Verh. Anat. Ges. 77, S. 427–429 (1983)

B. Fischer, H.-W. Denker*, H. M. Beier und H. J. Gerdes*

Abteilung Anatomie und Reproduktionsbiologie und *Abteilung Anatomie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

Der Umbau der extrazellulären Blastozystenhüllen als ein empfindlicher Indikator für unphysiologische Milieubedingungen in der In-vitro-Kultur[1])

Während der Präimplantationsperiode des Kaninchens kommt es zu einem charakteristischen Umbau an den extrazellulären Hüllen des Kaninchenembryos (Denker und Gerdes 1979; Gerdes und Denker 1979) (Abb. 1). Während der Eileiterpassage erfolgt die Auflagerung der Mukoproteidschicht (M) auf die Zona pellucida (Z), die beim Übertritt des Embryos vom Eileiter in den Uterus ihre relativ größte Dicke aufweist, die anschließend, während der Blastozystenexpansion, stetig im Durchmesser abnimmt (Ströbele et al. 1981). Um den 4. Tag p. c. beginnt der morphologisch nachweisbare Abbau der Zona pellucida. Ca. 1 bis 2 Tage später ist an der Stelle im perivitellinen Raum, der bisher von der Zona pellucida eingenommen wurde, eine neue Schicht nachweisbar, die sogenannte Neozona. Schließlich kommt es ab dem 6. Tag p. c. an der an das Uteruslumen angrenzenden Seite der Mucoproteidschicht zur Anlage des Glöolemmas.

Ziel unserer Untersuchungen war es, diesen Hüllenumbau in einem nichtuterinen Milieu zu beobachten, um festzustellen, inwieweit uterine Faktoren an diesen Umbauvorgängen beteiligt sind. Hierzu wurden 3, 4, 5 und 6 Tage alte Kaninchenembryonen gewonnen und 12 bis 48 Std. lang in vitro kultiviert. Die Proteinquelle war 1,5 % Rinderserumalbumin in BSM II. Das Medium wurde auf *p*H 7,4 und 280 mosm eingestellt. Die Kultur erfolgte bei 5 % CO_2 in Luft. Nach den entsprechenden Kulturzeiten wurden die Embryonen fixiert und für die Elektronenmikroskopie eingebettet. Die nun im folgenden beschriebenen Ergebnisse wurden lichtmikroskopisch an Semidünnschnitten gewonnen.

Es zeigte sich, daß bei den jüngsten Embryonen, die als Morulae oder junge Blastozysten gewonnen wurden und die sich in vitro zu expandierenden Blastozysten entwickelten, die Hüllenumwandlung dieser Weiterentwicklung nicht entsprach: Der Zona pellucida-Abbau blieb aus (Abb. 2) oder lief nur höchst unvollständig ab. Dieser Befund gibt uns eine Erklärungsmöglichkeit für die von uns bereits früher beschriebene Störung der Blastozystenexpansion in vitro (Beier 1978; Fischer et al. 1981a, 1981b). Die verbleibende Zona pellucida führt offensichtlich zu einer starren Einfassung der Blastozyste und dadurch zu einem massiven Expansionshindernis.
Bei den zu Kulturbeginn 4 Tage alten Embryonen stockt während der sich bis über die nächsten 2 Tage erstreckenden Kultur der Abbau der Zona pellucida. Der perivitelline Raum (PVR) zwischen Trophoblast (T) und Mukoproteidschicht (M) ist entweder lichtmikroskopsch leer oder weist Zona pellucida-Restbezirke (ZpR) als Überbleibsel des in utero begonnenen aber in vitro nicht vollendeten Zona pellucida-Abbaues auf (Abb. 3). Unseren Beobachtungen zufolge beeinträchtigen diese Reststückchen die Blastozystenexpansion nicht, da wir bei Embryonen dieses Alters die beschriebenen Fehlentwicklungen, wie z. B. die sogenannten Trophoblasthernien, bisher nicht beobachten konnten.

---

[1]) gefördert mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft, SPP „Biologie und Klinik der Reproduktion“

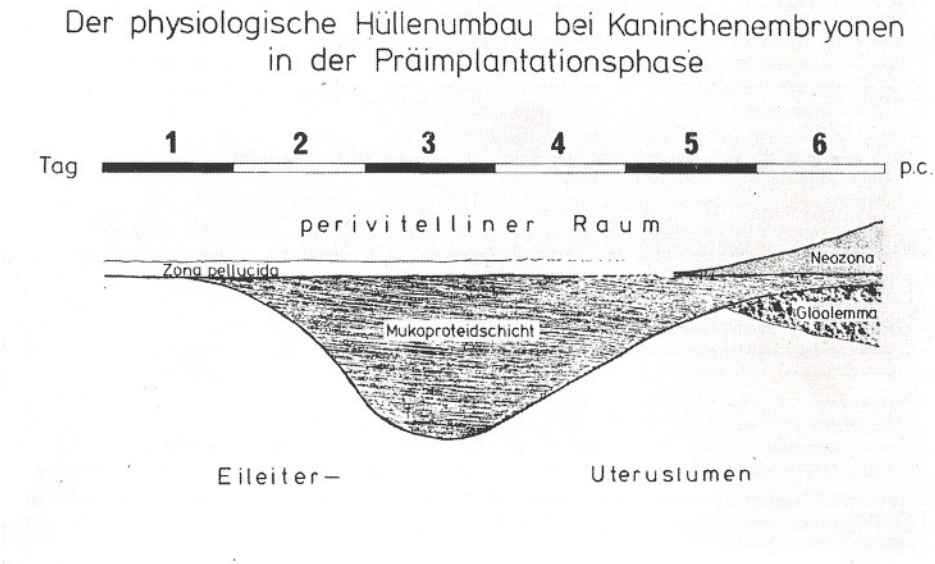

Abb. 1.

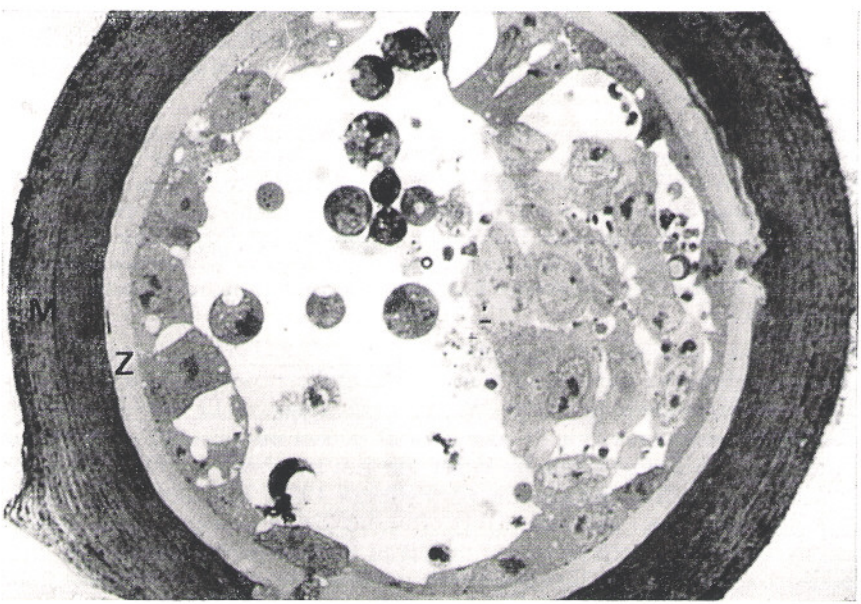

Abb. 2. M = Mukoproteidschicht, Z = Zona pellucida.

Neben dem Abbau der Zona pellucida galt der Bildung der Neozona unser Hauptinteresse. Diese war weder bei 5 Tage alten Embryonen noch bei einem Tag älteren Blastozysten – letztere hatten bereits in utero erste Schichten der Neozona angelegt – in vitro feststellbar. Statt dessen fanden wir wiederholt eine zum Teil starke Ansammlung eines homogen strukturierten Materials im perivitellinen Raum. Dieses Material könnte Vorstufen der Neozona sein, dessen Strukturierung jedoch unterbleibt.

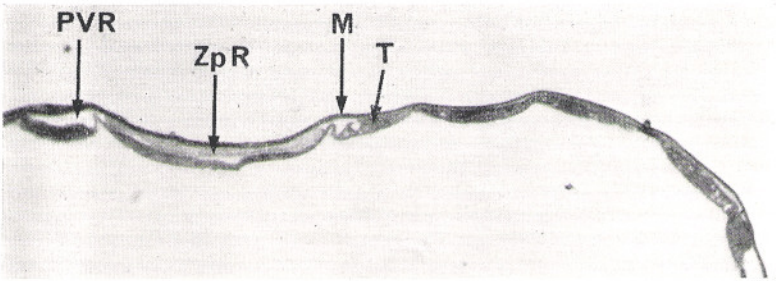

Abb. 3.

Diese Befunde sind für uns eine wichtige Bestätigung dafür, daß uterine Faktoren für die präimplantatorische Normalentwicklung von Kaninchenembryonen essentiell sind. Mit der gestörten Umwandlung der extrazellulären Embryonalhüllen in vitro, die wir als Beeinträchtigung des Zona pellucida-Abbaues einerseits und der Neozona-Bildung andererseits genau spezifizieren können, verfügen wir über einen aussagefähigen Marker, der uns bei der Kennzeichnung der Bedeutung uteriner Faktoren in der Frühschwangerschaft von großer Hilfe sein wird.

Literatur

Beier, H. M.: In Novel Aspects of Reproductive Physiology, Ed. C. H. Spilman, J. W. Wilks, SP Medical & Scientific Books, New York, London 1978

Denker, H.-W., Gerdes, H.-J.: Anat. Embryol. **157**, 15–34 (1979)

Fischer, B., Mootz, U., Barbour, J. C., Jung, E. M. A., Beier, H. M.: Anat. Anz. Jena **149**, 85–86 (1981a)

Fischer, B., Mootz, U., Beier, H. M.: 3rd World Congress of Human Reproduction, Berlin 1981b, Abstraktband S. 229

Gerdes, H.-J., Denker, H.-W.: Verh. Anat. Ges. **73**, 427–434 (1979)

Ströbele, R., Fischer, B., Beier, H. M.: 3rd World Congress of Human Reproduction, Berlin 1981, Abstraktband S. 210

Anschrift: Dr. B. Fischer, Abteilung Anatomie und Reproduktionsbiologie der RWTH Aachen, Melatener Straße 211, D - 5100 Aachen.