

Tabelle I. Degenerationsraten von präimplantierten Ratteneiern

| Stadien der Normalentwicklung |  | Anzahl Ratten | Gesamtzahl gewonnener Eier | Gesamtzahl degenerierter Eier | %    | Degenerierte Eier befinden sich in den folgenden Entwicklungsstadien |
|-------------------------------|--|---------------|----------------------------|-------------------------------|------|--|
| I                             | 10–30 h<br>Imprägnation bis 1. Segmentationsschritt  | 25            | 263                        | 5                             | 1,9  | alle 1-Zell-Stadien  |
| II                            | 31–55 h<br>Intervall bis zum 2. Segmentationsschritt | 14            | 160                        | 1                             | 0,6  | 1-Zell-Stadien   |
| III                           | 56–70 h<br>2. Segmentationsschritt                   | 26            | 300                        | 19                            | 6,3  | 8 × 2/1 × 3/7 × 4  |
| IV                            | 71–90 h<br>3. und 4. Segmentationsschritt            | 14            | 160                        | 16                            | 10,0 | 1 × 4/2 × 6/3 × 8  |
| V                             | 91–100 h<br>Blastozyste                              | 6             | 58                         | 2                             | 3,4  | 16-Zell-Stadien  |
| Total                         |  | 85            | 941                        | 43                            | 4,6  |  |

Tabelle II. Vergleich der Stadien mit Hilfe des *t*-Tests (Signifikanzschranke 1% (= 0,01))

| Vergleich von Stadium | Anzahl Messungen = Anzahl Eier | gefordertes <i>t</i> -Wert nach Tabelle | gefunderer <i>t</i> -Wert | Ergebnis    |
|-----------------------|--------------------------------|---|---------------------------|-------------|
| II/III                | 460                            | 2,58                                    | 3,75                      | signifikant |
| II/IV                 | 460                            | 2,58                                    | 2,86                      | signifikant |
| I/IV                  | 423                            | 2,58                                    | 3,72                      | signifikant |

Die anderen Verhältniszahlen erreichen die Signifikanzschranke nicht.

dass in der Periode zwischen dem 1. und dem 2. Segmentationsschritt die Zahl der degenerierten Eier fast auf Null absinkt, hingegen beim 2. und 3. Teilungsschritt erheblich ansteigt.

Werden die Unterschiede zwischen den verschiedenen Prozentsätzen degenerierter Eier mit Hilfe des *t*-Tests statistisch geprüft, so erhalten wir die in der Tabelle II dargestellten Ergebnisse. Die Degenerationsrate in der Zeitspanne bis und mit der 1. Teilung (I) ist verglichen mit derjenigen des anschliessenden Intervalls (II) nicht signifikant. Hingegen sind die Werte der folgenden Teilungsschritte (III, IV) bezogen sowohl auf das Intervall (II) wie auf die erste Teilung (I) signifikant grösser.

**Diskussion.** Die Gründe, die zu einer Fehlentwicklung der Eier im Normaltier führen, sind nicht bekannt. Für die frühzeitig in der Entwicklung degenerierten Eier liegt wahrscheinlich ein Defekt im Meioseablauf vor. Die nach gut überstandener Interphase während des zweiten und dritten Teilungsschrittes zugrunde gehenden Keime vermögen wahrscheinlich keine eigene RNS und DNS zu synthetisieren. Dieser Prozess setzt bereits im Zwei-Zellstadium ein<sup>9,10</sup>.

**Summary.** The material studied consisted of 941 rat ova in various stages of cleavage. The preimplantation period has been subdivided into 5 stages, and for each period the amount of degenerated eggs has been recorded. There was only one degenerated egg found between the first and the second cleavage divisions but a considerably higher frequency afterwards during the second and the third segmentation step.

A. KRESS

Abteilung Anatomie der Rhein.-Westf.-Technischen Hochschule,  
D-51 Aachen (Deutschland), 7. November 1969.

<sup>9</sup> B. MINTZ, in *Preimplantation Stages of Pregnancy* (CIBA Foundation Symposium; Churchill, London 1965), p. 145.

<sup>10</sup> F. NEUMANN, Naturw. Rdsch. 22, 371 (1969).

## Die Degenerationsraten präimplantierter Eier von Vitamin A-hyper- und avitaminotischen Ratten\*

Über den Segmentationsablauf und seine Beeinflussung ist vielfach gearbeitet worden<sup>1–4</sup>. Bei diesen Untersuchungen interessierte vor allem die Anzahl der zur Implantation gelangenden Keime im Verhältnis zur Anzahl der jeweils ovulierten Eier. Dem Zeitpunkt während der Segmentation, in welchem die Degeneration eintritt, wurde keine Beachtung geschenkt. Was die Degenerationsraten während der Präimplantationsperiode innerhalb einer Gruppe von Normaltieren anbetrifft, wurde hier vor kurzem ausführlicher berichtet<sup>5</sup>. Diese Ergebnisse sollen im folgenden mit den von uns erhobenen Be-

funden über die Degenerationsraten präimplantierter Eier, welche von Muttertieren mit Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung stammen, verglichen werden.

**Material und Technik.** Für unsere Untersuchungen standen uns 3 Gruppen geschlechtsreifer weiblicher Ratten (Stamm Wistar, bei der dritten Gruppe auch vom Stamm Ivanovas) zur Verfügung. Die erste Gruppe umfasst 30 Vitamin-A-hypervitaminotische und die zweite 22 Vitamin-A-avitaminotische Tiere<sup>6</sup>. Die an den Eiern dieser Ratten erhobenen Befunde werden mit denjenigen verglichen, welche von uns an Eiern von 85 Normal-

tieren, die wir hier als dritte Gruppe miteinbeziehen, beschrieben wurden<sup>5</sup>. Die Futtergemische sowie der Paarungszeitpunkt entsprechen den schon früher mitgeteilten Verfahren<sup>7</sup>.

Wenn nach der Paarung in den Vaginalabstrichen Spermien nachzuweisen waren, wurden die Tiere zwischen 10–110 h nach dem errechneten Ovulationstermin in Äthernarkose getötet. Sofort darnach wurden die Tuben freipräpariert und zur Gewinnung der Eier mit Tyrode-lösung durchgespült. Der Membrana pellucida eventuell noch anhaftende Follikelepithelzellen wurden mit Pronase abgelöst. An den Eiern wurde die Reaktion auf DPNH-Diaphorase durchgeführt und anschliessend «in toto» montiert<sup>8</sup>. Nichtbefruchtete Eier wurden nicht in die Untersuchung einbezogen. Von der ersten Gruppe standen uns 307, von der zweiten 229 und von der dritten 941 Eier zur Verfügung (Tabelle I).

Die Kriterien für die Degeneration waren dieselben wie bei den Eiern der unbehandelten Tiere<sup>5</sup>: Vor der Teilung sind unregelmässige, mehr oder weniger aufgelöste Konturen charakteristisch. Nach den Teilungen zeigen sich Formverschiedenheiten der Blastomeren und exzentrische meist in Auflösung begriffene Kerne. Nach der DPNH-Reaktion hat das Cytoplasma ein scholliges Aussehen, bedingt durch abwechselnd granuladichte und granulafreie Zonen.

**Befunde.** In der Tabelle I wird eine Übersicht über die durchschnittlich pro Tier erhaltene Anzahl Eier gegeben. Auf das Faktum, dass in dieser Hinsicht zwischen Normal- und Versuchstieren keine Unterschiede bestehen, werden wir in der Diskussion zurückkommen.

Die Entwicklungsphase, die das Ei in der Tube durchläuft, wurde in 5 Stadien (I–V) unterteilt<sup>5</sup> und die jeweils dazugehörigen Degenerationsraten in % errechnet (Tabellen II und III). Bei der ersten und zweiten Gruppe liegen die Degenerationsraten bis und mit der ersten Segmentationsteilung (Stadium I) deutlich höher als im Normalfall, um dann während des Intervalls (Stadium II) auf 0% abzusinken. Ein erneuter Anstieg der Ausfälle

ist bei den darauffolgenden Segmentationsschritten (Stadien III–V) zu verzeichnen, wobei die avitaminotischen Tiere im Ganzen gesehen höhere Verluste aufzuweisen haben. Ein Vergleich der 3 Gruppen ist in Tabelle IV zusammengestellt.

Unterziehen wir die in den Tabellen II und III aufgeführten Werte für die Gesamtzahl gewonnener und die Gesamtzahl degenerierter Eier zusammen mit den Werten für die Normaltiere einem *t*-Test, so ergibt sich, dass gegenüber dem Normalfall signifikant höhere Degenerationsraten vorliegen (Tabelle V).

**Diskussion.** Die Anzahl ovulierter Eier von Vitamin-A-hyper- und avitaminotischen Tieren entspricht in ihrer Größenordnung derjenigen von unbehandelten Normaltieren (Tabelle I). KUROKAWA<sup>9</sup> gibt an, dass keine Reduktion der durchschnittlichen Anzahl geworfener Jungtiere

\* Herrn Prof. Dr. M. WATZKA mit den besten Wünschen zum 65. Geburstag überreicht.

<sup>1</sup> C. R. AUSTIN, J. Endocrin. 6, 104 (1949); *The Mammalian Egg* (Blackwell, Oxford 1961).

<sup>2</sup> G. E. ADAMS, J. Endocrin. 19, 325 (1960). – J. H. MARSTON und M. C. CHANG, J. Embryol. exp. Morph. 15, 169 (1966). – M. C. CHANG und D. M. HUNT, Anat. Rec. 137, 511 (1960). – M. C. CHANG und L. FERNANDEZ-CANO, Anat. Rec. 132, 307 (1958). – M. MARIN-PADILLA und V. H. FERM, J. Embryol. exp. Morph. 13, 1 (1965).

<sup>3</sup> L. B. RUSSEL, in *Preimplantation Stages of Pregnancy* (CIBA Foundation Symp.; Churchill, London 1965), p. 217.

<sup>4</sup> P. A. DESAULLES und C. KRÄHENBÜHL, Acta endocrin., Copenh. 47, 444 (1964).

<sup>5</sup> A. KRESS, Experientia 26, 391 (1970).

<sup>6</sup> Der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, möchten wir für die Überlassung der Tiere sowie deren Pflege und Wartung unseren besten Dank aussprechen.

<sup>7</sup> A. KRESS und K. S. LUDWIG, Experientia 24, 1235 (1968).

<sup>8</sup> P. ELMIGER, Experientia 22, 484 (1966).

<sup>9</sup> G. KUROKAWA, Vitamins, Kyoto 35, 85 (1967).

Tabelle I

| Gruppe                       | Anzahl Ratten | Gesamtzahl gewonnener Eier | Anzahl ovulierter Eier pro Tier Durchschnitt | Schwankungsbreite |
|------------------------------|---------------|----------------------------|--|-------------------|
| 1. Vitamin-A-Hypervitaminose | 30            | 307                        | 10,2   | 3–17              |
| 2. Vitamin-A-Avitaminose     | 22            | 229                        | 10,2   | 3–16              |
| 3. Normaltiere               | 85            | 941                        | 11,1   | 2–18              |

Tabelle II. Degenerationsraten bei der Gruppe I (Hypervitaminose)

| Stadium der Entwicklung                               | Anzahl Muttertiere | Gesamtzahl gewonnener Eier | Gesamtzahl degenerierter Eier | in % | Degenerierte Eier befinden sich in den folgenden Entwicklungsstadien |
|---|--------------------|----------------------------|-------------------------------|------|--|
| I. 10–35 h Imprägnation bis 1. Segmentationsschritt   | 10                 | 104                        | 8                             | 7,7  | 8 × 1-Zell-Stadium   |
| II. 36–55 h Intervall bis zum 2. Segmentationsschritt | 3                  | 38                         | 0                             | 0,0  | –  |
| III. 56–70 h 2. Segmentationsschritt                  | 7                  | 79                         | 8                             | 10,2 | 1 × 1, 2 × 2, 4 × 4  |
| IV. 71–90 h 3. und 4. Segmentationsschritt            | 4                  | 44                         | 9                             | 20,5 | 1 × 4, 1 × 5, 2 × 6, 1 × 7, 3 × 8                                    |
| V. 91–110 h Blastocyste                               | 6                  | 42                         | 2                             | 4,8  | 1 × 8, 1 × 16  |
| Total   | 30                 | 307                        | 27                            | 8,8  |  |

Tabelle III. Degenerationsraten bei der Gruppe II (Avitaminose)

| Stadium der Entwicklung                             | Anzahl Muttertiere | Gesamtzahl gewonnener Eier | Gesamtzahl degenerierter Eier | in % | Degenerierte Eier befinden sich in den folgenden Entwicklungsstadien |
|---|--------------------|----------------------------|-------------------------------|------|--|
| I. 10–35 h Imprägnation bis 1. Segmentationsschritt | 6                  | 71                         | 4                             | 5,6  | 4 × 1 Zell-Stadium   |
| II. 36–56 h Intervall bis 2. Segmentationsschritt   | 3                  | 38                         | 0                             | 0,0  | —  |
| III. 57–70 h 2. Segmentationsschritt                | 5                  | 64                         | 20                            | 31,1 | 4 × 1, 6 × 2   |
| IV. 71–90 h 3. und 4. Segmentationsschritt          | 5                  | 42                         | 6                             | 14,3 | 1 × 8, 5 × 16  |
| V. 91–110 h Blastocyste                             | 3                  | 14                         | 6                             | 42,8 | —  |
| Total   | 22                 | 229                        | 36                            | 15,7 |  |

Tabelle IV. Degenerationsraten der 3 Gruppen

| Gruppe               | Stadium (%) |     |      |      |      | Durchschnitt (%) |
|----------------------|-------------|-----|------|------|------|------------------|
|                      | I           | II  | III  | IV   | V    |                  |
| 1. (Hypervitaminose) | 7,7         | 0,0 | 10,2 | 20,5 | 4,8  | 8,8              |
| 2. (Avitaminose)     | 5,6         | 0,0 | 31,1 | 14,3 | 42,8 | 15,7             |
| 3. (Normaltiere)     | 1,9         | 0,6 | 6,3  | 10,1 | 3,4  | 4,6              |

Tabelle V. Vergleich der Normal- mit den Versuchstieren (Ergebnisse des *t*-Tests)

| Vergleich zwischen:                            | Anzahl Eier = Anzahl Messungen | Geforderter <i>t</i> -Wert nach Tabelle | Gefundener <i>t</i> -Wert | Ergebnis    |
|--|--------------------------------|---|---------------------------|-------------|
| Normaltiere/<br>1. Gruppe<br>(Hypervitaminose) | 1248                           | 2,58                                    | 2,78                      | signifikant |
| Normaltiere/<br>2. Gruppe<br>(Avitaminose)     | 1170                           | 2,58                                    | 6,0                       | signifikant |

bei Vitamin-A-Mangel oder -Überdosierung der Muttertiere nachzuweisen ist. Dieser Befund würde aber bedeuten, dass während der Trächtigkeitsperiode keine über das Normale hinausgehende Degenerationsrate vorliegt. Dem widersprechen jedoch die von uns festgestellten erhöhten Degenerationsraten während der Segmentationsperiode.

Einer der Gründe, weshalb es zu einer grösseren Degenerationsrate während der Segmentationsperiode kommt, dürften Störungen der Follikelreifung und damit

auch der Eireifung im Ovar von Tieren mit Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung sein. So konnte GEIGER<sup>10</sup> in den Ovarien der gleichen Tiere, von denen die Eier für die vorliegende Arbeit gewonnen wurden, zeigen, dass bei Vitamin-A-Mangel außerordentlich viele atretische Follikel vorhanden sind, während bei Überdosierung nur vereinzelte gefunden werden. Für die Tatsache, dass es sich um eine Schädigung der Eier handeln muss, sprechen die ebenfalls erhöhte Anzahl degenerierter Eier bei künstlich induzierter Ovulation und verzögter Befruchtung<sup>1,4</sup>. Ob auch das Tubenmilieu bei den Tieren mit Vitamin-A-Mangel und -Überdosierung einen zusätzlichen Faktor darstellt, der zur Erhöhung der Absterberate beiträgt, muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Unseren Befunden kann entnommen werden, dass die Degenerationsraten mit Beginn des zweiten Segmentationsschrittes sehr stark ansteigen. Dies lässt darauf schliessen, dass die zweite und dritte Segmentationsteilung eine besonders kritische Entwicklungsphase darstellen. Eine Bestätigung findet diese Auffassung in den Untersuchungen von RUSSELL<sup>3</sup>, die an präimplantierten Maus- eien mit ihren auf viele verschiedene kleine Zeitintervalle verteilten Bestrahlungsversuchen zeigen konnten, dass die Sensitivität zu Beginn des zweiten Teilungsschrittes sehr hoch ist.

**Summary.** Comparing pre-implanted rat ova of animals suffering from Vitamin A deficiency or overdosage with normal ones, it was found that the amount of degenerated eggs was significantly higher in both the treated groups than in normal untreated animals. The mitotic stages of the segmentation steps prove to be highly sensitive to previous changes in the interior and exterior environment of the egg.

A. KRESS und K. S. LUDWIG

Abteilung Anatomie der Rhein.-Westf.-Technischen Hochschule  
D-51 Aachen (Deutschland), 19. Januar 1970.

<sup>10</sup> CH. GEIGER, Arch. Gynäk. 206, 411 (1968).