

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 Imprägnation bis 1. Segmentations-schritt	25	263	5	1,9	alle 1-Zell-Stadien
II 31–55 h Intervall bis zum 2. Segmentations-schritt	14	160	1	0,6	1-Zell-Stadien
III 56–70 h 2. Segmentations-schritt	26	300	19	6,3	8 × 2/1 × 3/7 × 4
IV 71–90 h 3. und 4. Segmentations-schritt	14	160	16	10,0	1 × 4/2 × 6/3 × 8
V 91–100 h Blastocyste	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	geforderter <i>t</i> -Wert nach Tabelle	gefundener <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. Segmentations-schritt 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^{9,10}.

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.

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

¹⁰ 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^{1–4}. 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 Segmentierung, 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 berichtet⁵. 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 Tiere⁶. 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 wurden⁵. Die Futtergemische sowie der Paarungszeitpunkt entsprechen den schon früher mitgeteilten Verfahren⁷.

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 Tyrodelösung 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» montiert⁸. 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 Tiere⁵: 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) unterteilt⁵ 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 Segmentationschritten (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). KUROKAWA⁹ gibt an, dass keine Reduktion der durchschnittlichen Anzahl geworfener Jungtiere

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

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

² 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).

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

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

⁵ A. KRESS, Experientia 26, 391 (1970).

⁶ 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.

⁷ A. KRESS und K. S. LUDWIG, Experientia 24, 1235 (1968).

⁸ P. ELMIGER, Experientia 22, 484 (1966).

⁹ 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. Segmentationschritt	10	104	8	7,7	8 × 1-Zell-Stadium
II. 36–55 h Intervall bis zum 2. Segmentationschritt	3	38	0	0,0	–
III. 56–70 h 2. Segmentationschritt	7	79	8	10,2	1 × 1, 2 × 2, 4 × 4
IV. 71–90 h 3. und 4. Segmentationschritt	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. Segmentations-schritt	6	71	4	5,6	4 × 1 Zell-Stadium
II. 36–56 h Intervall bis 2. Segmentations-schritt	3	38	0	0,0	–
III. 57–70 h 2. Segmentations-schritt	5	64	20	31,1	4 × 1, 6 × 2
IV. 71–90 h 3. und 4. Segmentations-schritt	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/ 1. Gruppe (Hypervitaminose)	1248	2,58	2,78	signifikant
Normaltiere/ 2. Gruppe (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 GEIGER¹⁰ 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 vereinzelt 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 verzögerter Befruchtung^{1,4}. 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 Segmentations-schrittes sehr stark ansteigen. Dies lässt darauf schliessen, dass die zweite und dritte Segmentations-teilung eine besonders kritische Entwicklungsphase darstellen. Eine Bestätigung findet diese Auffassung in den Untersuchungen von RUSSELL³, die an präimplantierten Mauseiern 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.

¹⁰ CH. GEIGER, Arch. Gynäk. 206, 411 (1968).