

Hormonphysiologische Grundlagen des Embryotransfers und assoziierten Biotechniken

FOLKMAR ELSAESSER

Institut für Tierzucht und Tierverhalten

Einleitung

Der Embryotransfer bei landwirtschaftlichen Nutztieren hat in den letzten 10 Jahren einen enormen Aufschwung genommen, wenn auch der Schwerpunkt des Embryotransfers zur Zeit beim Rind liegt und wohl auch auf absehbare Zeit liegen wird. Die steigende Bedeutung dieser biotechnischen Maßnahme wird deutlich, wenn man sich die Zahlen für die durchgeführten Transfers allein in der Bundesrepublik Deutschland vergegenwärtigt. Während 1984 etwa 4 000 Embryotransfers durchgeführt wurden, waren es 1985 bereits etwa 5 000 und für 1986 kann eine weitere Steigerung angenommen werden. Neben dem eigentlichen Embryotransfer werden zunehmend sogenannte assoziierte Biotechniken praktiziert oder wissenschaftlich bearbeitet, für die der Embryotransfer erst die Voraussetzungen geschaffen hat. Zu den aktuellen Embryotransfer-assoziierten Biotechniken zählen Gefrierkonservierung und die Produktion von identischen Zwillingen, andere biotechnische Methoden, wie Geschlechtsbestimmung an Embryonen, in vitro Befruchtung, Klonen oder Gentransfer befinden sich noch im Experimentalstadium. All diesen biotechnischen Methoden liegen physiologische Abläufe zugrunde, die maßgeblich durch das endokrine System gesteuert werden.

Wenn auch die technischen Probleme der Embryogewinnung und des Transfers als gelöst angesehen werden können, so stellt doch insbesondere der Vorgang der Superovulation nach wie vor einen limitierenden Faktor aller Embryotransfer-Programme dar. Eine wesentliche Ursache für die in qualitativer und quantitativer Hinsicht unbefriedigenden Superovulationsergebnisse besteht sicherlich in der derzeit noch ungenügenden Kenntnis der hormonalen Kontrolle der Follikulogenese und der systemischen und intraovariellen Faktoren, die die Qualität der Eizellen nach der Stimulation mit Gonadotropinen bestimmen. Im folgenden Beitrag sollen, in Anlehnung an die verschiedenen Vorgänge beim Embryotransfer, neuere Erkenntnisse über die hormonale Kontrolle der Follikulogenese, der Oozytenreifung und der frühen Embryonalentwicklung in ihren Grundzügen diskutiert werden, wobei auch mögliche praktische Implikationen angesprochen werden sollen, die für die Weiterentwicklung der genannten Biotechniken von Bedeutung sein können.

1 Hormonale Steuerung der Follikelreifung

Da die Auslösung der Superovulation trotz intensiver Forschung weiterhin einen begrenzenden Faktor aller Embryotransfer-Programme beim Rind darstellt, sind die hormonphysiologischen Grundlagen der Follikelreifung und deren weitere Erforschung von vorrangiger Bedeutung für die Entwicklung verbesserter Methoden. Eines der größten Probleme bei der Auslösung der Superovulation ist die hohe Variabilität in der Ovulationsrate, die zudem häufig begleitet wird von einer reduzierten Befruchtungspotenz und Entwicklungsfähigkeit der Eizellen.

In diesem Zusammenhang sollte man nicht vergessen, daß das Rind über ein sehr effizientes, multiples Kontrollsystem verfügt, wodurch gewährleistet wird, daß in der Re-

gel nur ein Follikel bis zur Sprungreife heranwächst und somit im Normalfall nur ein Follikel ovuliert. Es ist daher vielleicht nicht erstaunlich, daß die Bemühungen, dieses Kontrollsystem zu unterlaufen nicht immer von Erfolg gekrönt sind. Da der Embryotransfer gegenwärtig beim Rind die größte Rolle spielt, soll dieses Kontrollsystem, das bisher nur unzureichend verstanden wird, an dieser Stelle für das Rind abgehandelt werden und die sich daraus ergebenden möglichen alternativen Ansätze für die Auslösung der Superovulation aufgezeigt werden. Bei einer polyovulatorischen Spezies, wie dem Schwein, unterscheidet sich die Kontrolle der Follikulogenese in wesentlichen Punkten von den Steuerungsvorgängen beim Rind.

1.1 Morphologie der Follikulogenese

Unter Follikulogenese versteht man die Bildung reifer, präovulatorischer Follikel aus einem Pool von nicht wachsenden Primordialfollikeln. Die Follikelreifung geht aus von den Primärfollikeln, die die Oozyten einschließen und die von einer einzelligen Lage von Granulosazellen umgeben sind. Die Granulosazellen sind von einer weiteren Schicht endokriner aktiver Zellen, den Thekazellen, durch die Basalmembran getrennt. Durch starke mitotische Teilungen der Granulosazellen vergrößert sich der Follikel, so daß die Eizelle schließlich von mehreren Lagen von Granulosazellen umgeben ist. Man spricht dann vom Tertiärfollikel. Im Tertiärfollikel bildet sich ein Antrum, ein flüssigkeitsgefüllter Hohlraum aus, der sich vergrößert und damit die Bildung des sogenannten Graafschen Follikels bewirkt. Durch Weiterentwicklung des Graafschen Follikels entsteht der präovulatorische Follikel, in dem sich die Eizelle, umgeben von den Kumuluszellen deutlich von den übrigen Granulosazellen absetzt. Bei der Ovulation wird die Eizelle aus dem Follikel entlassen, und der Follikel wandelt sich zum frühen Gelbkörper um.

Die Zahl der Primordialfollikel ist beim Rind von der Geburt bis zum 4. Lebensjahr konstant und beträgt ca. 100 000. Nach dem 4. Lebensjahr nimmt die Zahl der Primordialfollikel ab, so daß im Alter von 15–20 Jahren nur noch lediglich 3 000 Follikel dieses Typs vorhanden sind. Die Zahl der wachsenden Präantrumfollikel (Follikel ohne Hohlraum) liegt bis zum 4. Lebensjahr bei ca. 200 pro Tier, um danach allmählich abzufallen. Die Population der Follikel mit Hohlraum (ca. 50) bleibt allerdings bis zum 10. Lebensjahr konstant. Diese Hohlraumfollikel bilden die Grundlage für die Superovulation, indem sie bei der Auslösung der Superovulation aktiviert werden.

1.2 Dynamik des Follikelwachstums

Auf dem Ovar laufen ständig Wachstumsvorgänge und Rückbildungsvorgänge an den Follikeln ab. Diese Vorgänge sind in der Abbildung 1 für die Hohlraumfollikel des Rindes schematisch dargestellt. Ständig werden Follikel zurückgebildet und durch neue wachsende Follikel ersetzt. Auch während der Gelbkörperphase beobachtet man die Bildung von Antralfollikeln, diese verschwinden jedoch (atresieren) und werden durch neue ersetzt. Die Antrumbildung wird

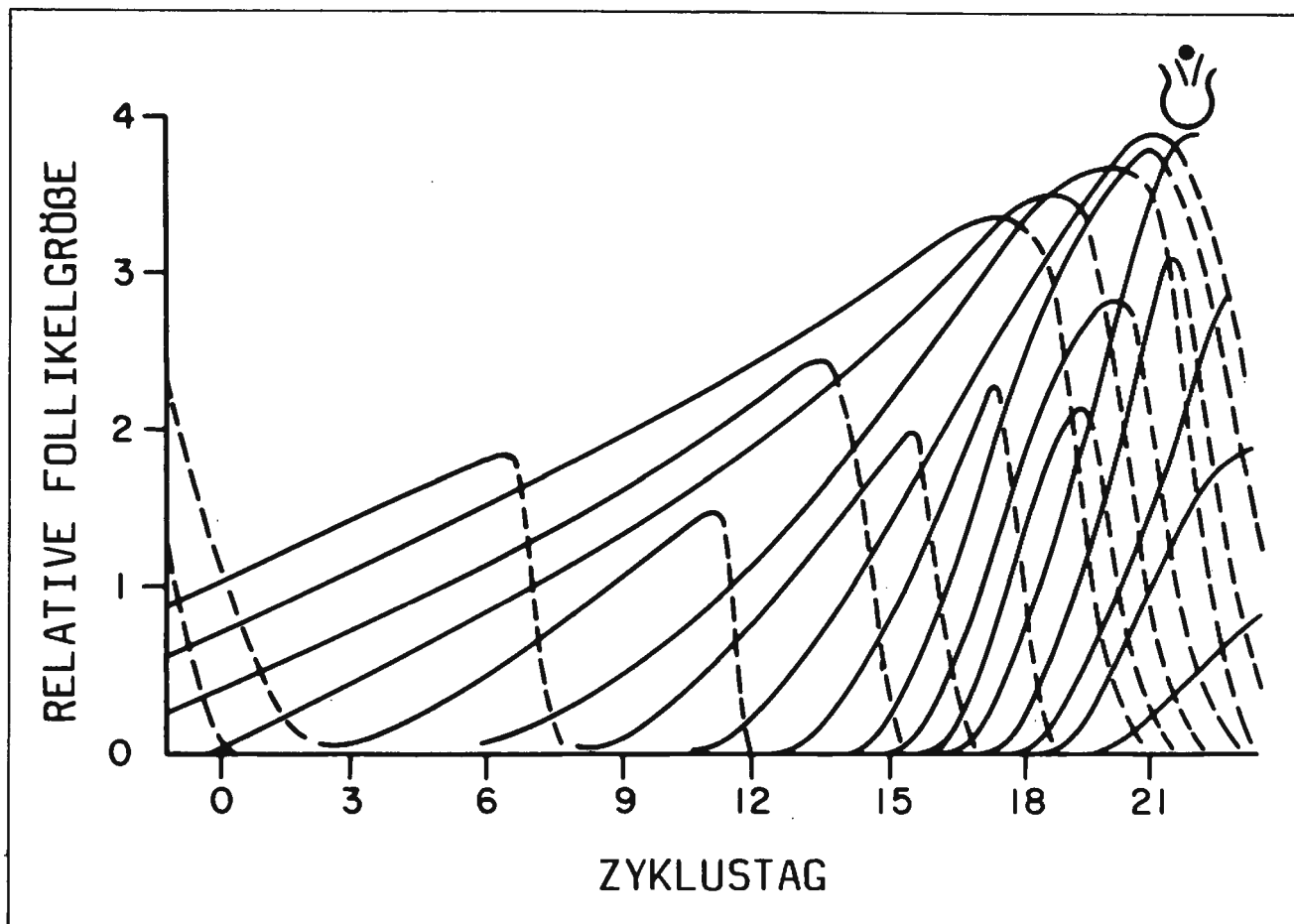


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Wachstums und der Atresie großer Antralfollikel während des Sexualzyklus beim Rind (Spicer und Echternkamp, 1986).

durch den postovulatorischen FSH-Anstieg initiiert, die Mehrzahl der Antrumfollikel degeneriert jedoch, wenn die Degeneration nicht durch exogene Zufuhr von Gonadotropin, z.B. PMSG oder FSH aufgehoben wird. Für das Wachstum eines Präantrumfollikels zum Antrumfollikel mit einem Durchmesser von 8,5 mm und mehr sind vermutlich zwei Zyklen erforderlich.

Das Wachstum individueller Antralfollikel ist in der Abbildung 1 durch durchgezogene Linien dargestellt. Die gestrichelten Linien sollen die Atresie, die Follikelrückbildung, symbolisieren. Die Steigung der durchgezogenen Linien gibt die Wachstumsgeschwindigkeit an, während die Gipfelwerte der Wachstumskurven die relative Größe der Follikel während des Zyklus beim Rind verdeutlichen sollen. Im Zyklus findet eine deutliche Akzeleration des Follikelwachstums und des Umsatzes der Follikel (turnover) statt. Während in der Gelbkörperphase nur wenige, relativ kleine Antralfollikel auf dem Ovar zu finden sind, nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit, die Zahl der Follikel und die Größe der Follikel in der Follikelphase deutlich zu. Zwischen dem Tag 15 und 18 entwickelt sich ein Follikel zum präovulatorischen Follikel und gelangt schließlich zur Ovulation. Die Vorgänge, die die Selektion dieses präovulatorischen Follikels bestimmen, sind heute noch so gut wie unbekannt.

1.3 Endokrine Funktion der Follikel

Der Follikel hat zwei Funktionen. Die endokrine Funktion besteht in der Produktion und Sekretion von Gonadenhormonen, während die exokrine Funktion in der Bereitstellung einer befruchtungsfähigen Eizelle zu sehen ist. Für die endokrine Funktion ist die Feinstruktur des Follikels von besonderer Bedeutung, womit die enge funktionelle Verbindung zwischen Thekazellen und Granulosazellen angesprochen ist. Die Thekazellen besitzen nur Rezeptoren für LH (Luteinisierungshormon) und bilden unter der Einwirkung von LH aus Cholesterol, über Progesteron als Zwischenstufe, die Androgene Androstendion und Testosteron, die wiederum den Granulosazellen als Substrat für die Aromatisierung, die Östrogenbildung, zur Verfügung gestellt werden. Die Granulosazellen, die sowohl LH- als auch FSH (Follikel Stimulierendes Hormon)-Rezeptoren besitzen können, stützen sich in der Östrogensyntheseleistung vornehmlich auf die beiden genannten Androgene, die ihnen von den Thekazellen zur Verfügung gestellt werden. Bei einigen Spezies, z.B. beim Schwein, können anscheinend auch die Thekazellen selbst Östrogen sezernieren. Die Syntheseleistung ist sehr stark vom Follikeltyp abhängig. Der große, nicht atretische Follikel, dominanter oder F₁-Follikel genannt, zeichnet sich durch Östrogendominanz aus, während die atretischen Follikel durch ein nie-

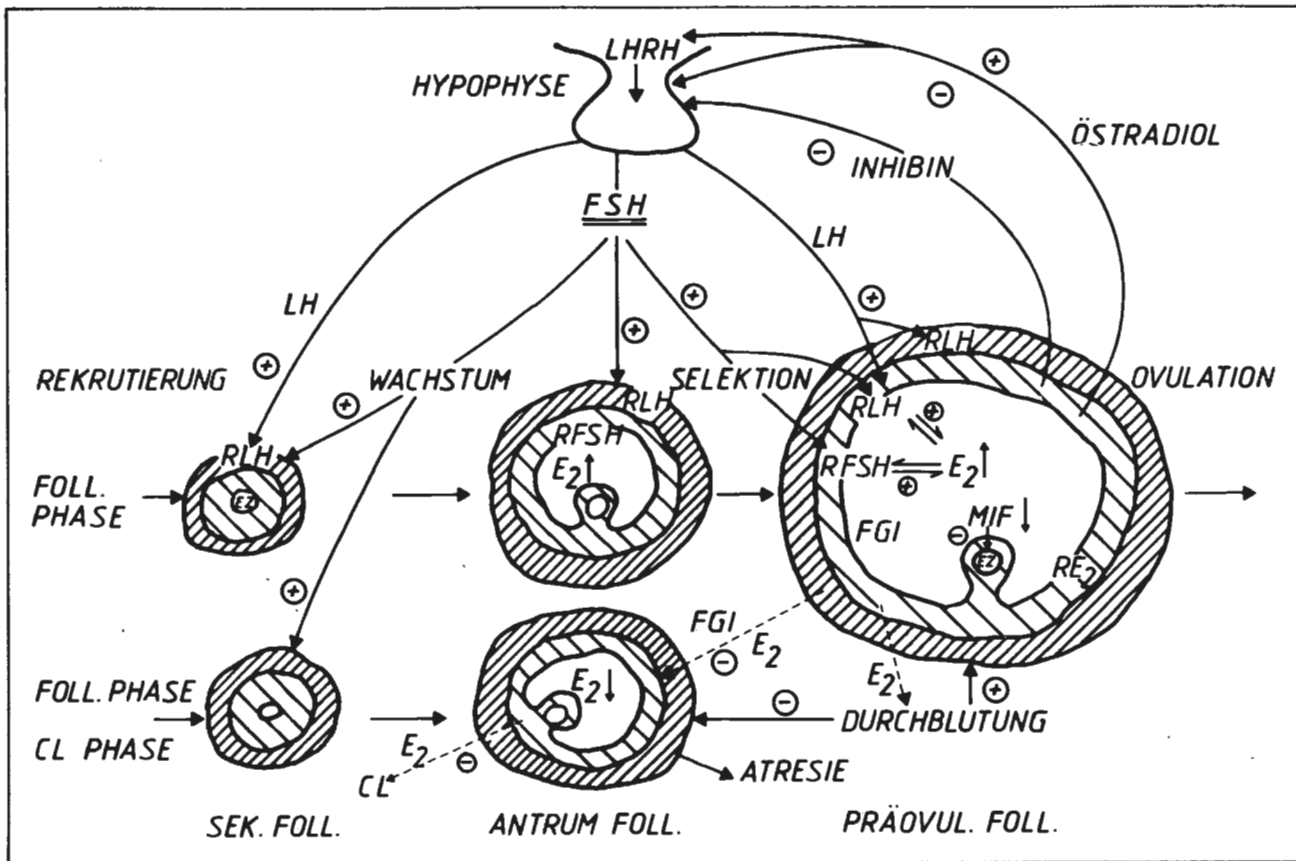


Abbildung 2: Schematische Darstellung der hormonalen Steuerung der Follikelreifung. Thekazellen, Granulosazellen, \leftarrow Wirkung systemischer Kontrollfaktoren, $\leftarrow \cdots$ Wirkung lokaler Kontrollfaktoren, \uparrow : Anstieg, \downarrow : Abfall, \oplus : stimulierende Wirkung, \ominus : inhibierende Wirkung, EZ: Eizelle, R: Hormonrezeptor, E_2 : Östradiol- 17β , FGI: Follicular Growth Inhibitor, MIF: Meiose Inhibiting Factor. Weitere Erläuterungen siehe Text.

driges Östradiol-Progesteron-Verhältnis in der Follikelflüssigkeit charakterisiert sind und in erster Linie Androstendion und Testosteron synthetisieren.

1.4 Endokrine Regulation der Follikelreifung

Die endokrine Regulation der Follikelreifung ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Drei Follikeltypen wurden exemplarisch ausgewählt, und zwar ein Sekundärfollikel, ein mittelgroßer Bläschen- oder Antrumfollikel und ein präovulatorischer Follikel. Ferner wurde unterschieden zwischen der Regulation der Follikelreifung in der Follikelphase und in der Gelbkörperphase. Für die Steuerung der Follikelreifung sind vier Vorgänge von Bedeutung: die Rekrutierung, unter der man den Eintritt eines Follikels in die Wachstumsphase versteht, das Wachstum der Follikel, die Selektion und die Atresie. Von besonderem Interesse für den Vorgang der Superovulation ist die Steuerung der Selektion und Atresie, die gemeinsam die Ovulationsrate bestimmen.

1.5 Systemische Kontrollfaktoren der Follikelreifung

An der Regulation der Follikulogenese sind sowohl systemische als auch lokale (im Ovar) Kontrollfaktoren

beteiligt. Zu den systemischen Kontrollfaktoren gehören LH, FSH, Inhibin, Östrogene, Adrenalin u.a. mehr. Die beiden Gonadotropine LH und FSH, die unter dem Einfluß des Freisetzungsfaktors LHRH in der Hypophyse gebildet werden, sind essentiell für die Antrumbildung. FSH ist das Schlüsselhormon für die Follikelreifung und für den Vorgang der Superovulation. FSH stimuliert die Mitose, die Proliferation der Granulosazellen und die Bildung von Follikelflüssigkeit. Der mitotische Effekt von FSH wird durch Östrogene unterstützt. FSH induziert außerdem gemeinsam mit Östradiol die Empfindlichkeit für LH durch Stimulation der LH-Rezeptorbildung und fördert die Aromataseaktivität in den Granulosazellen. Zur Auslösung der Superovulation gegeben, stimuliert FSH die Zahl der Präantralfollikel, ist aber ohne Wirkung auf die Zahl der Antralfollikel. Die superovulatorische Wirkung von FSH besteht in erster Linie in der Verhinderung der Atresie der Antralfollikel, die dadurch zur ovulatorischen Größe heranwachsen können.

Ein weiterer systemischer Kontrollfaktor ist Inhibin, ein Proteohormon, das von den Granulosazellen gebildet wird und in jüngster Zeit für das Rind rein dargestellt werden konnte. Inhibin hat eine negative systemische Rückkopplungswirkung auf die FSH-Synthese in der Hypophyse. Somit wird weniger FSH von der Hypophyse sezerniert und damit steht weniger FSH zur Stimulation des Follikelwachstums zur Verfügung. Inhibin ist vermutlich von zentraler Bedeutung für die Ovulationsrate. Es konnte z.B.

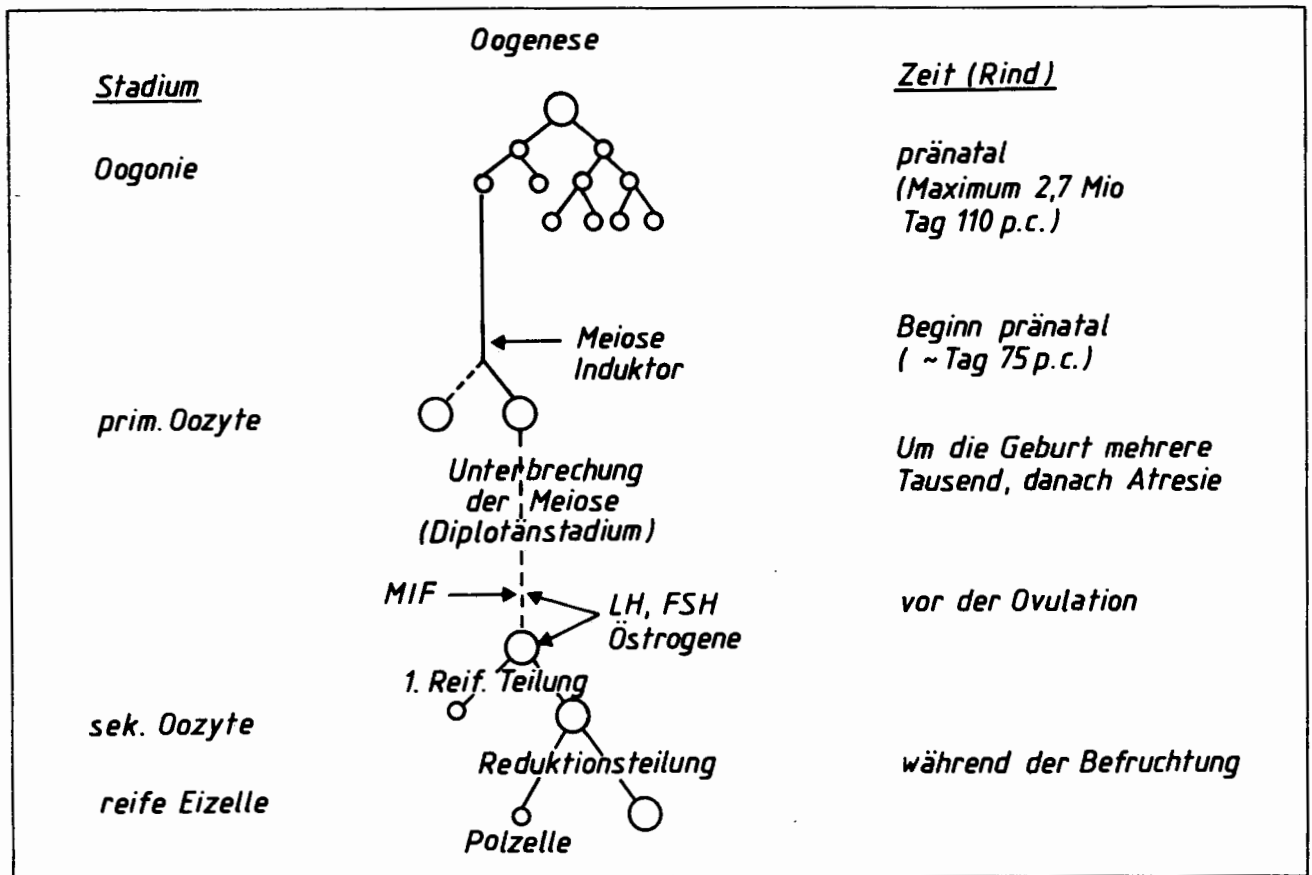


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Oogenese.

festgestellt werden, daß das Ovar des Booroolaschafes, einer Merinovariante, die sich durch eine sehr hohe Ovulationsrate auszeichnet, nur etwa ein Drittel der Inhibinmenge enthält, die im Ovar normaler Merinos gefunden wird.

Östradiol übt sowohl positive als auch negative systemische Wirkungen auf die Gonadotropinsekretion aus. Die positive Wirkung besteht in der Aktivierung des sogenannten positiven Östrogen-Feedbackmechanismus als Voraussetzung für die Auslösung der Ovulation in der späten Follikelphase. In der frühen Follikelphase übt Östradiol, vom dominanten präovulatorischen Follikel sezerniert, eine negative Feedbackwirkung auf die Gonadotropinsekretion aus, mit der Folge, daß ein Wachstum weiterer Follikel unterbleibt.

1.6 Lokale Kontrollfaktoren der Follikelreifung

Zu den lokalen Kontrollfaktoren der Follikelreifung zählen die Rezeptoren für LH, FSH und Östradiol; Östradiol selbst und eine Reihe von hypothetischen Kontrollfaktoren, wie Follicular Growth Inhibiting Factor (FGI), FSH-Binding Inhibitor und ein postulierter Aromataseinhibitor. Östradiol stimuliert im dominanten, Östrogenaktiven Follikel das Eigenwachstum über positive Wirkungen auf die Rezeptoren für FSH und LH. Rezeptoren für LH werden nur in den Granulosazellen des dominanten ovulatorischen Follikels gefunden, jedoch nicht in den Granulosazellen atretischer Follikel. Östradiol aus dem dominanten Follikel übt daneben eine negative Wirkung

auf die übrigen Antralfollikel aus, die dadurch atresieren. Diese Wirkung ist z.T. indirekter Natur, indem die Durchblutung der benachbarten Antrumfollikel verringert wird und damit weniger FSH und Nährstoffe an die Follikel gelangen. Die Durchblutung des Östrogen-aktiven, dominanten Follikels wird dagegen gefördert.

Inhibin ist nicht das einzige Proteohormon, das von den Granulosazellen des dominanten Follikels gebildet wird. Ein weiterer Faktor, der großes wissenschaftliches Interesse verdient, ist der sogenannte Follicular Growth Inhibiting Factor (FGI), dessen Wirkung in einer Inhibition der Mitose der Granulosazellen in den übrigen Follikeln vermutet wird. Es ist noch nicht klar, wie die exogene Zufuhr von Gonadotropinen (FSH oder PMSG) in der Lage ist, den Einfluß des endogenen FGI zu unterlaufen.

Die Kenntnis der Kontrollfaktoren ist nicht nur von theoretischem Interesse, da sich aus dem besseren Verständnis der Kontrolle der Follikelreifung neue Ansatzpunkte zur Auslösung und Steuerung der Superovulation ergeben können. So konnte z.B. durch die Immunisierung gegen Inhibin oder Gonadensteroidhormone beim Schaf eine milde Superovulation hervorgerufen werden und die Ansprechbarkeit auf exogen zugeführte Gonadotropine gesteigert werden. Ob dadurch die Variabilität im Superovulationserfolg verringert werden kann, ist im Moment noch nicht zu beantworten. Aus vorläufigen Untersuchungen am Rind ist abzuleiten, daß die Immunisierung gegen Östrogen keine Superovulation hervorruft, aber nach Immunisierung gegen Testosteron oder Inhibin die Ansprechbarkeit auf Gonadotropine erhöht wird.

2 Hormonale Steuerung der Oozytenreifung

Ein Ziel der präovulatorischen Follikelentwicklung ist die Bereitstellung befruchtungsfähiger Eizellen. Hiermit ist das zweite Problem der Superovulation angesprochen, die verminderte Qualität der Embryonen, die nur bis zu maximal 50 % übertragungswürdig sind. Es besteht anscheinend ein Zusammenhang zu den vor und nach der Superovulation unphysiologisch veränderten Eierstockhormon-Profilen und dem daraus resultierenden ungünstigen uterinen Milieu. Es ist auch möglich, daß durch Verschiebung in der hormonalen Zusammensetzung der Follikelflüssigkeit bereits während der Eizellreifung Läsionen ausgelöst werden, die erst im Blastozystenstadium exprimiert werden. So scheint z.B. PMSG mit seiner nachteiligen langen Verweildauer im Organismus und starken LH-Komponente im Gegensatz zum FSH eine prämatüre Oozytenreifung und damit frühzeitige Alterung der Eizellen zu bewirken. FSH scheint dagegen das Follikelwachstum ohne eine vorzeitige Reifung der Oozyte zu stimulieren.

Pränatal vermehren sich die Oogonien durch mitotische Teilungen stark (Abb. 3), so daß beim Rind bereits 110 Tage p.c. ca. 2.7 Mio. Oogonien vorhanden sind. Etwa ab Tag 75 p.c. werden, unter dem Einfluß eines hypothetischen Meiose-Induktors, meiotische Teilungen eingeleitet, die zur Bildung von primären Oozyten führen. Die Meiose wird bald darauf im Diplotänstadium unterbrochen, wofür ein sogenannter Meiose Inhibiting Factor (MIF) verantwortlich gemacht wird. Um die Geburt herum verfügt das Rind über mehrere tausend primäre Oozyten, später geht die Zahl der primären Oozyten durch atretische Vorgänge zurück. Kurz vor der Ovulation wird unter dem Einfluß von LH, FSH und Östrogenen die erste Reifungsteilung unter Abstoßung eines Polkörperchens abgeschlossen, die zur Bildung der sekundären Oozyte führt. Erst während der Befruchtung findet die Reduktionsteilung unter Bildung der reifen Eizelle statt.

2.2 Regulation der Oozytenreifung

Das Ziel der Eizellenreifung ist die Befruchtungspotenz, wobei wir zwei Reifungsvorgänge unterscheiden können, einmal die Kernreifung, die zum haploiden Chromosomensatz führt und die zytoplasmatische Reifung, die u.a. eine monosperme Befruchtung gewährleistet. An der Eizellreifung sind LH, FSH und Östrogene beteiligt. Die Gonadotrophine LH und FSH bewirken eine Auflockerung des Cumulus-Oozyten-Komplexes, eine Stimulation der Steroidhormonsynthese in den Cumulus- und Granulosazellen und vermutlich eine Unterdrückung des MIF. Eine direkte Wirkung der Gonadotropine auf die Eizelle ist dagegen wenig wahrscheinlich. Den Steroidhormonen wird eine zentrale Bedeutung für die zytoplasmatische Reifung, insbesondere den Polyspermieblock, zugeschrieben.

In vitro kann eine Oozytenreifung (Wiederaufnahme der Meiosis) spontan nach Isolierung aus Antrumpfollikeln, wodurch die inhibitorischen Effekte der Follikelzellen ausgeschaltet werden, bis zur physiologischen Arretierung in der Metaphase II eingeleitet werden. Diese Oozyten sind allerdings nicht in der Lage, selbst die frühesten Stadien der Embryonalentwicklung zu durchlaufen. Von besonderer Bedeutung für die Oozytenreifung sind die Hormonkonzentrationen in der Follikelflüssigkeit, die durch einen raschen Abfall der Östradiolwerte und ein Anstieg der Progesteronwerte unmittelbar nach dem präovulatorischen LH-Gipfel charakterisiert sind.

Die Oozytenreifung wird durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen den germinativen und den somatischen Elementen des Follikels ermöglicht. Intrafollikuläre Oozyten erreichen in vitro nur ihre volle Befruchtungsfähigkeit, wenn beide Gonadotropine und Östradiol dem Kulturmedium zugesetzt werden. Die Wirkung der Hormone wird von den Follikelzellen vermittelt, wobei offensichtlich dem zyklischen AMP als Stimulator eines Maturation Inhibiting Factors eine kritische Rolle zukommt. Nur ein geringer Prozentsatz von Oozyten entwickelt sich in vitro zu Blastozysten, wenn einem extrafollikulären Kultursystem keine Cumuluszellen zugegeben werden.

3 Hormonale Steuerung der frühen Embryonalentwicklung

Die Kenntnis über die endokrine Steuerung der frühen Embryonalentwicklung steht bisher noch ganz am Anfang, trotzdem soll dieser Aspekt der Vollständigkeit halber hier behandelt werden. Immerhin gibt es deutliche Hinweise dafür, daß Hormone, die Östrogene an Differenzierungsvorgängen bei der Transformation der Morula zur Blastozyste beteiligt sind.

3.1 Morphologie der frühen Embryonalentwicklung

Während der frühen Embryonalentwicklung, etwa im 8-Zellstadium bei der Maus, treten auffällige morphologische Veränderungen auf. Die Embryonalzellen, die Blastomeren, verlieren ihre runde, kugelige Form und nehmen eine mehr keilförmige Gestalt an. Der Kontakt zwischen den Zellen wird dadurch vergrößert, und es werden besondere Verbindungen zwischen den Zellen hergestellt. Dieser Prozeß, den man Kompaktierung nennt, gibt den Zellen eine Polarität, so daß jede Zelle ein äußeres und ein inneres Ende besitzt. Innerhalb dieses Zellhaufens, der Morula, bildet sich ein Hohlraum, das Blastocoel. Der Hohlraum vergrößert sich schnell bis der Embryo einem Hohlkörper ähnelt. Die so entstandene Blastozyste besteht aus einer einschichtigen peripheren Lage großer, abgeflachter Zellen, dem Trophektoderm oder Trophoblasten und einem Knoten kleinerer Zellen an einer Seite des zentralen Hohlraumes. Aus diesem Embryonalknoten, auch innere Zellmasse genannt, entwickelt sich der erwachsene Organismus, während die Zellen des Trophektoderms die Plazenta und die embryonalen Membranen bilden. Die Blastozyste streckt sich allmählich in Form eines Hohlfadens, der beim Rind und Schaf vor der Implantation eine Länge von 20 cm, beim Schwein sogar über 1 m erreichen kann.

3.2 Die mögliche Bedeutung der Östrogene für die Differenzierung

Das auffälligste Merkmal der Blastozyste ist die Differenzierung in Trophektoderm und Embryonalknoten. Die Omnipotenz der Blastomeren geht verloren, wenn auch zunächst reversibel. Die Differenzierung erfolgt auch auf molekularer Ebene, so synthetisieren die Trophoblastzellen z.B. andere Polypeptide als die Zellen des Embryonalknotens.

Die Differenzierung ist das zentrale ungelöste Geheimnis der frühen Ontogenese. Eine Theorie stellt die räumliche Anordnung der Zellen in der Morula in den Vordergrund. Danach sollen sich die äußeren Zellen zu Trophek-

todermzellen differenzieren, die inneren Zellen den Ursprung des Embryonalknotens darstellen. Die Natur dieser Signale ist allerdings nicht bekannt. Möglicherweise handelt es sich um Hormone, Östrogene.

Spezifische Bindungsstellen für Östrogene und Östrogene selbst wurden in Morulastadien verschiedener Spezies nachgewiesen. Vor allem verhindert die Inaktivierung der Östrogenwirkung durch Östrogenantagonisten und/oder Östrogensynthese-Hemmer die Weiterentwicklung der Morulastadien zur Blastozyste, was dafür spricht, daß Östrogene essentiell sind für die Differenzierung. Der Östrogen-Wirkungsmechanismus, wie etwa die Frage der Neusynthese einer spezifischen Messenger RNA oder des Wirkungsortes, ist nicht bekannt. Möglicherweise stimulieren Östrogene die Neusynthese von Polyaminen, einer Stoffgruppe, deren Beteiligung an den Differenzierungsprozessen nachgewiesen scheint. Zu klären bleibt auch, wie die Versorgung der frühen Embryonalstadien mit Östrogenen erfolgt, ob aus dem uterinen Milieu oder ob durch Eigensynthese. Ein eindeutiger Nachweis einer Östrogensynthese durch Zona pellucida-intakte Embryonen ist bisher bei keiner Spezies gelungen. Schweineembryonen synthetisieren unzweifelhaft ab Tag 12 p.c. Östrogene, die zu diesem Zeitpunkt mit Sicherheit ein Signal zur maternalen Erkennung der Trächtigkeit darstellen.

Zusammenfassung

Es wird ein kurzer Überblick über die hormonphysiologischen Grundlagen des Embryotransfers und assoziierter Biotechniken gegeben. Dem Embryotransfer und seinen assoziierten Biotechniken liegen physiologische Abläufe, wie Zyklussteuerung, Follikulogenese, Oozytenreifung und Embryonalentwicklung zugrunde, die maßgeblich durch Hormone beeinflusst werden. Der limitierende Faktor des eigentlichen Embryotransfers liegt z.Zt. bei der Superovulation mit ihrer hohen Variabilität in der Qualität und Quantität der Embryonen, womit der endokrinen Regulation der Follikelreifung eine besondere Bedeutung für die Weiterentwicklung dieser Methodik zukommt. Die Follikelreifung wird durch ein komplexes, bisher nur unzureichend bekanntes System lokaler und systemischer Kontrollfaktoren reguliert, wodurch gewährleistet wird, daß beim Rind in der Regel nur ein Follikel zur Ovulation gelangt. Unter den systemischen Kontrollfaktoren LH, FSH, Inhibin, Östrogen, Adrenalin u.a., ist FSH das Schlüsselhormon für die Follikelreifung und für die Auslösung der Superovulation. Die FSH Sekretion, und damit die Ovulationsrate, wird maßgeblich durch Inhibin beeinflusst. Zu den lokalen Kontrollfaktoren der Follikelreifung zählen die Rezeptoren für FSH, LH und Östradiol, Östradiol selbst und eine Reihe von hypothetischen Kontrollfaktoren, wie Follicular Growth Inhibitor (FGI), FSH Binding Inhibitor und ein postulierter Aromataseinhibitor, die großes wissenschaftliches Interesse verdienen. Bisher vorläufige Erkenntnisse deuten darauf hin, daß durch die aktive Immunisierung gegen bestimmte Kontrollfaktoren die Superovulationsreaktion verbessert werden kann. Die Eizellenreifung, bei der wir zwei Reifungsvorgänge unterscheiden können, hat die Befruchtungspotenz zum Ziel. Steroidhormone wird eine zentrale Bedeutung für die zytoplasmatische Reifung und damit dem Polyspermieblock zugeschrieben. LH und FSH stimulieren die Steroidhormonsynthese und sind indirekt an der Kernreifung, die zum haploiden Chromosomensatz führt, beteiligt. Die Kenntnis über die endokrine Steuerung der frühen Embryonalentwicklung steht bisher noch ganz am Anfang. Im-

merhin gibt es deutliche Hinweise dafür, daß Östrogene für die Differenzierung der Morula zur Blastozyste erforderlich sind.

Endocrine basis of embryo transfer and associated biotechniques

A short overview on the endocrine basis of embryo transfer and associated biotechniques is given. These biotechniques are based on physiological processes, such as oestrus cycle activity, folliculogenesis, maturation of oocytes or early embryonic development, which are substantially controlled by hormones. Reliable superovulation remains an important limitation to embryo transfer technology, thus a better understanding of the endocrine control of follicular maturation is essential for progress in this area. Follicular maturation is regulated by a complex, so far not fully understood system of local and systemic control factors, which are designed to maintain an ovulation rate of 1 for the cow. Systemic control factors are LH, FSH, inhibin, oestrogen, adrenalin and others and among these FSH is the key hormone of follicular maturation and induction of superovulation. FSH secretion and thus ovulation rate is affected substantially by inhibin. Local, intraovarian control factors of follicular maturation include receptors for LH, FSH, oestradiol, oestradiol itself and a number of postulated factors, such as follicular growth inhibitor (FGI), FSH binding inhibitor or aromatase inhibitor, which deserve considerable scientific interest. Preliminary results indicate, that active immunization against some of these factors will render animals more responsive to treatments designed to induce superovulation. The goal of oocyte maturation, which includes two maturational processes, is the ability of fertilization. Steroid hormones appear to be essential for the maturation of the ooplasm and thus the block to polyspermy. LH and FSH stimulate biosynthesis of steroid hormones and participate indirectly in nuclear maturation of the oocyte, which culminates in a haploid number of chromosomes. Our knowledge on the endocrine control of early embryonic development is very scarce. Nevertheless, it appears that oestrogens are necessary for the differentiation of the morula to blastocyst stage.

Literatur

- Adamson, E. D. und Gardner, R. L. (1979): Control of early development. — In: Br. Med. Bull. 35, S. 113–119.
- Armstrong, D. T. et al. (1981): Hormonal and cellular interactions in follicular steroid biosynthesis by the sheep ovary. — In: J. Reprod. Fert. Suppl. 30, S. 143–154.
- Baird, D. T. und McNeilly, A. S. (1981): Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrus cycle of the ewe. — In: J. Reprod. Fert., Suppl. 30, S. 119–133.
- Baker, T. G. und Hunter, R. H. F. (1978): Oogenesis and follicular growth in the cow: Implications for superovulation. — In: Screenan, J. M. (Hrsg.) Control of Reproduction in the Cow. Martinus Nijhoff. The Hague, S. 34–49.

- Bindon, B. M. et al. (1986): Genetic and hormonal factors affecting superovulation. – In: *Theriogenology* 25, S. 53–70.
- Elsaesser, F. (1982): Endokrinologie des Zyklus, der Ovulation und des Laktationsanöstrus beim Schwein. – In: *Züchtungskunde* 54, S. 333–338.
- Epping, J. J. und Downs, S. M. (1984): Chemical signals that regulate mammalian oocyte maturation. – In: *Biol. Reprod.* 30, S. 1–11.
- Hunter, R. H. F. (1982): *Reproduction of farm animals. Longman Handbooks in Agriculture.* Longman, London and New York.
- Johnson M. H. (1979): Intrinsic and extrinsic factors in preimplantation development. – In: *J. Reprod. Fert.* 55, S. 255–265.
- McLaren, A. (1982): The embryo. In: Austin, C. R. und Short, R. V. (Hrsg.) *Reproduction in Mammals. Book 2: Embryonic and Fetal Development.* Cambridge University Press, S. 1–25.
- Meinecke, B. (1983): Interaktionen der somatischen und germinativen Komponenten des präovulatorischen Follikels in vivo und in vitro dargestellt am Modell des *Sus scrofa*. Habilitationsschrift.
- Moor, R. M., Kruip, Th. A. M. und Green, D. (1984): Intraovarian control of folliculogenesis: Limits to superovulation? – In: *Theriogenology* 21, S. 103–116.
- Niemann, H. und Elsaesser, F. (1986): Evidence for estrogen-dependent blastocyst formation in the pig. In: *Biol. Reprod.* 35, S. 10–16.
- Richards, J., Rao, M. C. und Ireland, J. J. (1977): Actions of pituitary gonadotrophins on the ovary. – In: Crichton, D. B. et al. (Hrsg.): *Control of Ovulation.* Butterworth, London, S. 197–216.
- Roche, J. F. und Ireland, J. J. (1984): Manipulation of ovulation in cattle. – In: *Proceeding of the 10th Int. Congr. on Anim. Reprod. and AI, University of Illinois, Urbana-Campaign/USA, Bd. IV, IV–9 bis IV–17.*
- Spicer, L. J. und Echtenkamp, S. E. (1986): Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: A review. – In: *J. Anim. Sci.* 62, S. 428–451.
- Staigmiller, R. B. und England, B. G. (1982): Folliculogenesis in the bovine. – In: *Theriogenology* 17, S. 43–52.
- Verfasser: Elsaesser, Folkmar, Dr. sc. agr., Institut für Tierzucht und Tierverhalten der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig–Völkenrode (FAL), Institutsteil Mariensee, Institutsleiter: Professor Dr. med. vet. Dr. sc. agr. D. Smidt.