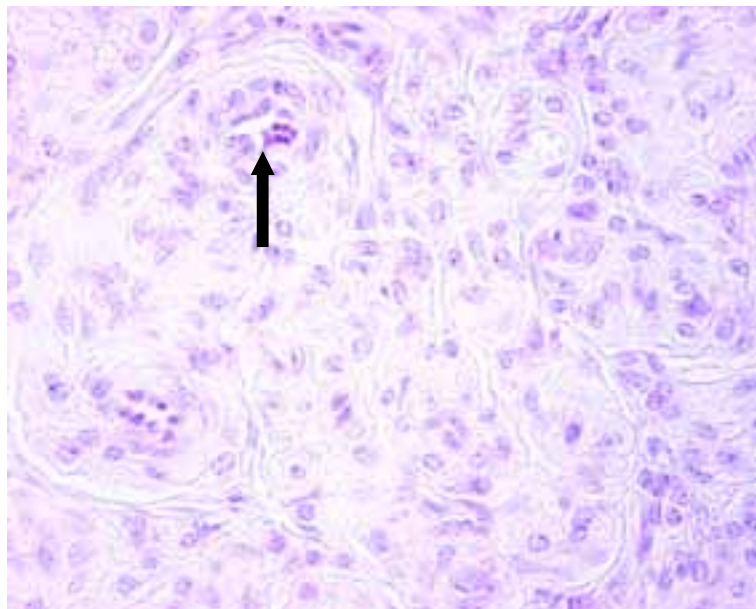
**Abb. 63:** Mit anti-VEGF-R2 markierte Luteinzellen (Pfeile) im Corpus luteum in Blüte; Vergrößerung 40 x



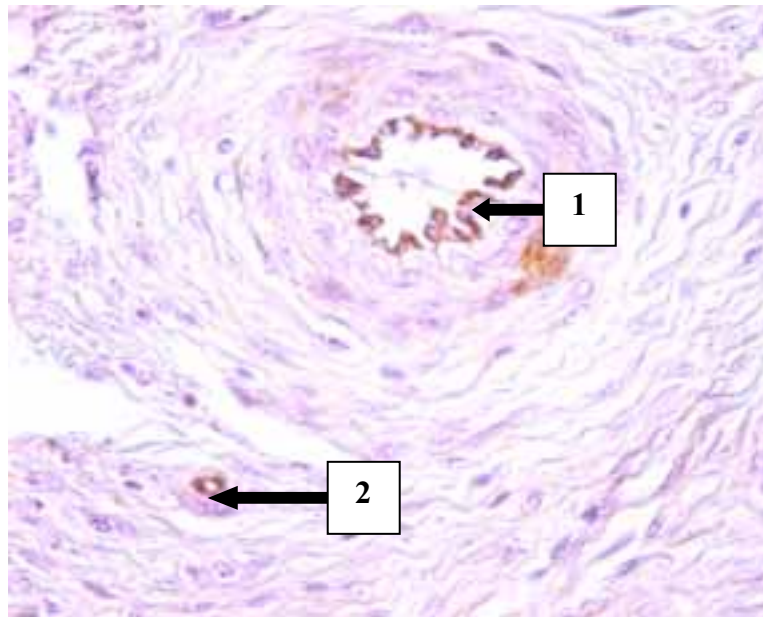
**Abb. 64:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Blüte; Luteinzelle (Pfeil); Vergrößerung 40 x



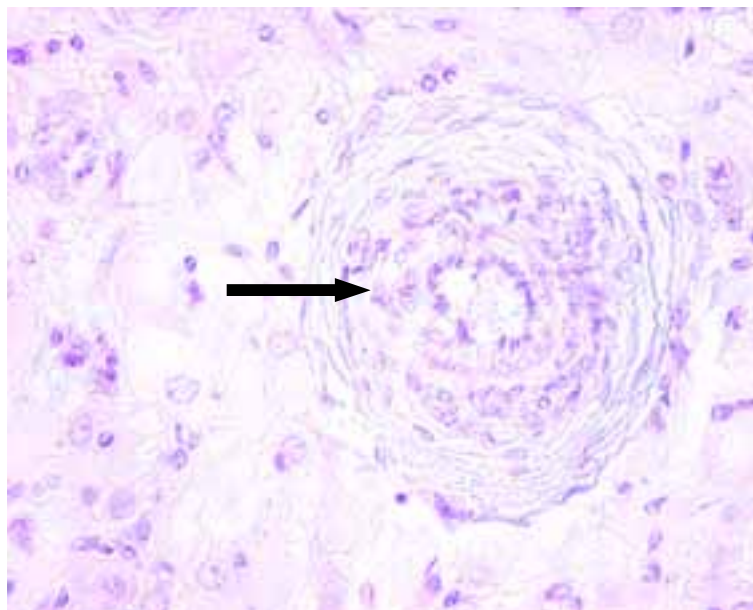
**Abb. 65:** Mit anti-VEGF-R2 markierte vaskuläre glatte Muskelzellen (Pfeil) im Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x



**Abb. 66:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Rückbildung; Arteriole (Pfeil); Vergrößerung 40 x

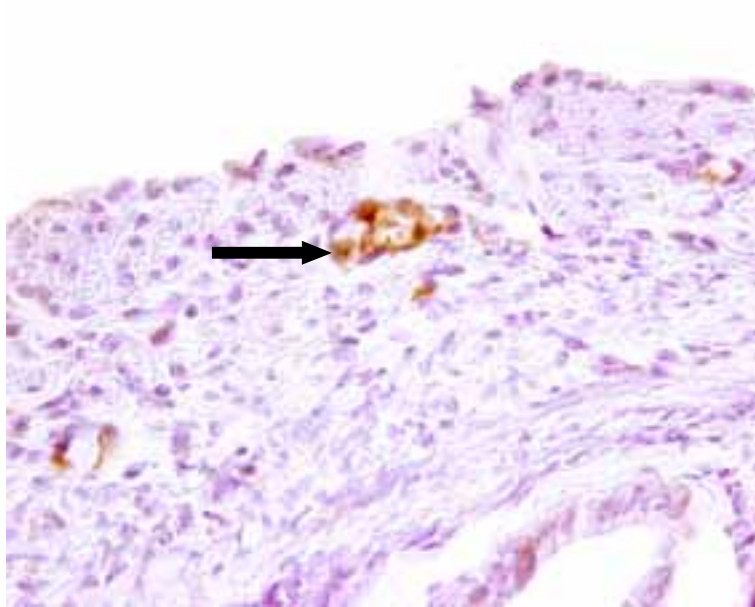


**Abb. 67:** Mit anti-VEGF-R2 markiertes Endothel einer Arteriole (1) und einer Kapillare (2) aus dem Corpus luteum in Rückbildung; Vergrößerung 40 x

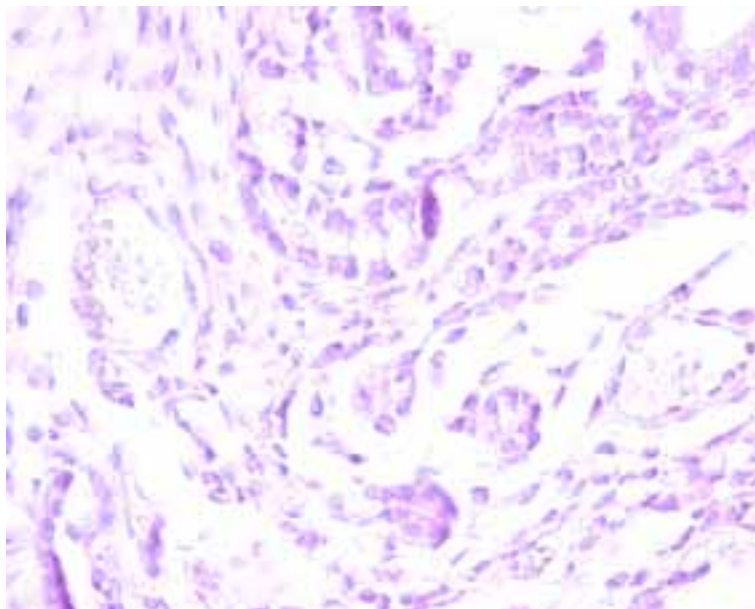


**Abb. 68:** Negativkontrolle: Corpus luteum in Rückbildung; Arterie (Pfeil); Vergrößerung 40 x

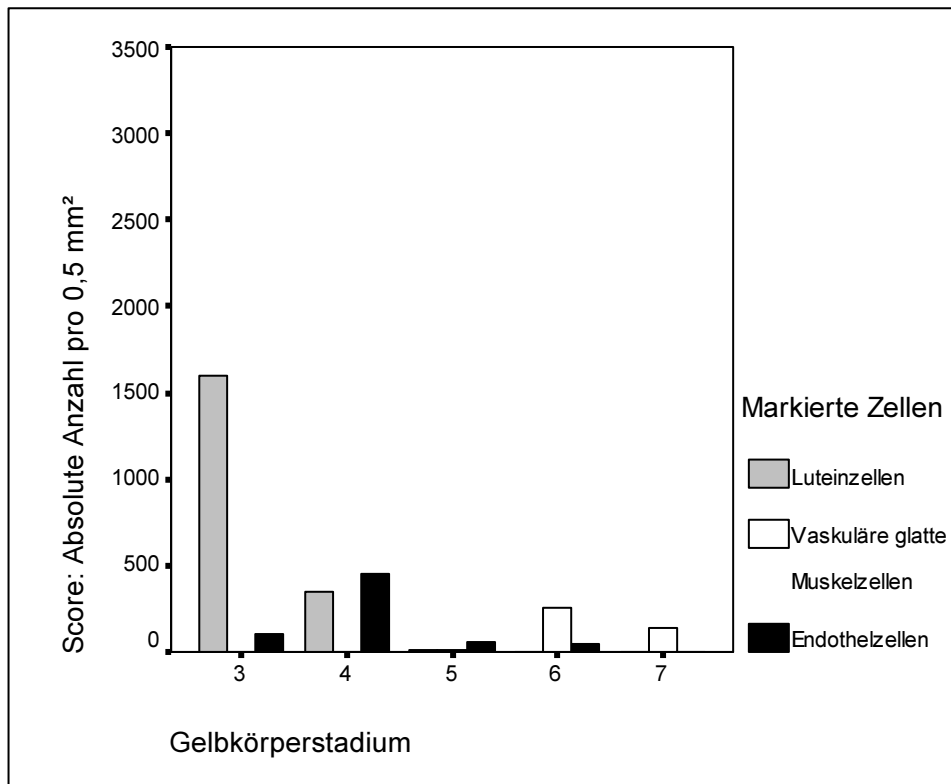




**Abb. 69:** Kontrolle: Mit anti-VEGF-R2 markierte Kapillare (Pfeil) im murinen Ovar; Vergrößerung 40 x



**Abb. 70:** Negativkontrolle: Murines Ovar; Vergrößerung 40 x



**Abb. 71:** Vergleich der absoluten Anzahl VEGF-R2-positiver Zellen pro 0,5 mm<sup>2</sup> Gelbkörperquerschnittsfläche in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

### 4.4.3 Angiopoietin-2 (Ang-2)

Im Corpus luteum in Anbildung werden Granulosazellen mit anti-Ang-2 markiert.

Im Corpus luteum in Blüte sind Ang-2-positive Endothelzellen, Luteinzellen, einzelne vaskuläre glatte Muskelzellen und Mastzellen zu sehen.

Im Corpus luteum in Rückbildung treten mit anti-Ang-2 markierte, vaskuläre glatte Muskelzellen und Makrophagen auf. Die äußeren Lagen vaskulärer glatter Muskelzellen sind dabei intensiver mit anti-Ang-2 markiert als die innen liegenden Schichten.

#### 4.4.3.1 Semiquantifizierung von Ang-2 im Corpus luteum

Abb. 74 stellt die Verteilung der mit anti-Ang-2 markierten Zellen in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand des Corpus luteum dar.

##### Luteinzellen:

Ang-2-positive Luteinzellen konnten in Stadium 3, 4 und 5 gemessen werden, wobei das Maximum zu Beginn der Luteolyse zu beobachten war.

##### Vaskuläre glatte Muskelzellen:

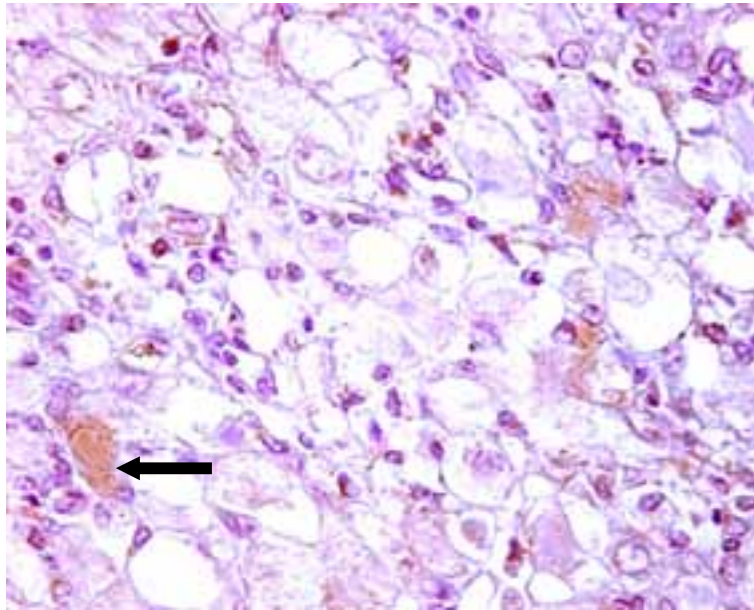
Die Anzahl mit anti-Ang-2 markierter vaskulärer glatter Muskelzellen ist im Corpus luteum in Blüte und zu Beginn der Luteolyse am geringsten.

Im späten Regressionsgelbkörper konnten 1192 Ang-2-positive vaskuläre glatte Muskelzellen je mm<sup>2</sup> gemessen werden.

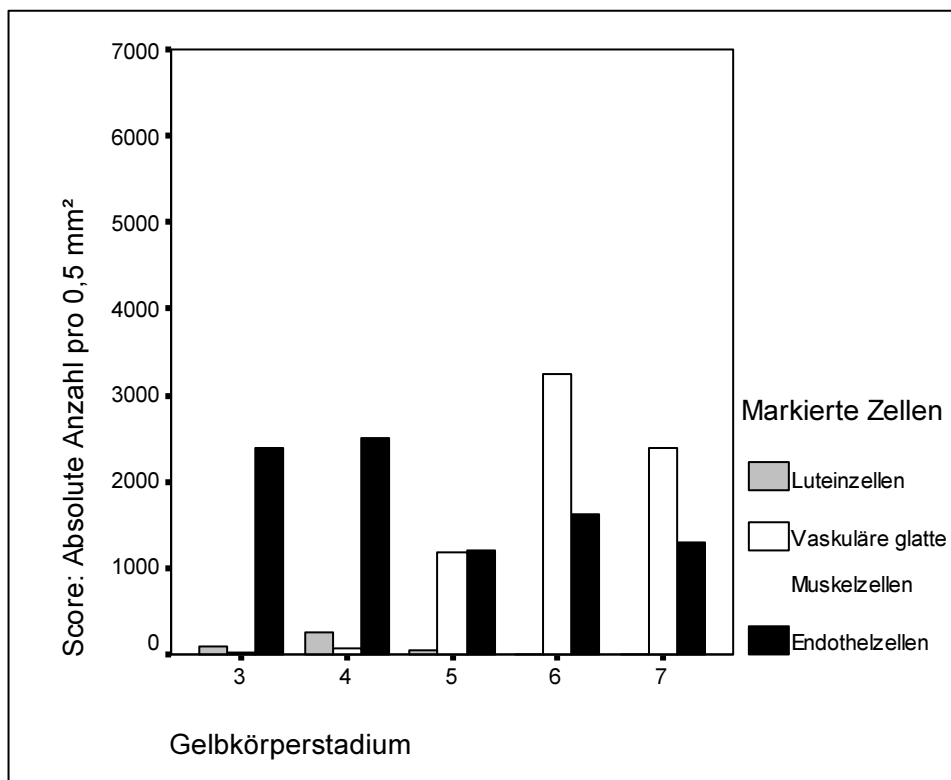
Im frühen Residualgelbkörper beträgt die Anzahl Ang-2-positiver vaskulärer glatter Muskelzellen je mm<sup>2</sup> 3236 und im späten Residualgelbkörper 2399.

##### Endothelzellen:

Im Corpus luteum in Blüte konnten 2382, zu Beginn der Luteolyse 2506 Ang-2-positive Endothelzellen gemessen werden. Demgegenüber sank die Anzahl mit anti-Ang-2 markierter Endothelzellen im weiteren Verlauf auf 1196 bzw. 1616,5 bzw. 1291 Ang-2-positive Endothelzellen je mm<sup>2</sup>.



**Abb. 72:** Mit anti-Ang-2 markierte Luteinzelle (Pfeil) im Corpus luteum in Blüte; Vergrößerung 40 x



**Abb. 74:** Vergleich der absoluten Anzahl Ang-2-positiver Zellen pro 0,5 mm<sup>2</sup> Gelbkörperquerschnittsfläche in den verschiedenen Stadien des Corpus luteum

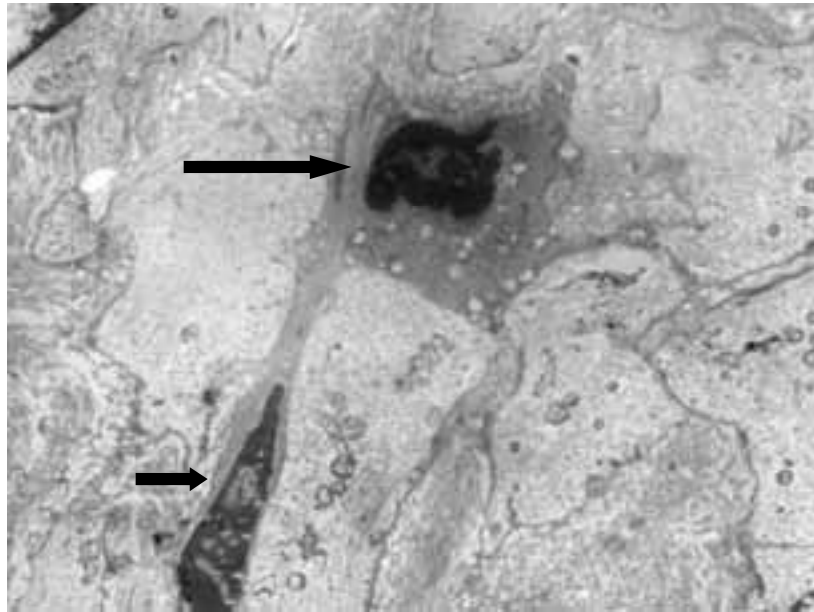
#### **4.5 Elektronenmikroskopische Analyse der Gefäßrückbildung während der Luteolyse**

Die ultrastrukturelle Untersuchung zeigt, dass Endothelzellen aus dem Corpus luteum in Anbildung nur über wenig raue endoplasmatische Retikuli und Golgiapparate, aber zahlreiche Polyribosomen und freie Ribosomen verfügen. Die luminalen Seiten sind übersät von Mikrovilli. Die zumeist euchromatischen Zellkerne zeigen wenig kondensiertes Chromatin, das meist an der Kernmembran lokalisiert ist.

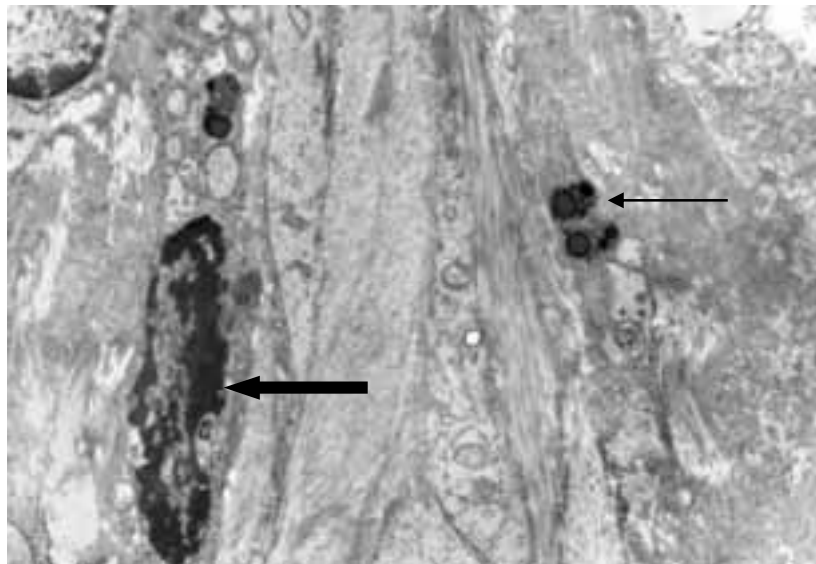
Die Endothelzellen aus dem Corpus luteum in Blüte unterscheiden sich von den Endothelzellen aus dem Corpus luteum in Anbildung in erster Linie durch die Erhöhung der Anzahl rauer endoplasmatischer Retikuli.

Demgegenüber sind die Endothelzellen aus dem Corpus luteum in Rückbildung durch eine Verringerung der Ribosomenanzahl, erweiterte Zisternen der endoplasmatischen Retikuli sowie einer Zunahme des Heterochromatins gekennzeichnet.

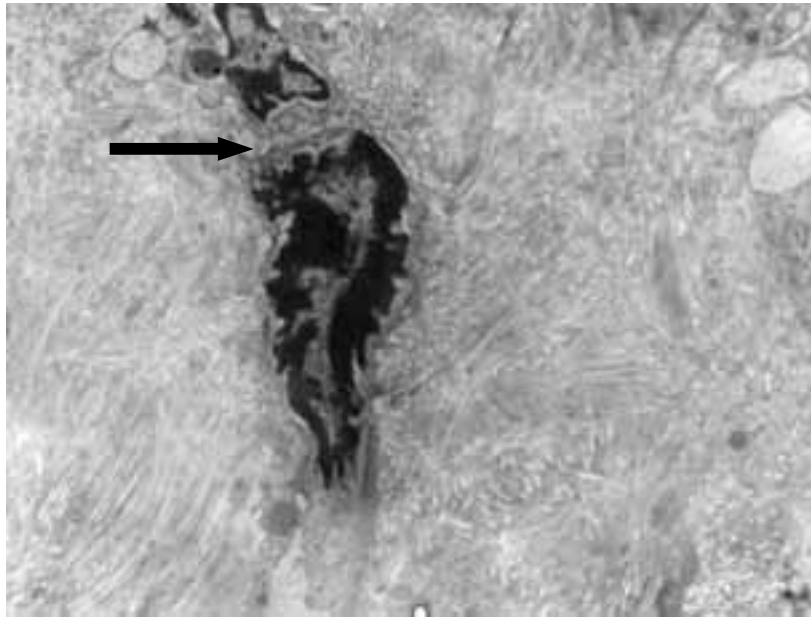
Erste Anzeichen apoptotischer Vorgänge sind schrumpfende Endothelzellen während der Luteolyse, die aus dem Zellverband gelöst werden und sich abrunden (Abb. 75). Wie bei der Zellmembran kommt es auch in der Kernmembran zu morphologischen Veränderungen ohne Integritätsverlust. Infolge der Proteolyse der Kernlamina kommt es zu einer Umstrukturierung der Kernporen. Wie in Abbildung 76 zu sehen, kondensiert das Chromatin und lagert sich an der Kernmembran an. Im weiteren Verlauf kommt es zur Fragmentierung des Zellkerns (Abb. 77). Einer der letzten apoptotischen Vorgänge ist die Bildung der so genannten Apoptosekörperchen (Abb. 77). Es handelt sich dabei um Reste der apoptotisch zugrunde gehenden Zelle, die noch von einer Zellwand umgeben sind.



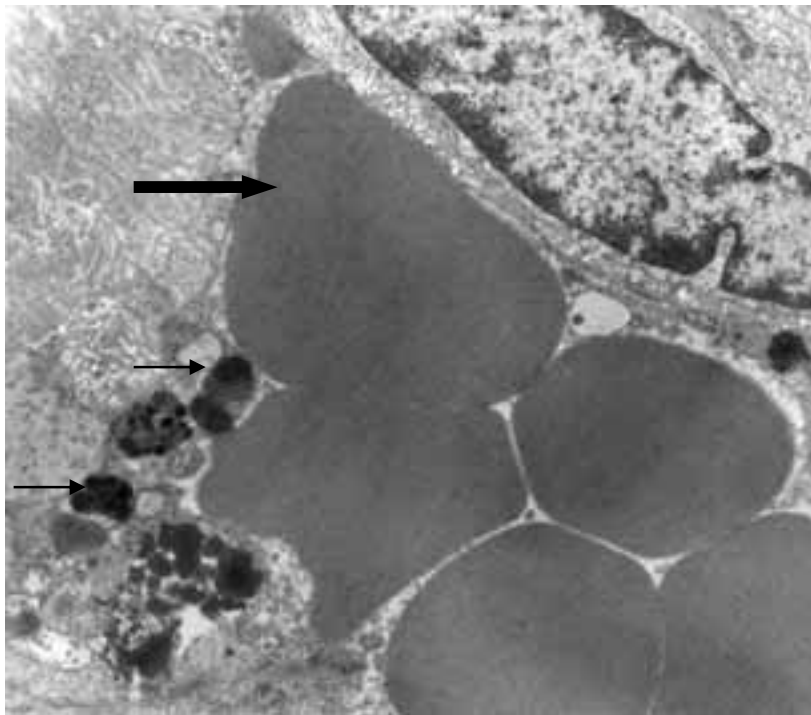
**Abb. 75:** Sich abrundende Endothelzelle (Pfeil) und intakte lang gestreckte Endothelzelle (kurzer Pfeil) im Corpus luteum in Rückbildung; TEM 4200 x



**Abb. 76:** Kondensation eines endothelialen Zellkerns (Blockpfeil) und Apoptosekörperchen (Pfeil) im Corpus luteum in Rückbildung; TEM 4200 x



**Abb. 77:** Fragmentierung eines endothelialen Zellkerns (Pfeil) im Corpus luteum in Rückbildung; TEM 4200 x



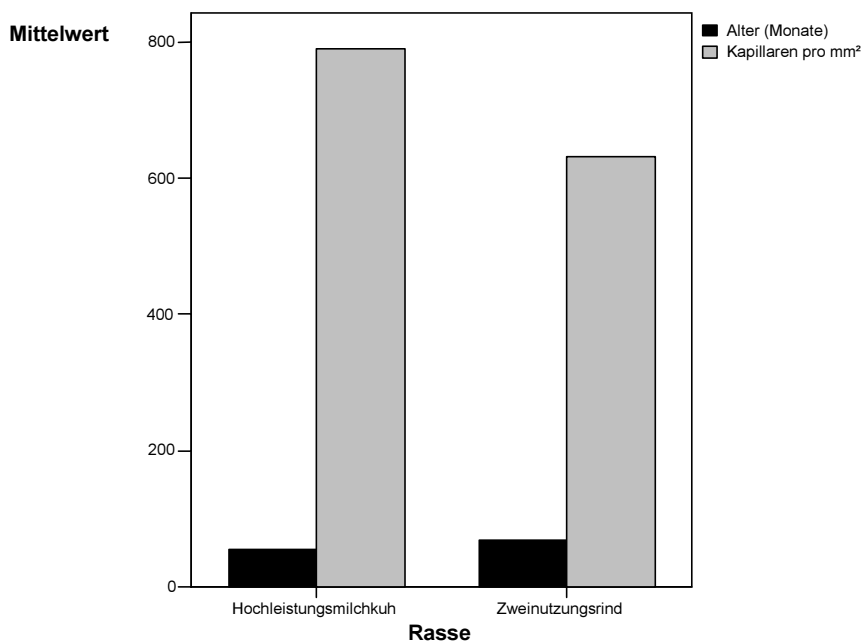
**Abb. 78:** Endothelzelle aus dem bovinen Corpus luteum in Rückbildung; „Apoptosekörperchen“ (Pfeile) und Erythrozyt (Blockpfeil); TEM 5000 x

#### 4.6 Quantifizierung wichtiger Parameter der lutealen Angiogenese bei Hochleistungskühen und Kühen, die Zweinutzungsrasen angehören

Morphometrisch analysiert wurden folgende Parameter: Kapillaranzahl pro  $\text{mm}^2$ , prozentualer Flächenanteil der Kapillaren und die interkapilläre Distanz in  $\mu\text{m}$ . Dargestellt sind die Mittelwerte verschiedener Gelbkörperstadien von zwanzig Hochleistungsmilchkühen und 5 Kühen, die zu Zweinutzungsrasen zu zählen sind.

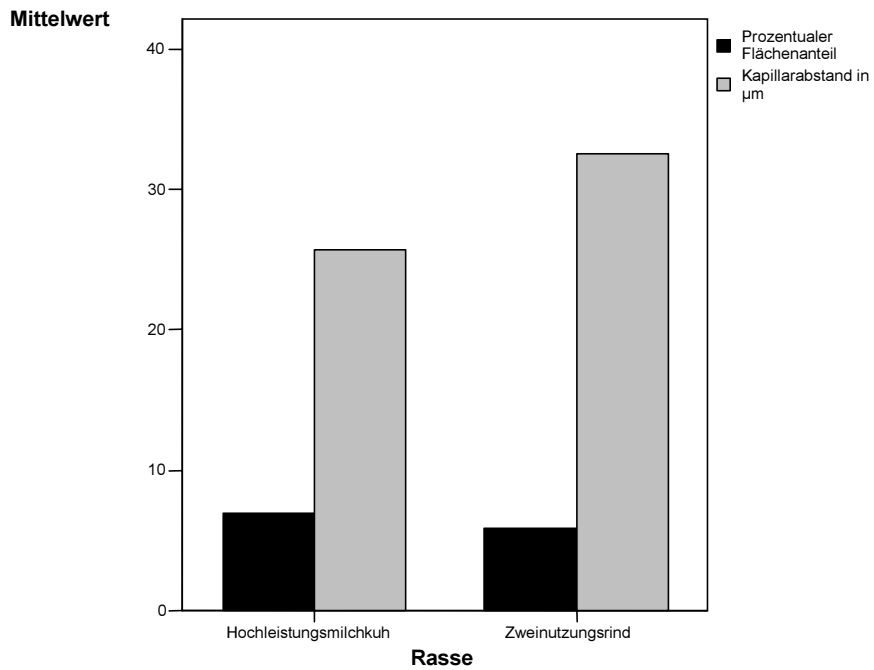
Die Hochleistungsmilchkühe waren bei der Schlachtung im Durchschnitt 55 Monate alt. Pro  $\text{mm}^2$  Querschnittsfläche des Corpus luteum konnten durchschnittlich 789 Kapillaren gemessen werden (Abb. 80). Der kapilläre Flächenanteil betrug 7% und die interkapilläre Distanz 25  $\mu\text{m}$  (Abb. 81).

Die zu den Zweinutzungsrasen zählenden Tiere erreichten bei der Schlachtung ein Alter von durchschnittlich 67 Monaten. Pro  $\text{mm}^2$  Gelbkörper-Querschnittsfläche wurden nur 630 Kapillaren gezählt (Abb. 80). Der kapilläre Flächenanteil umfasste 5,9%. Der Abstand zwischen zwei Kapillaren betrug 32  $\mu\text{m}$  (Abb. 81).



**Abb. 80:** Durchschnittliches Alter in Monaten und durchschnittliche Kapillaranzahl pro  $\text{mm}^2$  in den verschiedenen Gelbkörperstadien bei Hochleistungsmilchkühen und Zweinutzungsstieren.





**Abb. 81:** Durchschnittlicher prozentualer Flächenanteil der Kapillaren und durchschnittlicher Kapillarabstand in  $\mu\text{m}$  in den verschiedenen Gelbkörperstadien bei Hochleistungsmilchkühen und Zweinutzungsrindern.