

Fachbereich Veterinärmedizin
Freie Universität Berlin

**Untersuchungen zur Ovartransplantation
bei Goldhamstern, Mäusen und
Afrikanischen Zwergziegen**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae veterinariae
(Dr. med. vet.)

vorgelegt dem

Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

von

Tierarzt Thomas Hildebrandt
geb. am 16.07.63 in Berlin

Gründungsdekan: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. Grunert

Gutachter: 1. Univ.-Prof. Dr. habil. R. Berg
2. Prof. Dr. sc. Ch. Pitra
3. Prof. Dr. habil. R. Ippen

**In der Wissenschaft gleichen wir alle nur den
Kindern, die am Rande des Wissens hie und da
einen Kiesel aufheben, während sich der weite
Ozean des Unbekannten vor unseren Augen
erstreckt.**

Isaac Newton

Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	4
Begriffsbestimmung	5
1. Einleitung	6
2. Literaturübersicht	8
2.1. Chirurgische Techniken bei der Ovartransplantation	8
2.1.1. Freie Transplantation	8
2.1.2. Transplantation mit Gefäßanschluß	12
2.2. Immunologische Grundlagen der Ovartransplantation	13
2.2.1. Mechanismen der Transplantatabstoßung	16
2.2.2. Prävention der Transplantatabstoßung	17
2.2.2.1. Immuntoleranzinduktion	18
2.3. Anwendungen der Ovartransplantation (Allgemeine Übersicht)	20
2.3.1. Ovartransplantation in den medizin-theoretischen Wissenschaften	22
2.3.1.1. Anatomie	22
2.3.1.2. Endokrinologie	25
2.3.1.3. Gerontologie	26
2.3.1.4. Sexualwissenschaft	28
2.3.1.5. Immunologie	30
2.3.1.6. Onkologie	32
2.3.2. Therapeutische Einsatzmöglichkeiten der Ovartransplantation	33
2.3.3. Ovartransplantation in den Biowissenschaften	35
2.3.3.1. Genetik	35
2.3.3.2. Reproduktionsbiologie	37
2.3.3.3. Kryobiologie	40
2.3.3.4. Ethologie	41
3. Eigene Untersuchungen	42
3.1. Material und Methode	42
3.1.1. Tiermaterial und Gerätschaft	42
3.1.2. Biogene Klebetechnik	44
3.1.3. Ovarteilresektion und Ovartransplantation beim Goldhamster und bei der Maus	45
3.1.4. Ovartransplantationstechnik bei der Zwergziege	48
3.1.5. Knochenmarkgewinnung und -aufbereitung bei der Zwergziege	50
3.1.6. Fetale Beimpfung bei der Zwergziege	51
3.1.7. Hauttransplantation bei der Zwergziege	52
3.1.8. Statistische Auswertung	52

3.2.	Ergebnisse	53
3.2.1.	Ovarteilresektion beim Goldhamster	53
3.2.2.	Orthotope autogene Ovartransplantation unter Verwendung von Zweikomponentenfibrinkleber beim Goldhamster und der Zwergziege	56
3.2.2.1.	Ergebnisse beim Goldhamster	56
3.2.2.2.	Ergebnisse bei der Zwergziege	59
3.2.3.	Orthotope isogene Ovartransplantation beim Goldhamster und der Maus	64
3.2.3.1.	Ergebnisse beim Goldhamster	64
3.2.3.2.	Ergebnisse bei der Maus	67
3.2.4.	Knochenmarkgewinnung und-aufbereitung bei der Zwergziege	70
3.2.5.	Fetale Beimpfung bei der Zwergziege	72
3.2.6.	Prüfung der Immuntoleranz mit Hauttransplantationen	74
3.2.7.	Ektope allogene Ovartransplantation bei der Zwergziege	77
4.	Diskussion	86
5.	Schlußfolgerungen	105
6.	Literaturverzeichnis	108
	Anhang	128
	Danksagung	128
	Selbständigkeitserklärung	129
	Thesen	130

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

A.	- Arteria
Aa.	- Arteriae
Abb.	- Abbildung
d	- Tag/Tage
GVHR	- Graft Versus Host Reaction
h	- Stunden
H-Ag	- Histokompatibilitätsantigene
H.E.-Färbg.	- Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HVGR	- Host Versus Graft Reaction
Komp.	- Komponente
KM	- Körpermasse
Lig.	- Ligamentum
M.	- Musculus
MHC	- Major Histocompatibility Complex
OP	- Operation
OVTR / OVTRR	- Ovartransplantation(en)
p	- Irrtumswahrscheinlichkeit
p.c.	- post conceptionem
p.op.	- post operationem
p.p.	- post partum
s.c.	- subkutan
SD	- Standardabweichung
SSL	- Scheitel-Steiß-Länge(n)
Tab.	- Tabelle
V.	- Vena
Vv.	- Venae
ZFK	- Zweikomponentenfibrinkleber
X	- Arithmetisches Mittel

Begriffsbestimmung

Der Begriff Ovartransplantation (OVTR) umfaßt alle Formen der Übertragung weiblicher Keimdrüsen nach Durchtrennung ihrer Versorgungsstrukturen und ist von der Operationstechnik nach ESTES (1924) als Vertreter der plastischen Verfahren abzugrenzen. Eine Sonderform ist die gestielte OVTR. Sie beinhaltet die zeitliche Trennung von Verpflanzung und operativer Unterbrechung der Versorgungsstrukturen des Ovars (LEAVITT und CARLSON 1969; LEAVITT et al., 1971; MARTIN und DZUIK, 1974).

Je nach Transplantationsort unterscheidet man die orthotope OVTR, d.h. an dem anatomisch entsprechenden Ort, von der ektopischen (heterotopen) OVTR, d.h. die Übertragung erfolgt an eine beliebige andere Körperstelle.

Die Transplantationen können sowohl mit intraoperativer Rekonstruktion der Blutgefäße in Form von Anastomosen sowie auch als freie Transplantationen ohne sofortigen Gefäßanschluß erfolgen.

Anhand der histogenetischen Verhältnisse zwischen Spender und Empfänger ergeben sich vier große Transplantationsgruppen (DRÖßLER, 1988):

1. **OVTR mit autogenem Gewebe (Autotransplantate)**
Spender und Empfänger sind ein und dasselbe Individuum.
2. **OVTR mit isogenem (syngenem) Gewebe (Isotransplantate)**
Spender und Empfänger sind Vertreter einer Spezies, die so nahe verwandt sind, daß es keinen Unterschied in der Struktur der Histokompatibilitätsantigene (H-Ag) bis auf die geschlechtsspezifischen gibt.
3. **OVTR mit allogenem Gewebe (Allotransplantate)**
Spender und Empfänger sind Vertreter der gleichen Spezies und unterscheiden sich im Aufbau ihrer H-Ag.
4. **OVTR mit xenogenem Gewebe (Xenotransplantate)**
Spender und Empfänger gehören verschiedenen Spezies an und unterscheiden sich deutlich in der Struktur der H-Ag.

1. Einleitung

Die Ovartransplantation (OVTR) wurde am Ende des 19. Jahrhunderts erstmals ausgeführt. Sie fand schnell Eingang als methodisches Hilfsmittel bei unterschiedlichen Experimenten, sowie im begrenzten Maße als therapeutisches Verfahren bei hormonellen Dysbalancen oder reproduktiven Störungen in der Humanmedizin.

Die vielfältigen Anwendungsbereiche der OVTR ergeben sich aus den vegetativen und generativen Funktionen des Ovars. Die Eierstöcke mit ihren spezifischen Funktionen im endokrinen System, ihrer morphologischen Reaktion auf ontogenetische und ökologische Bedingungen sowie ihrer Funktion als Gametenproduzent im weiblichen Organismus, lassen sie zum geeigneten Objekt für vielfältige Transplantationsuntersuchungen werden.

In der vorliegenden Arbeit wird eine Literaturübersicht erstellt und gleichzeitig eine kritische Wertung der erschienenen Publikationen zum Thema der OVTR vorgenommen. Dieser Überblick schließt auch eine Reihe historischer Veröffentlichungen mit weit verstreuten und teilweise schwer zugänglichen Quellen ein.

Die Transplantationstechniken wurden im Laufe der Zeit für die speziellen Untersuchungen modifiziert. Sie reichen von der einfachsten Form, der subkutanen Autotransplantation, bis zur allogenen orthotopen OVTR mit Gefäßanschluß und Immunsuppressionstherapie. Die freie orthotope OVTR, wie sie fast ausschließlich für kleine Laborsäuger bei reproduktiven Untersuchungen zur Anwendung kommt, ist operationstechnisch leicht zu handhaben. Nachteilig ist die nur langsam einsetzende Revaskularisation der Transplantate. Die daraus resultierende Ischämie im Gewebe führt zum großflächigen Gewebeuntergang und hohen Verlusten an ovulationsfähigen Oozyten. Darüber hinaus kommt es nicht selten zum vollständigen Verlust von Transplantaten vor dem Einsetzen der Gefäßeinsprossung aufgrund ungenügender Fixierung des übertragenden Ovarmaterials.

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit ist auf zwei Schwerpunkte ausgerichtet. Zum ersten wird durch Einsatz der biogenen Klebetechnik in die OVTR die Möglichkeit untersucht, inwieweit damit eine Verbesserung der Operationstechnik zu erzielen ist. Die Untersuchungen erfolgen mit humanem Zweikomponentenfibrinkleber (ZFK), erstmalig angewandt bei der freien, orthotopen OVTR am Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) in zwei Farbschlägen, an der Maus (*Mus domestica*) in zwei Zuchtlinien sowie an dem Modelltier Afrikanische Zwergziege (*Capra aegagrus f. domestica*).

Ein prinzipielles Problem bei Transplantationen zwischen Individuen mit unterschiedlichen Histokompatibilitätsantigenen (H-Ag) ist die Gewebeunverträglichkeit. Die etablierten Methoden der Transplantologie in der Humanmedizin sind derzeit extrem kostenintensiv und mit hohem gerätetechnischen Aufwand verbunden.

Zur Überwindung der Histoinkompatibilitätsbarriere bei allogenen bzw. xenogenen Transplantationen muß nach neuen Wegen gesucht werden. Eine Alternative zur Ausschaltung der Host Versus Graft Reaction (HVGR) könnte die fetale Toleranzinduktion durch Erzeugung von Blut- bzw. Gewebechimären darstellen.

Der zweite Experimentaltel der Arbeit beschäftigt sich mit der Nutzung dieser Methode für die allogene OVTR bei der Afrikanischen Zwergziege. Die Einbringung von donor-spezifischen Knochenmarkstammzellen in noch nicht immunkompetente Feten wird in Verbindung mit der intrauterinen, ultraschallgestützten Punktionstechnik erprobt.

Die vorliegende Arbeit entstand als Gemeinschaftsprojekt zwischen dem Institut für Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, der Forschungsgruppe Versuchstierzucht des Institutes für Tierzüchtung und Haustiergenetik der Humboldt-Universität zu Berlin und dem Institut für Zoo- und Wildtierforschung im Forschungsverbund e.V. Berlin sowie durch die intensive Unterstützung der Abteilung Pränatale Diagnostik der Frauenklinik des Bereichs Medizin (Charite) der Humboldt-Universität zu Berlin.

2. Literaturübersicht

2.1. Chirurgische Techniken bei der Ovartransplantation

2.1.1. Freie Transplantation

Aufgrund der Fortschritte in der Mikrobiologie am Ende des vergangenen Jahrhunderts etablierte sich in Europa und Amerika die aseptische Operationstechnik. In der experimentellen Chirurgie wurde verstärkt auf dem Gebiet der Gewebeübertragung gearbeitet. Es gelang, verschiedenste Organe zu verpflanzen. Vorherrschend waren freie ekto- oder orthotope Transplantationen (KNAUER, 1896).

KNAUER (1896, 1898, 1900) war der erste Operateur, der die OVTR an Tieren erfolgreich ausführte.

Unabhängig davon, aber zeitgleich, entwickelte MORRIS (1895) die Technik der Ovarverpflanzung beim Menschen.

Vom besonderen Interesse war eine Technik, mit der nicht nur die endokrine, sondern auch die reproduktive Funktion des Ovargewebes nach der Übertragung erhalten werden konnte. GRIGORIEFF (1897) transplantierte die Eierstöcke von Kaninchen in Anlehnung an KNAUER (1896, 1898) ins Lig. latum uteri. Er ließ den dorsalen Anteil des Ovars vom Serosaüberzug unbedeckt, so daß dieser frei in die Peritonealhöhle reichte. Erstmals wurden im Ergebnis dieser Experimente nach der Übertragung von Ovargewebe Nachkommen von Empfängertieren mit Ovartransplantaten geboren.

CASTLE und PHILLIPS (1909) übertrugen bei ihren Meerschweinchenversuchen die Ovarien orthotop und arbeiteten mit genetischen Markern in Form von unterschiedlichen Fellfarben. Ihnen war es dadurch möglich, die Abstammung der nach OVTR geborenen Jungen nachzuweisen.

Die am häufigsten angewendete Methode insbesondere für endokrinologische Studien wurde die freie Transplantation unter die Tunica fibrosa renalis. Erstmals beschrieben wird diese Form der Übertragung von TAMURA (1927) bei seinen Versuchen mit allogenen Mäuseovarien. Die Transplantation hat den großen Vorteil, daß das pararenal übertragene Gewebe sehr schnell durch die Nierenrindengefäße revaskularisiert wird. Zusätzlich ist das Transplantat fest im Empfänger fixiert und läßt sich relativ einfach wiederfinden. Eine ähnliche Technik verwendete auch LIPPSCHÜTZ (1925). Er traumatisierte zusätzlich die Nierenrinde, so daß es sich bei seinen experimentellen Arbeiten am Meerschweinchen um intrakortikale Transplantationen handelt.

MURRAY (1927) verpflanzte Mäuseovarien und MOORE und PRICE (1942) übertrugen embryonale Rattenovarien subkutan in den Bereich der Bauchwand.

SCHOCHET (1920), GOODMAN (1934) und TORREY (1950) übertrugen juveniles bzw. fetales Ovargewebe in die vordere Augenkammer von Ratten. Diese Technik erlaubte die ständige visuelle Kontrolle der Verhältnisse am Transplantat. ALLEN und PRIEST (1932) erarbeiteten eine ähnliche Methode für das Kaninchen, wodurch sie in der Lage waren, die In-vivo-Wirkung von exogen zugeführten Hormonen auf das Transplantat abzulesen. Mit äquivalentem Versuchsaufbau arbeiteten TALAMANTES et al. (1977) bei Mäusen zur Untersuchung der ovariellen Reaktion auf humanes Plazentalaktogen.

STEINACH (1920) übertrug Ovarien intramuskulär, um eine schnellere Revaskularisation des eingebrachten Gewebes zu erreichen. Er transplantierte Rattenovargewebe in den M. rectus abdominis. Bei der Verpflanzung von Eierstöcken auf Männchen ist die STEINACHsche Methode ebenfalls günstig, da nach Kastration mittels Laparotomie der Bauchmuskel für den Operateur leicht zugänglich ist (DOMINGEZ et al., 1968). Gleichfalls nutzte man den M. rectus abdominis in der Humanmedizin nach Totalexstirpation des weiblichen Geschlechtsapparates für die Einbringung von gesundem Restovargewebe (BUXTON und WONG, 1950).

GOECKE und WIRZ (1931) sowie GOLDMAN (1974) entschieden sich bei ihren Versuchen mit Mäusen für die Oberschenkelmuskulatur als Transplantationsort. THOREK (1930) nutzte die Halsmuskulatur bei seinen Verpflanzungen von fetalen menschlichen Eierstöcken in Rhesusaffen.

Die Standardmethode der orthotopen freien Ovartransplantation für reproduktive Studien geht auf ROBERTSON (1940) zurück. Er entwickelte sie für die Maus. Diese Spezies besitzt gegenüber vielen anderen Säugetierenarten eine das Ovar vollständig umschließende Bursa ovarica. Modifiziert wurde diese Technik von STEVENS (1957), welcher aufgrund einer besseren nutritiven Versorgung der Transplantate nicht mehr mit ganzen, sondern mit halbierten Eierstöcken arbeitete.

JONES und KROHN (1960) gaben eine ausführliche Beschreibung einer ähnlichen Vorgehensweise, die sich insoweit von der ROBERTSONschen Technik unterschied, daß sie einen anderen Zugang zum Rezipientenovar wählten. Diese Autoren führten die Ovariectomie und Transplantation nach Durchtrennung des Fettanteils der Bursa ovarica aus. ROBERTSON (1940) beschrieb dagegen den Zugang zum Ovar über die Eröffnung der Bursamembran. Die von JONES und KROHN (1960) entwickelte Methode ermöglichte nach ihren Erfahrungen eine leichtere und sichere Kastration des späteren Wirtes.

PARROTT (1959, 1960) veränderte die ROBERTSONsche Transplantationstechnik durch die Einführung der Röntgensterilisation als Alternative zur chirurgischen Ovariectomie. Die so inaktivierten Eierstöcke boten die Sicherheit, daß nur donoreigenes Ovargewebe im Rezipienten reproduktiv wirksam werden konnte. Sie führte diese Operationstechnik bei der Maus und dem Goldhamster aus.

In der Humangynäkologie wurde neben der orthotopen Transplantationstechnik (GLASS, 1899), die intrauterine OVTR (MORRIS, 1895; DUDLEY, 1899; KÖHLER, 1953) entwickelt, die sich besonders für ausgewählte Sterilitätsbehandlungen anbot. Mit Hilfe des direkten Einbringens der Transplantate in die Gebärmutter bestand die Möglichkeit trotz resezierter oder defekter Eileiter eine Konzeption zu gewährleisten.

Für tierexperimentelle Untersuchungen wurde die intrauterine OVTR von WIESNER (1923) und WEBER (1927) verwendet.

Auf der Grundlage der spezifischen Blutbahnverhältnisse im Organismus und der daraus resultierenden Metabolisierungsprozesse, wurde eine Gruppe von Transplantationstechniken entwickelt, welche die hepatische Inaktivierung der ovariell sezernierten Sexualhormone ausnutzt. Progesteron, Androstendion und Östrogen können nach der Leberpassage im peripheren Blutkreislauf nicht oder nur noch unterschwellig als biologisch aktive Stoffe wirksam werden. In diese Gruppe gehören die Transplantationen in das große bzw. kleine Netz (ROMBERG, 1935; BER, 1968, 1970a,b, 1973), in die Magenwand (ZINDEL-GRUNDER, 1981), in die Milz (FLAMENT-DURAND und DESCLIN, 1967; LEAVITT und CARLSON, 1969, GARG et al., 1973) oder ins Mesenterium (JASZCZAK und HAFEZ, 1971).

Das Einbringen von Transplantaten in das Pfortadersystem und die damit gestörten Feed-Back-Mechanismen hatte eine exzessive Ausschüttung von hypophysären Gonadotropinen zur Folge. Es entsteht ein pseudoklimakterischer Zustand, der bei längerem Fortbestehen zur tumorösen Entartung des Ovartransplantates insbesondere der Luteinzellen führen kann (BER, 1970; REICHLE et al., 1972; ARMUTH und BERENBLUM, 1979).

Eine Kuriosität stellen die Versuche von MAEKAWA und IMAMURA (1967) dar, die für toxikologische Fragestellungen Ovargewebe in die Hoden von Ratten transplantierten.

MANGOUSHI (1975) wählte den Hodensack sowohl von kastrierten als auch von nicht kastrierten männlichen Ratten als Transplantationsort für fetales Ovargewebe, um den Einfluß der abgesenkten Umgebungstemperatur auf die Entwicklung der Eierstöcke zu testen.

Ungewöhnlich ist auch die Transplantation von Ovargewebe subkutan ins Ohr. MURANYI-KOVACS et al. (1977) wählten diesen Ort, da sich die Transplantate ohne großen Aufwand durch einen Scherenschlag wieder entfernen ließen.

Eine besondere Art der freien OVTR stellt die Transplantation des Ovargewebes in einer Kapsel dar. Erstmals von CASTELLANOS und STURGIS (1957, 1958) für die Allotransplantation bei der Ratte sowie Manguaby- und Rhesusaffe beschrieben, beruht diese auf dem Prinzip nichtvaskularisierter Transplantate. Die verwendete Millipore-Filter-Kammer aus Zelluloseester schützte durch ihre geringe Porengröße das Gewebe vor dem Kontakt mit den Wirtszellen, ermöglichte aber dem Ovargewebe mittels Diffusion die

entsprechende Nährstoffaufnahme und Sekretion gewebespezifischer Hormone. Ähnliche Überlegungen waren für SHAFFER und HULKA (1969) der Anlaß, ihre allogenen Kaninchenovarien vor der Transplantation in isolierte Corneae kammerartig zu verpacken. TAKETO-HOSOTANI et al. (1989) verwendeten eine Mikrogelkapsel, in die fetales Ovargewebe eingegossen wurde. Sie sicherte die trophische Versorgung des Transplantats, schützte es aber vor Wechselwirkungen mit den Wirtszellen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird erstmalig die Eignung der biogenen Gewebeklebung mit Zweikomponentenfibrinkleber (ZFK) speziell für die freie OVTR geprüft.

Eingang fand das Verfahren der Gewebeklebung bei der Fixierung von Hauttransplantaten und -lappenplastiken (FREY et al., 1979; RUPP, 1983; STAINDL, 1982, 1983), der Parenchymklebung bei Nieren-, (HENNING und URLESBERGER, 1984), Leber-, Milz- und Pankreasoperationen (MARCZELL, 1985; SCHEELE, 1982; SCHEELE et al., 1984), der Fixierung von Knorpel- und Knochenfragmenten und -implantaten (BÖSCH, 1981; HAID et al., 1984) und der Klebung von peripheren Nerven (KLETTER und HORACZEK, 1982).

Darüber hinaus finden sich in der Literatur weitere Indikationen für den Einsatz des ZFK in den Bereichen der Blutstillung (GASTPAR, 1982; GASSER et al., 1983), der unterstützenden Wundheilung (BRANDS et al., 1984) sowie der Abdichtung von gefährdeten Anastomosen im Darmbereich (ALDERI et al., 1984; BÖTTICHER, 1984) und an Blutgefäßen (HAVERICH et al., 1984).

Die Vorteile eines Klebeverfahren sind nach STEMBERGER und BLÜMEL (1984) wie folgt einzuschätzen:

- Der ZFK kann als atraumatische Alternative Nahtmaterial in einigen Bereichen ersetzen.
- Der ZFK wirkt neben seinen gewebefixierenden Eigenschaften als lokales Hämostyptikum.
- Der ZFK ruft bei Erstanwendung keine Fremdkörperreaktion hervor.
- Der ZFK erlaubt den Verschluß von nicht nähbaren Wunden an parenchymatösen Organen.

Die Fibrinklebung entspricht in ihrem Reaktionsablauf der letzten Phase der Blutgerinnung und basiert auf der Umsetzung von Fibrinogen zu Fibrin. Das gebildete Fibrin haftet mit physikalischen und chemischen Bindungskräften an den zu verklebenden Gewebeteilen. Im Verlauf der Wundheilung übernimmt nach KAESER und DUM (1988) das Fibrin die Funktion einer Leitschiene für die in das Wundgebiet einsprossenden Fibroblasten und Kapillaren.

Aufgrund der oben genannten Eigenschaften ist zu erwarten, daß der Einsatz des ZFK in der freien OVTR

1. zu einer Vereinfachung der Transplantationstechnik führt,
2. eine schnelleren Revaskularisation des Transplantates zur Folge hat und
3. Nachblutungen bzw. Verluste der Transplantate durch ungenügende Fixierung am Transplantationsort verhindert.

2.1.2. Transplantation mit Gefäßanschluß

Die Ausführung der OVTR mit intraoperativer Revaskularisation mittels Anastomosen war eng mit den Fortschritten auf dem Gebiet der Mikrochirurgie verbunden.

Versuche, die Ovarien von größeren Tieren als Kaninchen frei zu transplantieren, schlugen meist fehl. Die große Organmasse im Vergleich zur relativ kleinen Oberfläche konnte durch einfache Diffusionsvorgänge bis zur langsam einsetzenden Revaskularisation nicht ausreichend versorgt werden. Es kam zu zentralen Gewebenekrosen. DEMPSTER (1954) zeigte anhand der erfolgreichen OVTR beim Hund mit Hilfe von Gefäßanastomosen die Lösung auf. ERASLAN et al.(1966) übertrugen orthotop den gesamten Genitaltrakt beim Hund mit intraoperativer Gefäßrestauration. GODING et al. (1967) erarbeiteten eine ähnliche Methode für die ektopische Transplantation von Ovar mit oder ohne Uterus beim Schaf. Die Methode von GODING et al. (1967) fand sehr schnell Verbreitung (ROWSON, 1970; McCracken et al., 1971, HARRISON und HEAP, 1978) und wurde intensiv für die Prostaglandin - Forschung eingesetzt (Kap.2.3.1.1. und 2.3.1.2.).

Die GODINGsche Operation wird in zwei Phasen ausgeführt: Zuerst erfolgt die Überführung der A. carotis communis und V. jugularis externa in einen aus der lockeren Haut des Halsbereiches geschaffenen Tunnels. In der zweiten Phase, ca. zwei Monate später, wird das linke Ovar mit A. und V. ovarica, beide noch mit einem Gefäßanteil aus dem Mündungsbereich der Aorta abdominalis bzw. der V. cava caudalis versehen, durch End-zu-Seit-Anastomosen mit den beiden im Hauttunnel befindlichen Halsgefäßen verbunden. Der Transplantationsort erlaubt in einfacher Weise die Langzeitblutentnahme aus unmittelbarer Ovarnähe. In der heutigen Zeit greift man auch auf diese Art der Transplantationstechnik beispielsweise zur Erforschung des Androstendions (CAMPBELL et al., 1990a, b) zurück.

Experimentelle OVTR mit Gefäßanschluß wurden bei unterschiedlichen Tierarten ausgeführt. REICHLE et al. (1972) nutzten diese Technik für Untersuchungen zur Tumorgenese bei Ratten.

DENJEAN et al. (1982) erprobten drei unterschiedliche Techniken für die Autotransplantation des Ovars mit Revaskularisation beim Kaninchen. Sie transplantierten

den Eierstock (1.) orthotop, (2.) heterotop in die Leistengegend und (3.) wie zweitens, nur daß dabei das Ovar zusätzlich in einen Peritonealsack eingeschlossen wurde.

In der Literatur finden sich ebenfalls Arbeiten über die OVTR mit Gefäßanschluß als Bestandteil einer teilweisen, Ovar- und Eileiter- oder vollständigen Genitalverpflanzung. SCOTT et al. (1987) führten diese Operation bei Ratten aus.

Für das Kaninchen beschrieben WINSTON und McCLURE BROWNE (1974) die Genitalteiltransplantation von Ovar und Eileiter.

Die Verpflanzung des Ovar-Uterus-Komplexes führten neben ERASLAN et al. (1966) auch MATTINGLY et al. (1970) und PALDI et al. (1975) bei Hunden aus.

HARRISON und HEAP (1972) sowie HARRISON et al. (1979) berichteten von der ortho- und heterotopen OVTR mit Gefäßanastomosen beim Schwein.

SCOTT et al. (1981) zeigten, daß die Autotransplantation eines Eierstockes mit intraoperativem Gefäßanschluß auch bei Rhesusaffen mit Erfolg durchführbar ist.

Der Schritt zur Autotransplantation beim Menschen war damit nicht mehr weit. ICHINOE et al. (1985) und VON THEOBALD et al. (1987) berichten von ersten Versuchen der OVTR bei Frauen. Es handelte sich bei diesen um Bestrahlungspatientinnen z.B. mit Morbus Hodgkin, bei denen das strahlungsempfindliche Ovar aus dem Applikationsort mittels ektooper OVTR entfernt wurde.

2.2. Immunologische Grundlagen der Ovartransplantation

Die OVTR besitzt in Hinblick auf die immunologischen Verhältnisse gegenüber der Transplantation anderer Organe zwei Besonderheiten.

Erstens sezerniert das transplantierte Ovargewebe Steroide (Progesteron und Östrogen), die eine immunsuppressive Wirkung besitzen (VAN VLASSELAER und VANDEPUTTE, 1985; DRAEHMPAEHL, 1993).

Zweitens scheint die Immunogenität des Ovargewebes im Vergleich zu Haut- oder Knochenmarktransplantaten geringer zu sein (BILLINGHAM und PARKES, 1955; BAILEY, 1970, GOSDEN, 1992. Trotz dieser günstigen Voraussetzungen für die OVTR kommt es bei allogenen oder xenogenen Transplantationen ohne eine das Immunsystem modulierende Behandlung zur Transplantatrejektion. Im nachfolgenden Abschnitt wird deshalb kurz auf die allgemein gültigen Grundlagen der Transplantationsimmunologie eingegangen.

Eine Aufgabe des Immunsystems ist es, körpereigen von körperfremd zu unterscheiden und genetisch differente Zellen oder Zellverbände zu eliminieren. Nach DUTZ et al. (1988) wurde dieser Mechanismus im Laufe der Evolution herausgebildet. Er beruht auf der Notwendigkeit, gegen virusinfizierte oder mutierte Zellen vorgehen zu können. Die

Aufrechterhaltung der individuellen Integrität des Organismus führt aber dazu, daß übertragenes Fremdgewebe als nicht körpereigene Eiweißstruktur erkannt und abgestoßen wird.

Die zwei Hauptmerkmale der adaptiven Immunität, das Gedächtnis und die Spezifität, spielen dabei eine Schlüsselrolle. Hauptsächlich werden die T-Lymphozyten für die Abstoßung von Gewebetransplantaten verantwortlich gemacht. Diese Annahme wird durch folgende experimentelle Untersuchungen unterstützt. Thymuslose Nacktmäuse (Nude Mäuse) tolerierten selbst xenogene Transplantate (HOUDA et al., 1992), wogegen neonatal Bursa-fabricii-ektomierte Hühner, die überhaupt keine B-Lymphozyten besitzen, in der Lage waren, allogenenes Gewebe abzustoßen (ROITT et al., 1987).

Allerdings ist eine Beteiligung der B-Lymphozyten insbesondere bei Nierentransplantatabstoßungen nachgewiesen. Antikörper traten besonders dann als Effektoren auf, wenn bereits eine Sensibilisierung auf die Spenderantigene erfolgt war (ROITT, 1988). Die Organtransplantation ohne Reaktion des Immunsystems ist erstens nur unter genetisch identischen Verhältnissen (autogene und isogene Transplantation) oder zweitens bei Transplantationen an dem Immunsystem unzugänglichen Orten ("immunologisch privilegierte" Orte^{*}) möglich. Hierzu zählen:

- vordere Augenkammer,
- Kornea,
- Gehirn,
- Fettpolster der Brustdrüse,
- alymphatische Hautlappen,
- Hoden (VON FELLEBERG, 1978).

Einen Sonderfall stellen Übertragungen von Fremdgewebe im Zeitraum vor der fetalen bzw. neonatalen Etablierung des Immunsystems (speziesabhängig) dar. Die Fähigkeit zur Erkennung von Antigenen ist an die Organogenese von Thymus und Knochenmark gebunden. Diese primären immunologischen Organe sind die Determinationsorte für B- und T-Lymphozyten beim Säugetier. Gewebeübertragungen in noch nicht immunkompetente Wirte, d.h. vor dem Zeitpunkt des Vorhandenseins von reaktionsfähigen Lymphozyten, führten zum Phänomen der Immuntoleranz (siehe Kapitel 2.2.2.1.). Nach der Induktion einer antigenspezifischen Toleranz kommt es bei wiederholtem Kontakt mit diesem Antigen zu keiner Aktivierung immunkompetenter Zellen im Wirt (BILINGHAM et al., 1953; WJASOW und BARABANOW, 1978; ROITT, 1988).

^{*} *Immunologisch privilegierte Orte sind nach BUNDSCHUH et al. (1988) bestimmte Körperregionen eines zur Immunität befähigten Organismus, in denen ein Transplantat aufgrund fehlendem oder unzureichendem Lymphdrainagesystems nicht den Gesetzmäßigkeiten der Rejektion unterliegt.*

Bei Organübertragungen zwischen genetisch differenten Individuen gleicher (allogene Transplantation) oder unterschiedlicher Spezies (xenogene Transplantation) kommt es grundsätzlich zur Aktivierung der Immunabwehr mit dem Ziel einer Transplantatrejektion. Die Stärke der Immunreaktion hängt ab von den im Spenderorganismus genetisch determinierten Antigeneigenschaften des Transplantates (Blutgruppen- und Histokompatibilitätsantigene) sowie von der Reaktionsbereitschaft des Empfängers, die teils durch vorgegebene Faktoren, teils durch therapeutische Maßnahmen beeinflusst werden können (Kapitel 2.2.2.).

Die Blutgruppenantigene spielen bei Erstkontakt transplantationsimmunologisch in vielen Spezies eine untergeordnete Bedeutung (Ausnahme z.B. Mensch) (BOLZ und DIETZ, 1985).

Die Antigene, die ein Transplantat vor allem immunogen werden lassen, sind die Histokompatibilitätsantigene (H-Ag). Sie sind als Glykoproteine Bestandteile der Membran aller kernhaltigen Körperzellen, wobei ihre relative Menge in den verschiedenen Organen stark variiert (VON FELLEBERG, 1978). Beim Menschen werden die auf den Leukozyten exprimierten H-Ag als HLA (Human Leucocyte Antigen)- System bezeichnet. Der erhebliche Polymorphismus dieser Antigene, so ergaben genetische Studien, ist bei allen Spezies Ausdruck der vielen unabhängig segregierenden Loci auf den Histokompatibilitätsgenen. Man fand bisher 40 verschiedene Genorte allein bei der Maus, die mit H-1, H-2 usw. durchnummeriert wurden, wobei der als H-2 bezeichnete Genkomplex, der Major Histocompatibility Complex (MHC), in seiner Bedeutung dominiert (ROITT 1988). Der MHC-Komplex kodiert generell die "starken" Transplantationsantigene, die eine heftige, äußerst schwer unterdrückbare Abstoßungsreaktion im Wirt induzieren. Die übrigen H-Komplexe verschlüsseln die sog. "Minor"-Transplantationsantigene, deren Unterschiedlichkeit bei Spender und Empfänger eine nicht so drastische Immunreaktion wie bei MHC-Differenz auslösen (DRÖBLER, 1988).

Bei Übertragung von immunkompetenten Zellen (T-Lymphozyten) in einen allogenen Empfänger mit fehlendem oder vermindert reaktivem Immunsystem tritt eine andere sonst nur unterschwellig vorhandene Immunreaktion auf. Die transplantierten Zellen erkennen das Wirtsgewebe als fremd und beginnen ungehindert mit der Bildung von zytotoxischen T-Lymphozyten. Diese vom Transplantat ausgehende Immunreaktion, sie wird als "Graft Versus Host" - Reaktion (GVHR) bezeichnet, kann zum Tod des Rezipienten führen. Die immunologische Aggressivität von immunkompetenten Donorzellen ist heute noch das Hauptproblem der Knochenmarktransplantation beim Menschen (Storb, 1989).

2.2.1. Mechanismen der Transplantatabstoßung

Die Einheilung oder Abstoßung eines Transplantates ist vom Grad der histogenetischen Differenz zwischen Spender und Empfänger abhängig. An der Rejektion sind im unterschiedlichen Maße zelluläre wie auch humorale Elemente des spezifischen Immunsystems beteiligt. Die zelluläre Antwort steht bei Transplantatabstoßung nach Erstkontakt im Vordergrund (SILVERSTEIN et al., 1963a). Zelluläre Effektoren der Rejektion sind insbesondere zytotoxische T-Lymphozyten und T-Helferzellen in Verbindung mit Makrophagen sowie anderen Zellen des Immunsystems.

Von der humoralen Seite werden Antikörper unterschiedlicher Spezifität wirksam. Die Hauptgruppen der Antikörper sind:

- Antikörper gegen die Strukturen des H-Ag Systems,
 - gegen Strukturen des Gefäßendothels im Transplantat und
 - Antikörper im System der zellvermittelten Zytotoxizität
- (ROITT, 1988; BUNDSCHUH et al., 1988).

Die Gedächtnisfunktion als Leistung des Immunsystems führt bei Übertragung von Zweittransplantaten eines identischen Spenders statistisch zu einer schnelleren Rejektion als bei Erstkontakt (DRÖBLER, 1988).

Nach der klinischen Verlaufsform unterscheidet man die Transplantatabstoßung in perakute, akute(früh/spät) und chronische Formen. Bei den frühen Rejektionsformen steht der Funktionsverlust verursacht durch ablaufende Prozesse in der Strombahn, zeitlich vor den morphologisch faßbaren Veränderungen (BUNDSCHUH et al., 1988). Die Charakterisierung der einzelnen Stadien wurde von ROITT et al. (1987) und BUNDSCHUH et al. (1988) am Beispiel der Nierentransplantatrejektion beim Menschen aufgestellt.

1. *Perakute Abstoßung*. Sie erfolgt innerhalb von Minuten bis wenigen Stunden nach der Operation und ist durch die Verklumpung von Erythrozyten sowie Mikrothrombenbildung in den Gefäßen gekennzeichnet. Sie wird bei Individuen beobachtet, die gegen MHC-Antigene vorsensibilisiert sind.

2. *Akute frühe Abstoßung*. Sie zeigt sich bis ca. zehn Tage nach der Transplantation. Morphologisch findet man häufig ein interstitielles Ödem, Rundzellinfiltrate und Kapillarrupturen im Transplantat.

3. *Akute späte Abstoßung*. Sie tritt vom elften Tage an auf und ist durch Immunglobulinanlagerungen an der Gefäßwand und Plättchenaggregation gekennzeichnet.

4. *Chronische Abstoßung*. Diese Form ist durch einen kontinuierlichen Funktionsverlust aufgrund subendothelialer Ablagerungen von Immunglobulinen und zellulären Elementen in der Intima charakterisiert. Die Prozesse setzen sich später als Interstitiumfibrose und -hyalinose verbunden mit atrophischen Erscheinungen direkt im Transplantat fort.

2.2.2 Prävention der Transplantatabstoßung

Es existieren unterschiedliche Strategien um eine Transplantatrejektion zu umgehen oder um Spendermaterial und Empfänger so zu präparieren, daß sich nur eine milde, beherrschbare Form der Transplantationsimmunität ausbildet. Es folgt eine Übersicht der gebräuchlichen Verfahren:

(I.) Verfahren mit reaktionsloser Transplantatannahme

1. - die Autotransplantation (CAMPBELL et al., 1990a, b),
2. - die Transplantation zwischen monozygoten Zwillingen (ANDERSON et al., 1951),
3. - die Arbeit mit Inzuchtlinien (SCOTT et al., 1987),
4. - die Transplantation in immunologisch privilegierte Orte (PARROTT, 1960),
5. - die Transplantation im Millipore Filter, der einen Zelldurchtritt verhindert (CASTELLANOS und STURGIS, 1958),
6. - die Transplantationen in thymuslose Nude Mäuse (GOSDEN, 1992 HOUDA et al., 1992).

Unter Einschränkung kann auch die Gewebetypisierung von Empfänger und Spender in diese Gruppe eingeordnet werden, da sie keinen Einfluß auf die Reaktionslage des Immunsystems nimmt. Die Analyse der antigenen Strukturen und die anschließende Zusammenstellung der Transplantationspaare, ermöglicht die Abstoßungsprozesse zu minimieren. Zur Auffindung übereinstimmender Spender- Empfängerpaare dient:

7. - die Typisierung nach zwei Systemen: Blutgruppenantigenen und MHC-Antigenen.

In der Humanmedizin wurde durch den Aufbau von länderübergreifenden Transplantationsnetzen mit Datenbanken der potentiellen Empfänger versucht, innerhalb kürzester Zeit eine optimale Zuordnung von Spender und Empfänger zu erreichen (DUTZ et al., 1988).

II. Verfahren mit aktiver Beeinflussung der Transplantationsimmunität / Weitere Untergliederung in nicht antigenspezifische (IIa.) und antigenspezifische (IIb.) Methoden.

IIa. Die antigenunspezifischen Behandlungsmethoden mit Deletion oder Suppression der immunkompetenten und/oder antigenpräsentierenden Zellen im Wirt und Transplantat beruhen auf folgenden Mechanismen:

physikalisch:

8. - systemische oder lokale Röntgenbestrahlung des Wirtes (HELBIG et al., 1988),
9. - Bestrahlung des Transplantates mit UV-Licht (CHABOT et al., 1990),
10. - Abtrennung immunkompetenter Lymphozyten aus Knochenmarkzellsuspensionen mittels Dichtegradiententechnik (BARKER und McFARLAND 1983),

chemisch:

- 11. - unspezifisch wirkende Zytostatika z.B. Cyclophosphamid (HELBIG et al., 1988),
- 12. - unspezifisch wirkende steroidale Sexualhormone (DRAEHMPAEHL, 1993),
- 13. - spezifisch auf das Immunsystem wirkende Substanzen wie z.B. Cyclosporin A (WOLFF und WINKLER, 1988),

immunologisch:

- 14. - Antilymphozytenglobulin (POSSELT et al., 1990)

chirurgisch:

- 15. - Thymektomie (BUNDSCHUH et al., 1988),
- 16. - Splenektomie,

zellzüchterisch:

- 17. - lymphozytenfreie Langzeitkulturen von Knochenmarkstammzellen (SERKE, 1990).

IIb. Die antigenspezifischen Verfahren sind:

- 18. - Erzeugung von Zellchimären in der natürlichen präimmunologischen Phase (fetale bzw. neonatale Toleranzausbildung) (BILLINGHAM et al., 1953),
- 19. - Transplantation von Fremdgewebe in das aktive Wirtsthymusgewebe nach Entfernung der reifen Lymphozytenpopulation (POSSELT et al., 1990).
- 20. - passives oder aktives Antikörper - Enhancement (DRÖBLER, 1988).

Die Punkte 3, 5, 6, 12, 15, 16, 18, 19 sind von experimentellem Interesse und werden bei menschlichen Organverpflanzungen bisher nicht angewandt.

2.2.2.1. Immuntoleranzinduktion

Die Immuntoleranz ist nach ROITT et al. (1987) die aktiv erworbene Nichtreaktivität, bei welcher der Antigen-(Tolerogen)kontakt zur spezifischen Eliminierung bzw. Inaktivierung antigenreaktiver Lymphozytenklone oder zur Bildung von Suppressorzellen führt, die ein Ansprechen der immunkompetenten Lymphozyten unterdrücken.

Bei einem immunkompetenten Organismus kommt es in der Regel nach Antigenkontakt zur Aktivierung seines Immunsystems mit dem Ziel der Ausbildung zellvermittelter und humoraler Immunität. Wird ein Antigen vor der Ausreifung des Immunapparates (pränatal oder neonatal) appliziert, so führt die Verabreichung nicht zur Immunität, sondern zur spezifischen Toleranz des Antigens (BUNDSCHUH et al., 1988).

Toleranzerscheinungen treten unter bestimmten Bedingungen auch bei erwachsenen Individuen auf, sollen aber im folgenden unberücksichtigt bleiben.

Die Aufklärung der Mechanismen der Toleranzinduktion war sehr eng mit den Untersuchungen zum Freemartinismus (Zwickenbildung) verbunden.

LILLIE (1916) beschrieb erstmals beim Rind die Plazentaanastomosen und den damit verbundenen Blut- und Hormonaustausch zwischen den beiden genetisch differenten Zwillingen.

OWEN (1945) zeigte die immunogenetischen Konsequenzen der Plazentaanastomosen bei den dizygoten Rinderzwillingen auf und legte damit den Grundstein für das Verständnis der Ontogenese des Immunsystems. Er fand, daß es in der frühen Embryonalentwicklung zum gegenseitigen Austausch von hämatopoetischen Stammzellen kommt, welches die Herausbildung von stabilen Blutchimären zur Folge hat. Die permanente Anwesenheit der fremden H-Ag induziert bei beiden Zwillingen eine spezifische Immuntoleranz gegenüber dem Gewebe des anderen. ANDERSON et al. (1951) entwickelten auf dieser Grundlage einen Hauttransplantationstest, um mit dessen Hilfe schon frühzeitig die unfruchtbaren Zwicken selektieren zu können. Die geschlechtsverschiedenen Zwillinge waren bei bestehendem intrauterinem Zellaustausch nicht in der Lage, Hauttransplantate ihres histogenetisch differenten Zwillings zu erkennen und abzustößen. Die wechselseitige Übertragung von radiomarkierten Lymphozyten zwischen den Zwillingen erbrachte das gleiches Ergebnis (BROWNLIE 1981).

Auch beim Schaf wurden Plazentaanastomosen gefunden, die eine Immuntoleranz bei genetisch differenten Zwillingen bedingten (SLEE, 1963; DAIN, 1971).

Die experimentelle Umsetzung dieses Phänomens erfolgte durch BILLINGHAM et al. (1953), die neugeborenen Mäusen Milzzellen erwachsener Tiere einer anderen Inzuchtlinie injizierten. Später waren die adulten Rezipienten gegenüber Hauttransplantaten der Spenderlinie tolerant, stießen aber Gewebe anderer nichtverwandter Mäusestämme ab. Ein ähnlicher Versuchsaufbau findet sich bei den Experimenten von KROHN (1958). Durch die Verwendung von Gewebe immunkompetenter Spendertiere besteht die Gefahr der GVHR (siehe Kap. 2.2.). SELLER (1966), SELLER und POLANI (1966), FLEISCHMAN und MINTZ (1979), GUSTAVII et al., 1982; JAENISCH (1985), KAJIWARA et al. (1988) und MICHJEDA et al. (1992) arbeiteten mit fetalem allogenem bzw. xenogenem Spendermaterial, wobei mit Ausnahme von SELLER (1966) die Beimpfung der Rezipienten intrauterin erfolgte. Die Gefahr der GVHR wurde damit erheblich gesenkt bzw. ausgeschlossen. Ein anderer Weg zur Minimierung der GVHR beruht auf der Entfernung von immunkompetenten Lymphozyten aus der zu übertragenden Zellsuspension z.B. mittels Selektion über Dichtegradient (BARKER und McFARLAND, 1983; ELLIS et al., 1984).

Die ersten Versuche eine Immuntoleranz experimentell beim Schaf zu erzeugen, stammen von MOORE und ROWSON (1961). Sie beimpften 113 Schaffeten mit unterschiedlichen Zellmaterialien von adulten oder fetalen Donoren. In keinem der Fälle konnte eine spätere Immuntoleranz nachgewiesen werden.

Berichte über eine erfolgreiche Etablierung von allogenen blutbildenden Zellen in Schaffeten liegen von ZANJANI et al. (1982) und FLAKE et al. (1986) vor.

SIMPSON und GLOBUS (1985) beschrieben die prinzipielle Möglichkeit der intrauterinen hämatopoetischen Stammzelltransplantation bei menschlichen Feten mit Erkrankungen des blutbildenden Systems.

Über Experimente mit dem Ziel der xenogenen Toleranzinduktion liegen in der Literatur wenig Berichte vor. KAJIWARA et al. (1988) gelang es, Melanozyten von der Ratte in postimplantativen Mäuseembryonen (8,5d p.c.) durch plazentare Beimpfung zu etablieren.

PALLAVICINI et al. (1992) verimpften humane hämatopoetische Stammzellen an Mäuseembryonen und konnten nach der Geburt dieser Tiere einen Blutzellchimärismus nachweisen. MICHEJDA et al. (1992) gelang es xenogene hämatopoetische Stammzellen gewonnen aus Rhesusaffenfeten durch intrauterine Verimpfung in Pavianfeten erfolgreich zu übertragen.

Neueste experimentelle Untersuchungen in der Bekämpfung von genetisch bedingten Blutkrankheiten beim Menschen zielen darauf ab, durch intrauterine Beimpfung mit hämatopoetischen Stammzellen, gewonnen aus einer Schweineinzuchtlinie, spätere Knochenmarktransplantationen ohne Immunsuppressionstherapie bei diesen Patienten mit dem gleichen xenogenen Zellmaterial vornehmen zu können (JAHR, 1991).

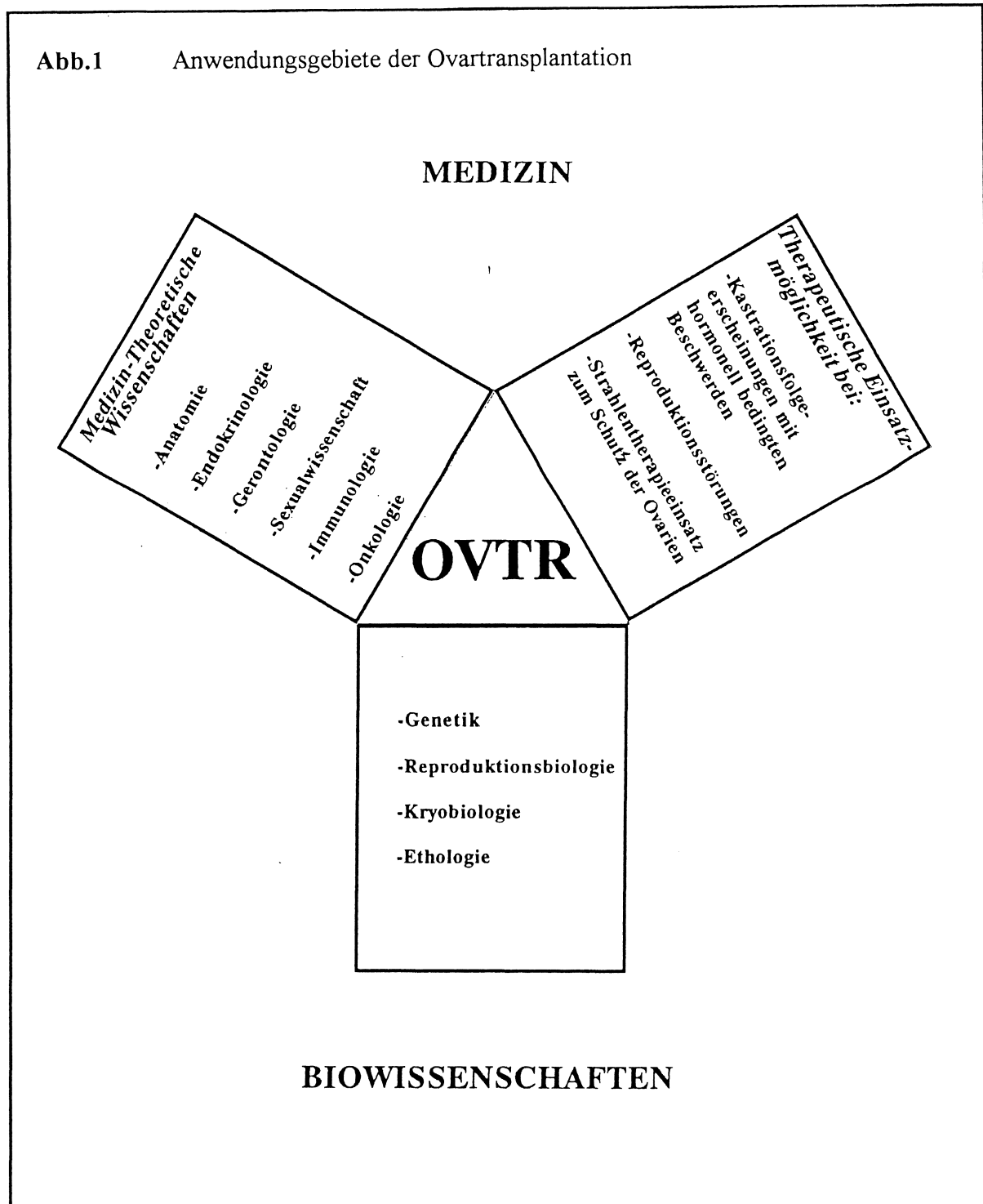
Einen Überblick zum Stand der xenogenen Transplantationstechniken geben COOPER et al. (1991).

2.3. Anwendungen der Ovartransplantation (Allgemeine Übersicht)

Die OVTR ist Bestandteil des experimentellen Methodenspektrums vieler Biowissenschaften und medizin-theoretischer Wissenschaften sowie einzelner klinischer Bereiche. Die Ursache dafür, daß die OVTR als komplizierte Methode Eingang in unterschiedlichste Forschungsgebiete gefunden hat, ist auf die besondere Bedeutung der Eierstöcke im weiblichen Organismus zurückzuführen. Durch die experimentelle Transplantation von Ovarien an einen spezifischen Ort oder in einen ausgewählten Rezipienten, ist die Möglichkeit geschaffen, Einzelaspekte des integrierten neuroendokrinen Systems näher zu untersuchen und aufzuklären. Das Ovar als Träger des germinativen Potentials des weiblichen Individuums bietet darüber hinaus die Möglichkeit, nach Transplantation vom Donor unabhängige, isolierte Reproduktionsuntersuchungen auszuführen.

Die nachfolgende schematische Abb.1 zeigt zusammenfassend die Wissenschaften bzw. klinischen Bereiche der Medizin, in denen die OVTR als Methode Anwendung findet.

Abb.1 Anwendungsgebiete der Ovartransplantation



Detaillierte Ausführungen über die einzelnen Gebiete folgen in den Kapiteln 2.3.1. bis 2.3.3.4..

2.3.1. Ovartransplantation in den medizin-theoretischen Wissenschaften

2.3.1.1. Anatomie

Die OVTR wurde experimentell für die Erforschung der Kommunikationsvarianten des Ovars mit seiner Umgebung, insbesondere der lokalen Leitungsstrukturen und den damit im Zusammenhang stehenden tierartlichen Besonderheiten, eingesetzt.

Vor rund 95 Jahren legte KNAUER (1896) den Grundstein für die experimentelle Erforschung der morphophysiologischen Strukturen des Ovars mit Hilfe der OVTR. Er postulierte nach Auswertung seiner ektopischen Eierstocksverpflanzungen beim Kaninchen:

"Dass einzig und allein die Gegenwart der functionierenden Geschlechtsdrüse dazu nöthig ist, den Eintritt der Castrationsatrophie zu verhüten, ohne Rücksicht darauf, an welcher Körperstelle sich das Ovarium befindet". Dies war einer der ersten Schritte auf dem Weg zur Aufdeckung der Transportwege der "eigenthümlichen Stoffe" aus den tätigen Keimdrüsen.

GILBERT und WOOD-GUSH (1969) gingen der Frage nach, warum das Vogelovar so stark im Gegensatz zu den Eierstöcken der Säugetiere innerviert ist. Es wurde eine Beteiligung der adrenergen und cholinergen Nervenfasern, die sich bis zu den Follikeln aufzweigen, am Ovulationsmechanismus oder dem Brutverhalten von den Autoren vermutet. Die vollständige Durchtrennung der Versorgungsstrukturen und die Retransplantation des Eierstockes hatten keinen deutlichen Einfluß auf die Follikelreifung und Ovulation. In einigen wenigen Fällen wurden nach OVTR von Hennen vollständige Eier gebildet. Histologisch konnten in den Transplantaten häufig nur ein bis zwei Nervenfasern nachgewiesen werden.

JACOBOWITZ und LATIES (1970) gingen der Vermutung nach, daß die nervale Versorgung des Ovars nach ektopischer Transplantation für seine Ovulationstätigkeit nicht essentiell zu sein scheint. Sie transplantierten autogenes Ovargewebe bei Katzen in die vordere Augenkammer und wiesen fluoreszenzmikroskopisch eine Reinnervierung durch einsprossende adrenerge Nervenfasern aus dem Irisgebiet nach. Die Verteilung der Fasern in den Transplantaten war vergleichbar mit der in intakten Ovarien. Die Autoren entkräfteten damit die Meinung, daß ektopisch transplantierte Ovarien nach der Übertragung vom sympathischen Nervensystem isoliert sind.

HARRISON et al. (1974) untersuchten die Reinnervierung durch cholinesterasehaltige Nervenfasern beim Schaf an einem vor fünf Jahren ektopisch transplantierten Ovar mit Gefäßanschluß. Sie fanden mittels histochemischer Darstellung der Cholinesteraseaktivität am Gewebeschnitt, daß die Innervation der Spiralgefäße verringert war. Das Ovar trug einen Gelbkörper.

CHIHAI et al. (1976) prüften in 3 Zeitperioden, inwieweit ein Zusammenhang zwischen der Reinnervierung von Ovartransplantaten, deren Steroidsekretion und der Vaginalschleimstruktur besteht. Die Autoren wiesen erwartungsgemäß eine eindeutige Korrelation zwischen den Vaginalschleimverhältnissen und dem Sexualhormonplasmaspiegel in den kastrierten, weiblichen Ratten mit subkutanen Ovartransplantaten nach. Keine Korrelation bestand dagegen zwischen diesen Parametern und dem Reinnervierungsgeschehen.

LARA et al. (1991) zeigten bei ihren autogenen, ektopischen OVTR-Versuchen an Ratten einen direkten Zusammenhang zwischen dem Reinnervierungsgeschehen mit sympathischen und sensorischen Nerven und den postoperativ stattfindenden Änderungen im neuroendokrinen System auf. Die Rückkehr der unmittelbar nach der Transplantation erhöhten FSH- und LH-Blutplasmawerte zum Ausgangsbereich stand in direkter Beziehung zur Nerveinsprossung. Eine Immunosympathektomie mit Hilfe von Antikörpern gegen den Nerve Growth Factor führte bei einer anderen Versuchsgruppe zum völligen Fehlen sympathischer Fasern und zur verringerten Reinnervation mit sensorischen Fasern. Bei diesen Tieren fand nach Transplantation keine Restaurierung der erhöhten FSH- und LH-Werte auf das Basisniveau statt.

Die bisherigen Beispiele zeigten, daß die Ovarkommunikation mit seiner Umgebung uneingeschränkt und unabhängig vom jeweiligen Transplantationsort möglich zu sein scheint. Es existieren zur KNAUERSchen Regel **zwei Ausnahmen**:

1. Die Transplantation der Eierstöcke in ein Gebiet, welches durch das hepatische Pfortadersystem drainiert wird, führt zu einem dramatischen Wechsel in den hypophysären - gonadalen Verhältnissen bei allen untersuchten Tierarten*.
 - a. Die übertragenen Ovartransplantate erhalten weder den vaginalen Östruszyklus noch sichern sie die weitere uterine Entwicklung.
 - b. Es kommt zur Luteinisierung anovulatorischer Follikel, verbunden mit einer Hypertrophie bzw. tumurösen Entartung der Transplantate als Antwort auf die ansteigende hypophysäre Gonadotropinsekretion. Die verstärkte Freisetzung resultiert aus dem Fehlen peripher zirkulierender Ovarsteroiden (BER, 1970; LEAVITT et al., 1971; KOHDA, 1990). Primäre Ursache scheint die hepatische Inaktivierung der ovariellen Hormone Progesteron, Androstendion und Östrogens zu sein (LEAVITT und CARLSON, 1969; LEAVITT et al., 1972).

* *Beim Frettchen erfolgt nur eine unvollständige Metabolisierung der Steroidhormone durch die Leber, so daß bei dieser Tierart die unter (a) und (b) beschriebenen Folgen nicht beobachtet werden konnten (DONOVAN, 1969).*

2. Die andere Ausnahme der KNAUERschen Regel ist beim Schaf anzutreffen. Bei dieser Spezies führt die ektopische Ovartransplantation zu persistierenden Gelbkörpern und Brunstlosigkeit. Wenn das Ovar dagegen zusammen mit dem Uterus ektopisch verpflanzt wird, kommt es nicht zur Einstellung der Zyklustätigkeit am Ovar (ROWSON, 1970).

Die Ursache liegt in der peripheren Prostaglandin-F2-alpha-Plasmakonzentration. Sie reicht beim Schaf im peripheren Blutkreislauf nicht aus, um die Regression des Corpus luteum einzuleiten (McCRACKEN et al., 1971). Mit Hilfe exogener Prostaglandin-F2-alpha-Gaben in die A. uterina ektopisch transplanterter Ovarien läßt sich der Gelbkörperabbau einleiten und innerhalb von drei Tagen die Brunst induzieren (BARRETT et al., 1971; HOPPEN et al., 1979; SCHRAMM et al., 1984). Die Aufdeckung der morphologischen Strukturen, die zur lokalen Konzentrationserhöhung des Plasmaspiegels am Ovar führen, war aufs engste mit der Prostaglandinforschung verbunden (ROWSON, 1970; HARRISON et al., 1972).

Genauere anatomische Untersuchungen über den Aufbau der uteroovariellen Verbindung beim Schaf führten McCRACKEN et al. (1971) sowie ABDEL RAHIM et al. (1984) durch. Das nach dem Gegenstromprinzip arbeitende Austauschsystem setzt sich aus V. uterina, A. ovarica und dem lokalen Lymphsystem zusammen.

Weiterführende Ausführungen und Referenzen liefert ein Übersichtsartikel zu dieser Thematik von EINER-JENSEN (1988).

Nach den bisherigen Erkenntnissen scheint diese anatomische Struktur mit der sich daraus ableitenden Funktion bisher nur beim Schaf und Meerschweinchen (BLAND und DONOVAN, 1968) solch eine Bedeutung für die Regression des Corpus luteum zu besitzen. HARRISON und HEAP (1972), MARTIN und DZUIK (1974) und HARRISON et al. (1979) prüften mittels OVTR speziell die physiologischen Verhältnisse für das Schwein und stellten fest, daß die systemische Konzentration des Luteolysefaktors ausreicht, um eine zyklische Aktivität des Ovartransplantates zu sichern.

WELSCHEN (1971) untersuchte den Zusammenhang zwischen Häufigkeit des Auftretens von Corpora lutea atretica (sind gekennzeichnet durch eingeschlossene Oozyten) und der freien OVTR. Die Inzidenz, mit der diese Struktur an Ovartransplantaten erscheint, sinkt mit zunehmender Revaskularisation und Reorganisation des Transplantates. Fetal transplantierte Gonaden zeigen eine deutlich geringere Neigung zur Bildung von Corpora lutea atretica, da sie eine längere Reorganisationszeit bis zur funktionellen Aktivität besitzen.

BAGWELL et al. (1976) führten elektronenmikroskopische Vergleichsuntersuchungen an normalen und autotransplantierten Rattenovarien durch. Sie fanden bei den Luteinzellen der Transplantate eine verminderte Ausbildung des Steroidsyntheseapparates.

Die Fragen nach Bedeutung und Funktion der Innervierung des Ovars bzw. der verschiedenen Follikelpopulationen sowie nach Ursachen der bestehenden tierartlichen Unterschiede sind noch nicht hinreichend geklärt. Die OVTR-Technik könnte mithelfen, auf diese Fragen Antworten zu finden.

2.3.1.2. Endokrinologie

Besonders viele Arbeiten, die methodisch auf der OVTR-Technik basieren, existieren auf dem Gebiet der experimentellen Endokrinologie. Die transplantierten Ovarien dienen zum einen als Donatoren von zu untersuchenden Substanzen und zum anderen als Indikatoren auf spezifisch modifizierte, endogene Verhältnisse.

Die Metabolisierungsprozesse der Sexualhormone nach OVTR ins Portalvenengebiet sowie die damit in Zusammenhang stehenden ovariellen Reaktionen untersuchten DONOVAN (1969), LEAVITT et al. (1971, 1972) und UILENBROEK et al. (1978). GARG et al. (1973) analysierten elektronenmikroskopisch speziell die möglichen morphologischen Veränderungen in den Hepatozyten. Sie fanden aufgrund des erhöhten Steroidanfalls nicht die erwartete Proliferation des glatten endoplasmatischen Retikulums.

Zusätzlich in einen weiblichen Organismus eingebrachte Ovartransplantate hatten eine Absenkung der Ovulationsrate an den In-situ-Gonaden zur Folge (CHIHAI et al., 1976a). Die einseitige Kastration bzw. OVTR eines Eierstockes ins Portalvenengebiet führte zu einer gesteigerten Ovulationstätigkeit des verbliebenen in situ Ovars (WELSCHEN, 1970)

HARRISON und HEAP (1978) gelang es durch ektopische Autotransplantation von einer Nebenniere und dem Gelbkörper tragendem Ovar, die Quellen der Progesteronsekretion während der Trächtigkeit beim Schaf näher zu bestimmen. Sie fanden, daß andere Organe, insbesondere die Plazenta, einen großen Anteil des Gesamtprogesterons produzierten.

Für die Prostaglandin-F₂-alpha-Forschung war die Arbeit mit der OVTR essentiell. Die Aufklärung der Wirkung dieser Substanz, der spezifischen Transportwege sowie der Metabolisierung geht auf die experimentellen Arbeiten von GODING et al. (1967), ROWSON (1970), BARRETT et al. (1971), McCracken et al. (1971), CHAMLEY et al. (1972), HARRISON et al. (1972) u.a. zurück, die alle mit der OVTR- Technik beim Schaf arbeiteten.

Weiterführende endokrine Untersuchungen am Schwein ergaben, daß bei dieser Tierart die systemische Prostaglandin-F₂-alpha Konzentration ausreicht, um am ektopischen Ovartransplantat die Regression des Corpus luteum zu sichern (HARRISON et al., 1979). Das nach der Methode von GODING et al. (1967) transplantierte Ovar beim Schaf bot den Vorteil eines besseren experimentellen Zugriffs gegenüber den in situ befindlichen Gonaden.

Dieses System gestattete unmittelbare Aussagen über lokale endokrine Prozesse am Ovar, gemessen an den Blutwerten aus der A. und V. ovarica. Einsatz fand die Transplantationstechnik bei der Untersuchung der gonadalen Wirkung verschiedener Substanzen. Unter anderem wurde der Einfluß von C₁₉-Steroiden (RADO et al., 1970), ovinem luteinisierendem Hormon (COLLETT et al., 1973), ovinem Placentalaktogen (SCHRAMM et al., 1984) sowie Antikörpern gegen Androstendion (CAMPBELL et al., 1990 a, b) getestet. TALAMANTES et al. (1977) prüften an intraokulären Ovartransplantaten die Wirkung von humanem Plazentalactogen in männlichen Mäusen. Humanes gonadotropes Chorionhormon wurde von BER (1971), BAIRD et al. (1971) und WATANABE (1985) an heterotop transplantierten Ovarien getestet. BER (1973) nutzte darüber hinaus die gleiche Versuchsanordnung für die Untersuchung des GnRH-Antagonisten Metallibur.

Den Einfluß eines induzierten Östrogenanstieges auf das hypothalamohypophysäre gonadale System untersuchten mit Hilfe der OVTR-Technik FLAMENT-DURAND und DESCLIN (1967), FELS (1977), JESIONOWSKA et al. (1990) und KOHAMA et al. (1989). Sie wiesen nach, daß ein erhöhter Östrogenspiegel (dosis- und dauerabhängig) eine beeinflussende bis schädigende Wirkung auf das neuroendokrine System hatte.

Die Ursachen lagen in einer Verminderung der hypophysären Gonadotropinfreisetzung, bedingt durch morphologische Veränderungen auf der Neuronenebene sowie in einer Schädigung der direkten Ovarfunktion.

Den Antagonismus zwischen Östrogen und der Wachstumspotenz bei jungen Ratten untersuchten CLARK und HOLDER (1984) ebenfalls mit Hilfe der OVTR. Da Östrogen die hepatische Somatomedinproduktion nicht, wie allgemein angenommen, negativ beeinflusste, weist dies darauf hin, daß die Inhibierung des Wachstums auf einer anderen Stufe stattfinden muß.

In der experimentellen Endokrinologie besitzt die OVTR-Technik nicht mehr die Bedeutung wie früher, da sie weitestgehend durch die Möglichkeiten der präparativen Hormonchemie ersetzt wird.

2.3.1.3. Gerontologie

Zwei der Kardinalfragen der Altersforschung sind: Gibt es eine singuläre Ursache oder multiple Gründe für das Altern? Hat jedes Organ sein eigenes eingebautes Programm des Alterns oder existiert ein übergreifendes System für alle? Durch den Einsatz der experimentellen Transplantation war es möglich, sog. "Alterschimären" mittels "heterochroner Transplantate" (KROHN, 1962) zu schaffen. Aus der Altersdifferenz, den Auswirkungen auf Empfänger und Transplantat lassen sich Schlußfolgerungen über die

inneren Zusammenhänge des funktionellen Alterns ableiten. Die OVTR erwies sich aufgrund der zentralen Stellung der Eierstöcke im Alterungsprozeß bei weiblichen Individuen als besonders gut geeignet (JONES und KROHN, 1959).

BLAHA (1970) führte eine Vergleichstudie zwischen 40-90 Tage alten bzw. 15-17 Monate alten Hamsterweibchen mit intakten Ovarien und dem gegenüber Weibchen aus beiden Gruppen mit entsprechenden heterochronen Ovartransplantaten durch. Den Weibchen wurde drei Tage nach Paarung mit sterilisierten Männchen eine definierte Menge an Hamstermorulae übertragen. Die alten, vorher kastrierten Tiere mit heterochronen Transplantaten unter der Nierenkapsel zeigten eine signifikant höhere Anzahl von Implantationsstellen als die gleich alten Tiere mit intakten Ovarien. Keine Implantationspunkte zeigten die jungen Tiere, welche nach ihrer Kastration pararenal Ovarien von den 15 - 17 Monate alten Hamsterweibchen erhielten.

OHTA (1987) untersuchte an weiblichen Ratten die altersabhängige Fähigkeit des Uterus nach artefiziellm Stimulus und hormoneller Vorbehandlung zur Deziduareaktion. Es zeigte sich, daß diese Fähigkeit im Altersbereich von 8-12 Monaten verloren ging. Die Unfähigkeit ist unabhängig von der später zu beobachtenden Fibrisierung des Endometrium sowie vom entsprechenden Alter des Gehirns der Tiere. Ratten, die im Alter von 4 Monaten kastriert wurden und zwei, fünf oder sieben Monate später subkutan Ovarien von juvenilen Donoren erhielten, zeigten im Alter von 8-12 Monaten nach Stimulus eine endometriale Reaktion.

SOPELAK und BUTCHER (1982) fanden bei ihren OVTR-Experimenten an Ratten zwei Typen der Azyklie. Junge Tiere, die aufgrund drastischer Abnahme von Ovargewebe nicht mehr in der Lage waren, ihren Sexualzyklus aufrechtzuerhalten, wurden anöstrisch. Alte Tiere, die innerhalb eines Zeitraumes von 80 Tagen ebenfalls aufgrund der Transplantatverhältnisse ihren Zyklus einstellten, wurden dauerbrünstig (klassifiziert an den Sexualhormonen). Einen signifikanten Unterschied der Oozytenzahl in den Transplantaten fanden die Autoren innerhalb der beiden Gruppen nicht, so daß das unterschiedliche Azyklieverhalten bei jungen und alten Ratten den altersbedingten Veränderungen an der hypothalamohypophysären Achse zugeschrieben wurde.

FELICIO et al. (1983), MOBS et al. (1984) und NELSON et al. (1987) stellten in den Mittelpunkt ihrer Untersuchungen den Zeitraum kurz vor bzw. nach dem altersbedingten Verlust des Sexualzyklus. Sie suchten nach Möglichkeiten, die ovarielle und/oder neuroendokrine Schädigung näher zu bestimmen und den klimakterischen Zustand aufzuheben. Pararenale Ovartransplantate von juvenilen Mäusen vermochten nur teilweise den Sexualzyklus in den senilen Rezipienten zu restaurieren. Als Ursache wird eine schon im reproduktivem Mittelalter der Tiere einsetzende neuroendokrine Schädigung des Sexual-

zentrums vermutet (MOBS et al., 1984), die im direkten Zusammenhang mit der ovariellen Sekretion zu stehen scheint.

FELICIO et al. (1983) demonstrierten mit ihren Experimenten an Mäusen die Möglichkeit der Verlängerung der Fortpflanzungsperiode. Weibchen, die mit 5 Monaten kastriert wurden und denen man 12 Monate später 5 Monate alte Ovarien transplantierte, zeigten ein deutlich verzögertes Einsetzen des Klimakteriums. Es war teilweise bis zum Alter von 30 Monaten verschoben. Das normale senile Alter der Mäuse lag bei 13 bis 16 Monaten.

PARKENING et al. (1985) arbeiteten für ihre Untersuchungen mit der direkten reproduktiven Leistung ihrer "Alterschimären". Es zeigte sich, daß orthotop transplantierte Ovarien von 17 Monate alten Mäusen wesentlich häufiger zu Trächtigkeiten in jungen Rezipienten (sechs Wochen) führten, als die Ovarien von 6 Wochen alten Tieren in 17 Monate alten Empfängern. Aus den Ergebnissen ihrer Arbeit leiteten PARKENING et al. (1985) ab, daß das Alter der Ovarien oder des Uterus nur eine sekundäre Rolle spielt. Primär ist das Alter des hypothalamohypophysären Komplexes für den Verlust der Befruchtungsfähigkeit verantwortlich.

FLURKEY et al. (1987) faßten ihre Ergebnisse zur heterochronen OVTR wie folgt zusammen. Mit zunehmendem Alter kommt es zur progressiven neuroendokrinen und ovariellen Schädigung, wobei erstere eher und intensiver abläuft. Beide führen unabhängig voneinander zur irreversiblen Azyklie. Mittels heterochroner OVTR kann man die endokrine wie auch die ovariale Schädigung verzögern, falls die Veränderungen nicht schon zu massiv sind, d.h., daß durch die Übertragung von jungen Ovarien nach vorangegangener Kastration das endokrine System in präklimakterischen Rezipienten länger funktionsfähig bleibt als normalerweise möglich. Andererseits führt die Transplantation von Eierstöcken aus präklimakterischen Tieren in junge Rezipienten zu einer deutlichen Verlängerung der Ovulationstätigkeit dieser Gonaden.

2.3.1.4. Sexualwissenschaft

Die OVTR im weiteren Sinne eröffnete auch Möglichkeiten zur besseren Erforschung der fetalen Geschlechtsdetermination und der spezifischen Aktivität des Sexualzentrums.

MOORE und PRICE (1942) nutzten erstmals die OVTR-Technik zur Erforschung der Steuerungsmechanismen bei der Sexualdifferenzierung fetaler Gonaden. Sie übertrugen juvenilen Rezipienten beiderlei Geschlechts Keimdrüsenanlagen von weiblichen und männlichen Feten. Die Frage, die sie damals untersuchten, ist heute noch genauso aktuell: *Wird das Geschlecht des germinativen Gewebes durch die während der Befruchtung stattfindende Verteilung der Geschlechtschromosomen festgelegt oder durch seine*

unmittelbare Umgebung determiniert? Sie fanden bei ihren Versuchen, daß embryonale Hodenanlagen sich unabhängig vom jeweiligen Wirt entwickeln. Dagegen bildeten sich in den embryonalen Eierstockanlagen teilweise Tubuli seminiferi ähnliche Strukturen heraus, wenn sie in männliche Wirte übertragen wurden.

TAKETO et al. (1984, 1985) transplantierten fetale Mäuseovarien adulten Männchen unter die Nierenkapsel. Die strukturell veränderten Eierstöcke sog. "Ovotestis" wurden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Sie stellten fest, daß das fetale Ovar in seiner Frühentwicklung (bei der Maus bis zum 13. Tag p.c.) die Kapazität besitzt, testikuläre Strukturen zu bilden. Rund 11 Tage nach der Transplantation bildeten sich Tubuli-seminiferi-Formationen, und es begann die Testosteronproduktion neben der Follikelentwicklung. Spermatogonien und Leydigzellen waren im "Ovotestis" nicht anzutreffen. In den Tubuli fanden sich keine oder nur degenerierte Oozyten.

Die Herausbildung testikulärer Strukturen konnte durch Einbringung der fetalen Ovarien in eine Mikrogelkapsel, welche den unmittelbaren Zellkontakt mit den männlichen Wirtszellen verhinderte, vollständig unterdrückt werden (TAKETO-HOSOTANI, 1987). Die humoralen Substanzen, die ungehindert in die Kapsel eindringen konnten, führten nicht zur "Ovotestis" - Bildung.

Das Sexualzentrum (hypothalamohypophysäre[s] Achse [System], neuroendocrine apparatus) wird speziesabhängig entweder fetal (Meerschweinchen) oder neonatal (Ratte) determiniert und ist bei weiblichen Individuen durch eine zyklische bzw. bei männlichen Individuen durch eine tonische (basale) Gonadotropinfreisetzung charakterisiert.

Eine bemerkenswerte Abweichung wurde beim Rhesusaffen gefunden. Aufgrund der Ergebnisse der OVTR scheint bei dieser Spezies ein nicht geschlechtsspezifisch differenziertes Sexualzentrum vorzuliegen (NORMAN und SPIES, 1986), da in adulte kastrierte männliche Tiere eingebrachte Transplantate einen Ovarzyklus ausbildeten, der hormonell nachweisbar war.

Pathophysiologische Veränderungen der geschlechtsspezifischen Grundtypen des neuroendokrinen Systems können durch OVTR nachgewiesen werden. Befinden sich auf übertragenen Ovarien nach der Transplantation Gelbkörper, ist von einer zyklischen Gonadotropinausschüttung auszugehen. Kommt es dagegen an den Testovarien zur polyzystischen Follikelbildung unter Abwesenheit von Ovulationen und Gelbkörpern, muß beim Rezipienten ein tonisch determiniertes Sexualzentrum vorliegen.

DOMINGUEZ et al. (1968) fanden bei männlichen Meerschweinchen mittels OVTR ein bereits bei der Geburt vorhandenes basales Sexualzentrum. Die übertragenen Ovarien entwickelten sich sowohl in neonatal als auch in adult kastrierten Tieren gleich und zeigten das Bild polyzystischer Eierstöcke mit dem völligen Fehlen von Gelbkörpern.

Mit der OVTR-Technik zeigten VAN DER SCHOOT (1973) und GREEF et al. (1980) an männlichen Ratten, daß durch eine bei der Geburt ausgeführte Kastration die Umkehrung des tonischen in ein zyklisches Sexualzentrum möglich war. MARIC et al. (1974) ermittelten unter Zuhilfenahme der OVTR, daß die Kastration bis zum 8. Tag zu dieser Fehlprägung des hypothalamohypophysären Systems bei neugeborenen, männlichen Ratten führte. Mit dem gleichen Nachweissystem konnten BOOTH und McDONALD (1975) und BOOTH (1977) beweisen, daß die experimentelle Umkehrung des neuroendokrinen Systems bei neonatal kastrierten Ratten durch Testosterongaben verhindert werden konnte.

Aus dem Befund transplanteder Testovarien in pseudohermaphroditären XY-Ratten mit Hodenanlagen und Pseudovagina schlossen SHAPIRO et al. (1975) auf die Existenz eines nichtzyklischen, maskulinen Sexualzentrums.

Nach OVTR von XX-Ovarien in azyklische XY sex-reversed weibliche Mäusemutanten, die als Besonderheit beidseitig Ovarien entwickeln, wiesen TAKETO-HOSOTANI et al. (1989) das Vorhandensein eines primär zyklischen Sexualzentrums nach. Die Autoren führten diesen Widerspruch auf eine beobachtete, fetale Oozytendegeneration in den XY-Ovarien zurück.

KÖVES et al. (1989) untersuchten an juvenilen weiblichen Ratten die Prozesse im hypothalamohypophysären System, die zu einer Pubertas praecox führen. Sie induzierten bei 20 Tage alten Weibchen durch beidseitige Ovariectomie und verschobene OVTR (mindestens 24 Stunden) mit gleichaltrigen Ovarien bei den Tieren eine durchschnittlich 10 Tage früher einsetzende Geschlechtsreife. Die Autoren erklären das Phänomen durch den für wenige Tage nach der Kastration zu verzeichnenden erhöhten FSH- und LH-Plasmaspiegel. Das unter diesen Bedingungen verstärkt gebildete Östrogen spielt eine wichtige Rolle bei der Gehirnreifung insbesondere bei der Synaptogenese im pubertären Zeitraum.

2.3.1.5. Immunologie

Zum Zeitpunkt der ersten OVTRR lagen noch keine Erkenntnisse auf dem Gebiet der Immunologie vor, welche die Vorgänge bei Gewebe- bzw. Organtransplantationen hinreichend hätten erklären können. Die intensive Arbeit mit OVTR-Technik in der Humanmedizin am Anfang dieses Jahrhunderts deckte schnell die Grenzen der Transplantationsmöglichkeiten von fremden Gewebe auf. MARTIN (1922) stellte in einem Übersichtsartikel über die Ergebnisse der OVTRR in der Humanmedizin fest, daß der früher herrschende Enthusiasmus über den therapeutischen Einsatz der OVTR geschwunden war. Er sah die Ursache dafür in der Erfolglosigkeit bei der Ausführung von allogenen und xenogenen Transplantationen.

HARRIS und EAKIN (1949) führten umfangreiche Untersuchungen zu den Bedingungen und Faktoren, die bei der Ovartransplantatabstoßung auftreten, an Ratten durch. Sie fanden, daß die Anzeichen einer Gewebeerstörung erst 5-7 Tage p.op. auftraten, desweiteren, daß die Wirtsreaktion am stärksten bei xenogenem Material war und dann je nach Verwandtschaftsgrad bei den Allotransplantaten abgestuft beobachtet werden konnte. Bei Autotransplantationen bzw. Übertragungen zwischen Zwillingen beobachteten sie keine lymphozytäre Abstoßungsreaktionen. Darüber hinaus ermittelten sie, daß bei ovariectomierten Rezipienten die HVGR gegenüber der bei nichtkastrierten Tieren signifikant gesenkt war. Die vorgeschobene Ovariectomie führte bei den entsprechenden Tieren zur Erhöhung der zirkulierenden Gonadotropine, die nach OVTR die Transplantate in einem höheren Maße zum Wachstum und zur Regeneration stimulierten. Die unterschiedliche endokrine Aktivität der allogenen Ovartransplantate in den beiden Gruppen hatte eine unterschiedliche immunologische Reaktion zur Folge. Die Autoren sahen in der Modifikation der Immunantwort des Wirtes unter gleichen genetischen Transplantatvoraussetzungen eine Bestätigung der von MEDAWAR (1948) entwickelten Theorie von der "Erworbenen Immunität" gegenüber der von LOEB (1930) vertretenden Theorie von der "Organismischen Unterschiedlichkeit".

BILLINGHAM und PARKES (1955) untersuchten die Überlebensraten von allogenen Haut- und Ovartransplantaten bei Ratten. Sie fanden, daß die Hauttransplantate durchschnittlich innerhalb der ersten 20 Tage nach der Übertragung abgestoßen wurden, wogegen Ovartransplantate teilweise bis zu 3 Monaten überlebten. Die Autoren boten mehrere Möglichkeiten der Erklärung dieses immunologischen Phänomens an.

1. Das Ovar besitzt eine geringere Dichte an Histokompatibilitätsantigenen (H-AG) gegenüber der Haut.
2. Die Qualität der H-AG bei Haut und Ovar unterscheidet sich, wobei auf dem Ovar nur Minor-Antigene lokalisiert sein könnten.
3. Das aktive Wachstum des Ovargewebes führt zur Neutralisation bzw. Inaktivierung der Immunantwort des Wirtes.
4. Die verlängerte Lebensdauer der Ovartransplantate hängt mit der durch den Kastrationstreß erhöhten Freisetzung an adrenalkortikoiden Steroiden zusammen.

KROHN (1958) wendete erstmals die von BILLINGHAM et al.(1953) entwickelte Methode der aktiven Toleranzinduktion gegenüber Fremdgewebe für die allogene Ovartransplantation an. Der Autor arbeitete bei seinem Versuch mit zwei Inzuchtmäusestämmen (C3H und CBA), deren H-Ag sehr verschieden waren. Er beimpfte neonatal die späteren Rezipienten der einen Linie mit einer Milzzellsuspension von Tieren der anderen Linie. Die beimpften Weibchen wurden nach 66 Tagen mittels Hauttransplantation auf ihre Gewebetoleranz gegenüber den anderen Inzuchttieren getestet.

Diejenigen Tiere, bei denen die übertragene Haut gut angewachsen war, erhielten 44 Tage später orthotope Ovartransplantate von Mäusen der anderen Inzuchtlinie. Die operierten Weibchen brachten nach Anpaarung eindeutig an der Fellfarbe identifizierbar Nachkommen von den Transplantaten stammend zur Welt.

GOLDMAN (1974) analysierte die immunogenetischen Ursachen für die unterschiedliche Überlebensrate von allogenen Ovartransplantaten bei Mäusen. Sie fand, daß eine H-Ag-Verschiedenheit in der H-1 Region innerhalb von 50 Tagen keine Abstoßung der Transplantate zur Folge hatte. Unterschiede in der H-4 Region führten durchschnittlich zur Abstoßung nach 15,5 Tagen, wogegen eine Inkompatibilität in der H-2.31 (K Region) und H-2.32 (D Region) zum Verlust des Ovargewebes nach 9,5 bzw. 13,5 Tagen führte. Die Autorin schlußfolgerte aus ihren Ergebnissen, daß Ovartransplantate unter bestimmten Bedingungen genau so schnell wie Herz- und Hauttransplantate abgestoßen werden können.

VAN VLASSELAER und VANDEPUTTE (1985) testeten den Einfluß von Ovargewebszellen aus Follikeln und Stroma auf die Lymphozytenmischkultur. Sie fanden, daß durch Kokultur oder Zusatz des Kulturüberstandes beider Zellarten eine deutliche inhibitorische Wirkung auf die lymphozytäre Reaktion zu verzeichnen war. Die immunsuppressive Wirkung auf die zellvermittelte Immunität trat sowohl bei Ratten- als auch bei Mäuselymphozytenkulturen auf. Als Ursache ermittelten die Autoren, die von den Zellen synthetisierten Steroidhormone Progesteron und Östradiol, wobei Progesteron als Produkt der Stromazellen einen stärkeren inhibitorischen Effekt aufwies.

2.3.1.6. Onkologie

Erste Berichte über die Einführung der OVTR-Technik in die Tumorforschung stammen von MURRAY (1927). Er stellte die Vermutung auf, daß die fast hundertprozentige Mamma-Geschwulstinzidenz bei den weiblichen Tieren eines speziell ingezüchteten Mäusestammes in direkter Verbindung mit der hormonellen Sekretion der Ovarien stand. Den Beweis konnte er mit Hilfe der OVTR antreten. Die vorher geschwulstfreien, männlichen Individuen des Zuchtstammes zeigten nach der Übertragung von Eierstocksmaterial teilweise Neubildungen im Brustdrüsenbereich.

REICHLE et al. (1972) beschäftigten sich mit dem Einfluß der ovariellen Sekretion auf die artefizielle Mammakarzinominduktion mittels 7, 12 Dimethylbenz(a)anthrazen. Intakte weibliche Ratten zeigten nach Gabe des kanzerogenen Stoffes eine Tumorzinzidenz von 92,3%. Tiere mit ektopischen Ovartransplantaten mit direktem Abfluß der V. uterina in die V. portae der Leber ließen eine deutliche Reduktion des Tumorgeschehens auf 20% beobachten. Aufgrund der veränderten hormonellen Verhältnisse in der peripheren Blutbahn nach der OVTR ins Portalvenengebiet und der gesenkten Tumorausbildung schließen die

Autoren, daß es sich bei den artefiziell produzierten Mammatumoren um hormonell sensitive Geschwülste handelte.

Quantitative Untersuchungen zur Mammakarzinominzidenz führten MURANYI-KOVACS et al. (1977) aus. Sie prüften den Zusammenhang zwischen dem Tumorgeschehen und der Expositionszeit, an kastrierten männlichen Mäusen einer spezifischen, geschwulstanfälligen Hybridkreuzung beim Tragen von Ovartransplantaten. Ein zehntägiges Tragen von Ovarstücken s.c. am Ohr führte bei 10% der Tiere zu späteren Mammakarzinomen, wogegen nach dreimonatigem Verbleiben der Transplantate im Tier die Häufigkeit auf 71% und bei lebenslanger Persistenz auf 85% anstieg.

Einen anderen Aspekt der Mammatumorgenese, die infektiöse Induktion durch den Mammary Tumor Virus, untersuchten NANDI und HELMICH (1974) an Mäusen. Sie prüften, inwieweit die Möglichkeit einer Übertragbarkeit durch die Keimzellen bestand. Ovarien von infizierten Weibchen, transplantiert in virusfreie Rezipienten, führten dazu, daß die von den Transplantatträgerinnen geborenen männlichen Tiere über die Kopulation virusfreie Tiere infizieren konnten.

Ovartransplantate selbst zeigen unter speziellen Bedingungen eine hohe Tumorzinzidenz. BER (1970) analysierte die Tumorgenese von ovariellen Autotransplantaten, die bei zwei verschiedenen alten, weiblichen Rattengruppen ins Omentum majus übertragen wurden. Es zeigte sich, daß die erstmals nach 6 Monaten auftretenden Granulosazelltumoren bei den jüngeren Tieren zwei bis dreimal häufiger waren als bei den älteren.

Die exzessive Gonadotropinfreisetzung nach intrasplener OVTR soll Promotorfunktion für die Initiierung des Tumorgeschehen an den Ovartransplantaten besitzen (ARMUTH und BERENBLUM, 1979). Die Autoren erklären ihre Hypothese mit der Tatsache, daß die Hypersekretion der Hypophyse nach einer gewissen Zeit zusammenbricht und damit kein trophischer Einfluß mehr auf das Wachstum des "autonom" gewordenen Granulosazelltumors besteht.

2.3.2. Therapeutische Einsatzmöglichkeiten der Ovartransplantation

Die ersten Berichte über die OVTR stammen neben einigen tierexperimentellen Studien zum großen Teil aus dem Bereich der Humanmedizin (MORRIS, 1895; DUDLEY, 1899; GLASS, 1899). Die Hoffnungen mittels dieser neuen Methode Frauen nach Totalexstirpation des Genitaltraktes aufgrund unterschiedlicher Ätiologie vor den postoperativen Kastrationserscheinungen zu schützen, wurden mit zunehmender Erfahrung stark eingeschränkt.

Die immunologische Barriere konnte mit den damaligen Mitteln nicht überwunden werden, so daß Versuche mit allogenem oder xenogenem Gewebe nur sehr kurzzeitig eine Besserung der endokrinen Verhältnisse zur Folge hatte (MARTIN, 1922).

Einen gewissen Erfolg verzeichnete man mit freien ektopischen Autotransplantationen von den nicht in den Krankheitsprozeß einbezogenen Ovarien. BUXTON und WONG (1950) setzten sich für eine Wiedereinführung dieser Therapiemethode zur Verhinderung von Kastrationserscheinungen in der Humanmedizin ein. Die OVTR war zu dieser Zeit schon in Vergessenheit geraten. Die neuen Möglichkeiten der direkten Hormonsubstitution hatten umfassend Verbreitung gefunden. Hinzu kam, daß bei der Autotransplantation von scheinbar unveränderten Eierstöcken immer die Möglichkeit der tumorösen Entartung nach der Verpflanzung bestand (HAMANN et al., 1985).

Dies sind Gründe dafür, daß derzeit die OVTR als Hormonsubstitutionsalternative in der modernen Humangynäkologie keine Rolle spielt. IGNATEWA (1988a) sprach in ihrer Arbeit von einer möglichen Renaissance der OVTR. Als Gründe führte sie allergische Reaktionen auf die Hormonpräparate und hohe Kosten an.

Der Einsatz der OVTR zur Infertilitätstherapie bei der Frau fand ebenfalls schon sehr frühzeitig Anwendung. Die ektopischen Transplantationen in den Eileiterstumpf (MORRIS, 1895) oder direkt in den Fundus uteri (DUDLEY, 1899) führte im geringen Prozentsatz zur Sterilitätsbehebung.

KÖHLER (1953) brachte unter diesem Aspekt eine chronologische Auflistung der ausgeführten Eierstocksübertragungen in der Humanmedizin über einen Zeitraum von 50 Jahren. Die Erfolge in der In-vitro-Fertilisationstechnik bzw. der Einsatz der Mikrochirurgie, insbesondere bei pathologisch veränderten Eileitern ließen auch dieses Einsatzgebiet der OVTR als veraltet erscheinen.

In einem Spezialbereich der Humangynäkologie hingegen gewinnt die OVTR-Technik an Bedeutung. Patientinnen im fertilen Alter, die sich aufgrund von Morbus Hodgkin oder anderer tumoröser Entartungen im subdiaphragmatischen Beckenbereich einer kombinierten Bestrahlungs- und Chemotherapie unterziehen müssen, werden infolge der starken zytostatischen Behandlung in 80% der Fälle vorzeitig steril. (VON THEOBALD et al., 1987). Nach ICHINOE et al. (1985) und SCHEIDEL et al. (1985) bietet die ektopische Autotransplantation mit Gefäßanschluß die Möglichkeit, das Ovar aus dem Bestrahlungsgebiet zu entfernen und seine endokrine Aktivität zu bewahren. VON THEOBALD et al. (1987) konnten sonographisch nachweisen, daß mit der von ihnen entwickelten Technik ein derart transplantiertes Ovar darüber hinaus in der Lage ist, Ovulationen auszuführen.

Von den genannten Autoren wird für zukünftige Studien eine orthotope Retransplantation nach Therapieabschluß in Erwägung gezogen. Die bisherigen Ergebnisse besitzen eher experimentellen Charakter, zeigen aber eine neue Möglichkeit der Verhinderung von Strahlungsschäden am germinativen Gewebe auf.

Der Einsatz der OVTR in der kurativen Veterinärmedizin unterliegt anderen Wertmaßstäben als in der Humanmedizin. ZINDEL-GRUNDER (1981) führte experimentelle Untersuchungen zur Retransplantation von autogenem Ovargewebe nach Totalexstirpation des Genitaltraktes bei Hündinnen durch. Die in die Magenwand eingesetzten Transplantate unterlagen der hepatischen Metabolisierung, so daß im peripheren Blutkreislauf nur ein unterschwelliger Sexualhormonspiegel zu verzeichnen war. Diese Konzentration reichte aus, um die unerwünschten Kastrationsfolgen wie Apathie, Adipositas und Incontinentia urinae zu verhindern. Die Ergebnisse der Autorin zeigten, daß die OVTR in der Veterinärmedizin gegenüber der aufwendigen und kostenintensiven Hormonsubstitution eine gleichrangige Berechtigung hätte.

2.3.3. Ovartransplantation in den Biowissenschaften

2.3.3.1. Genetik

CASTLE und PHILLIPS (1909) führten erstmals genetische Untersuchungen mit Hilfe der OVTR-Technik durch. Sie experimentierten mit zwei unterschiedlichen Fellfarbschlägen an Meerschweinchen. Die Spendertiere besaßen die dominante Farbe schwarz und die Empfängertiere waren rezessive Albinos. Die Rezipienten wurden nach orthotoper OVTR mit einem rezessiven Albinomännchen gepaart. Ein Tier brachte zwei schwarze Junge zur Welt. Aus ihren Versuchsergebnissen schlossen die beiden Autoren, daß keine Modifikation in den weiblichen Keimzellen trotz veränderter Umgebung stattgefunden hatte.

BAUNACK et al. (1988) untersuchten ebenfalls den Einfluß maternaler Effekte bei Inzuchtmäusestämmen unter Verwendung der OVTR-Technik. Die Geburtssmasse als ein Kriterium des pränatalen Einflusses der mütterlichen Umgebung zeigte nach isogener orthotoper OVTR eine geringere Streuung (Varianz) gegenüber Vergleichswerten bei Kontrolltieren. Die Autoren erklären die gefundenen Unterschiede mit der Uniformität der ovulierenden Oozyten nach der Revaskularisation des Transplantates. Die Geburtssmasse wird zu ca. 40% durch die Verhältnisse im Oozytenplasma vor Fertilisation determiniert, so daß BAUNACK et al. (1988) in der Angleichung der Geburtssmassen nach OVTR eine Form des maternalen Einflusses vermuten.

Anwendung fand die OVTR bei der Aufklärung von genetischen Defekten mütterlicherseits, die zu manifesten Erkrankungen oder zum intrauterinen Absterben der Früchte führen.

STEVENS et al. (1957) könnten mit der OVTR-Technik den homozygot-rezessiven Charakter des Krankheitsbildes der Dystrophia muscularis (dy/dy) beim Inzuchtmäusestamm 129 nachweisen. An Muskeldystrophie erkrankte Tiere zeigten die ersten Symptome nach ungefähr 2 Wochen p.p. und waren danach innerhalb kürzester Zeit nicht mehr in der Lage, Paarungen auszuführen. Durch die Transplantation der Ovarien von diesen Tieren auf einen F₁-Hybriden (Dy/dy) war es möglich, Anpaarungen mit Männchen vom heterozygoten (Dy/dy) und normalen (Dy/Dy) Genotyp vorzunehmen. Die reproduktive Nutzung der Ovarien war damit wesentlich verlängert. Nachkommen aus der Kombination von (Dy/Dy) Männchen und (dy/dy) Weibchen zeigten keine Symptome der Muskeldystrophie.

Mit einem ähnlichen System suchten GRANHOLM und DICKENS (1986) nach den Ursachen der bei gelben Mäusemutanten (Ay/a; C57BL/6J) im Alter auftretenden reproduktiven Verluste. Tiere dieser Linie hatten ein charakteristisches gelbes Fell, waren fettleibig, zeigten eine erhöhte Geschwulstanfälligkeit und die homozygoten Embryonen starben intrauterin ab. Die heterozygoten Weibchen tragen maximal drei Würfe aus und sind danach steril. Die Autoren fanden mit Hilfe der OVTR, daß die vermeintlich geschädigten Ovarien transplantiert in normale Rezipienten über den gesamten Fortpflanzungszeitraum aktiv sind. Als Sitz der reproduktiven Schädigung konnte mit großer Sicherheit das hypothalamohypophysäre System ermittelt werden.

IGNATEWA (1988a) wendete die OVTR für die Vermehrung von Nude Mäusen, einer genetischer Mäusemutante mit Immunsystemdefekt an. Homozygote Weibchen dieser Zuchtlinie besitzen schwere extragonadal gelegene, reproduktive Fehlregulationen, die eine effektive Zucht mit ihnen sehr schwierig gestalten. Die in reproduktiv intakte F₁-Hybriden eingebrachten Eierstöcke der Nude-Mäuse besitzen vergleichbare reproduktive Daten wie normale Kontrolltiere.

BREM et al. (1990) standen vor dem Problem, daß nach Erzeugung transgener Mäuse durch Einführung des menschlichen Wachstumshormon-Gens, die weibliche Seite vollständig steril war. Sie überwandten diesen pathologischen Wechsel im Reproduktionsgeschehen der Tiere durch die OVTR von transgenen Ovarien in normale Mäuse des gleichen Stammes. Die Schädigung der Fertilität war extraovariell determiniert, so daß die Rezipienten mit ihren Spenderovarien transgene Nachkommen austrugen. Sie erklärten den abrupten Abbruch der Fertilität bei den transgenen Tieren als Folge der hohen Expression des menschlichen Wachstumshormons in den somatischen Zellen und der daraus resultierenden Beeinflussung des Prolaktinsystems. Zusätzlich kam es bei den Weibchen aufgrund des Ansteigens der Körpergröße auf das 2,5 fache zu einer Schädigung des Sexualverhaltens gegenüber den Männchen. BREM et al. (1990) weisen darauf hin, daß durch den Einsatz der OVTR-Technik neue Experimentaltierlinien geschaffen werden

könnten, wenn die Founder-Tiere nicht direkt für die Reproduktion nutzbar sind. In diesem Zusammenhang wird auf neue Varianten transgener Tiere, Individuen mit speziellen Onkogenen oder viralen Genomelementen verwiesen.

2.3.3.2. Reproduktionsbiologie

Der Anteil der Publikationen, die sich mit den generativen Eigenschaften des Ovars beschäftigen, ist gegenüber denen, die die vegetative Funktion dieses Organs in den Mittelpunkt der Betrachtungen stellen, relativ gering. Berichte mit reproduktionsbiologischer Fragestellung liegen für größere Säugetiere kaum vor.

Die Idee, die OVTR für die gezielte Zucht zu nutzen, stammte von KNAUER (1896) und wurde erstmals von GRIGORIEFF (1897) durch eine ausgetragene Trächtigkeit beim Kaninchen nach Autotransplantation der Eierstöcke teilweise in die Praxis umgesetzt.

CASTLE und PHILLIPS (1911) nutzten für die OVTR einen stark ingezüchteten Meerschweinchenstamm. Sie transplantierten bei 143 Meerschweinchen Ovarien orthotop. Spender und Empfänger unterschieden sich im Allel der Fellfarbe. Bei insgesamt drei Würfen hatten die Jungen den genetischen Charakter der Donortiere.

Auf ROBERTSON (1940) geht das Standardverfahren der orthotopen OVTR mit vorgeschalteter Ovariectomie bei der Maus zurück. Er arbeitete bei seinen Transplantationsexperimenten mit syngen und allogenen Eierstöcken. Die Fruchtbarkeitsrate nach syngener OVTR bei 8 Tieren lag um 50%. Dagegen unterlag das übertragene allogene Gewebe vollständig der Transplantatrejektion.

STEVENS (1955) verpflanzte die Ovarien nicht innerhalb einer Inzuchtlinie, sondern zwischen Inzuchtmäusen und deren F₁-Hybriden. Diese Kombination ergab neben der Gewebeverträglichkeit die Möglichkeit der leichten Herkunftsbestimmung der Nachkommen anhand der Fellfarbe. Der Autor erhielt für 24 OVTR zwischen Mäusen der Inzuchtlinie (129) und deren F-1 Hybriden (129 X DBA) nach der ROBERTSONschen Methode eine Fruchtbarkeitsrate von 66%. STEVENS et al. (1957) nutzten für einen Großversuch mit 294 Rezipienten das gleiche Transplantationsschema, wobei sie aber nicht mehr intakte, sondern halbierte Ovarien übertrugen. Die erreichte Fruchtbarkeitsrate wurde mit 69% angegeben.

KROHN (1958) gelang erstmals durch eine vorgeschaltete Toleranzinduktion bei den späteren Rezipienten nach OVTR von Tier zu Tier über die immunogenetischen Schranken der Gewebeunverträglichkeit hinweg die Fertilität zu erhalten. Im Ergebnis der Versuche hatten vier spezifisch immuntolerante Mäuse Nachkommen. Eine Fruchtbarkeitsrate gab der Autor nicht an.

PARROTT (1959) arbeitete auf der Suche nach einem neuen Modelltier für die OVTR mit Goldhamstern. Die Rezipienten wurden mittels Röntgenstrahlung sterilisiert und erhielten ein oder zwei Ovarhälften von einem anderen Farbschlag in jede Bursa ovarica. Von den 45 operierten Tieren hatten nach Anpaarung 27 Weibchen Nachkommen (entspricht 60%). In einer weiteren Versuchsserie verknüpfte PARROTT (1960) die orthotope OVTR mit Einfrierversuchen von Ovargewebe bei -79°C. Sie erhielt bei verschiedenen Mäuselinien mit unbehandelten Ovarien nach deren Übertragung in 41 Weibchen eine durchschnittliche Fruchtbarkeitsrate von 56%. Der Gefrierprozeß hatte eine deutliche Absenkung der im Transplantat enthaltenen vitalen Oozyten zur Folge. Der Prozentsatz fertiler Mäuse mit vorher gefrorenen Transplantaten lag bei einer Gesamtzahl von 74 Tieren bei 38%.

JONES und KROHN (1960) führten mit ihrer modifizierten ROBERTSONsche Technik (siehe Kapitel 2.1.1.) die orthotope OVTR an verschiedenen Mäuseinzuchtlinien aus. Sie erzielten bei einer Gesamttransplantationsanzahl an 86 Tieren eine Fruchtbarkeitsrate von 47%. Die Autoren prüften zusätzlich die Transplantate im histologischen Auszählverfahren auf Veränderungen in der Oozytenpopulation. Sie fanden bei 3-30 Tage alten Transplantaten linienabhängig eine Oozytenverlustrate bezogen auf intakte Ovarien zwischen 30 und 90%.

ERASLAN et al. (1966) gelang die erste erfolgreiche OVTR mit intraoperativem Gefäßanschluß als Bestandteil einer Gesamtgenitalverpflanzung beim Hund. In der experimentellen Studie wurden 18 nullipare Hündinnen kastriert und anschließend der Genitaltrakt replantiert. Die Gefäßnähte erfolgten im Bereich des gemeinsamen Ursprunges der Aa. hypogastricae sowie im Bereich der Vv. hypogastricae. Von den operierten Tieren wurde ein Weibchen trächtig und trug erfolgreich einen Wurf mit 9 Jungen aus.

WINSTON und McCLURE BROWNE (1974) transplantierten Eileiter und Ovar mit Gefäßanastomosen beim Kaninchen. Nach der orthotopen Autotransplantation wurden von den vier operierten Tieren 2 Weibchen trächtig, ein Tier starb und das andere hatte einen Uterushorninfarkt.

PALDI et al. (1975) nutzten eine ähnliche Operationstechnik wie ERASLAN et al. (1966) mit Gefäßanschluß an die A. und V. iliaca interna für die orthotope Autotransplantation des gesamten Genitaltraktes bei 12 Hündinnen. Ein operiertes Tier wurde trächtig und warf drei gesunde Junge. Die allogene Transplantation mit Austausch der Genitalien zwischen Wurfgeschwistern ohne Immunsuppressionstherapie hatte in einer anderen Gruppe mit 4 Tieren nach 3 Monaten in allen Fällen den Untergang der Transplantate zur Folge. Der Versuch in einer dritten Gruppe mit 13 Weibchen auf die intraoperative Revaskularisation zu verzichten und nur eine Verbindung mit der Vagina und dem Netz herzustellen, führte nach 3 Monaten zur Degeneration und Funktionslosigkeit der übertragenen Organe.

SCHMIDT et al. (1976) prüften die Möglichkeit, inwieweit die OVTR die Zuchtarbeit in einer Kolonie prädiabetischer Chinesischer Hamster der Fa. Upjohn effektivieren könnte. Die Ursache der schlechten Reproduktivität in der Zuchtkolonie war, daß die diabetisch auffälligen Tiere infertil wurden. Die Autoren entwickelten eine neue Transplantationstechnik unter Einsatz eines Mikrokauters. Aufgrund der geringen Größenverhältnisse im Bursabereich war der blutende mesovarielle Gefäßstumpf nach der Kastration der Rezipienten für den Operateur nicht einsehbar, so daß sich die Blutstillung durch Mikrokauterisation als sehr vorteilhaft erwies. Von 24 Transplantatträgerinnen hatten 79% dieser Tiere mindestens einmal Nachkommen.

Gegenstand der reproduktionsbiologischen Untersuchungen von PARKENING et al. (1985) war die Beziehung zwischen dem Lebensalter von Spender und Empfänger. Bei der orthotopen OVTR innerhalb einer Mäuseinzuchtlinie zwischen gleichaltrigen jungen Tieren (6 Wochen) erzielten die Autoren eine Fruchtbarkeitsrate von 58% (12 Tiere). Die Fruchtbarkeitsrate sank dagegen bei heterochronen Donor/Rezipienten-Verhältnissen auf 50% (12 Tiere), wenn die Donoren 17 Monate alt waren und auf 9% (11 Tiere), wenn diese alten Tiere Ovarien von den 6 Wochen alten Mäusen erhielten. Keine Trächtigkeiten kamen nach OVTRR zwischen den 17 Monate alten Mäusen zustande (11 Tiere).

SCOTT et al. (1987) übertrugen bei Ratten einen Teil des Genitaltraktes, bestehend aus einem Ovar, dem entsprechenden Eileiter sowie dem zugehörigen distalen Ende des Uterushornes. Es erfolgte eine intraoperative Revaskularisation mit Anastomosen an der Aorta und der V. cava caudalis. Als Besonderheit arbeiteten die Autoren neben isogenen auch mit allogenen Transplantaten. Bei letzteren wurden die Rezipienten einer Immunsuppressionsbehandlung mit Cyclosporin A (Sandoz Ltd., Basel, Schweiz) unterzogen. Nach der isogenen Transplantation mit Gefäßanschluß wurden von den acht operierten Tieren sechs trächtig (entspricht 75%).

Bei den zwölf ausgeführten allogenen Transplantationen sank die Fruchtbarkeitsrate auf 25%. In zwei Kontrollgruppen wurde auf den Gefäßanschluß bzw. auf die Immunsuppressionstherapie verzichtet. Keines von diesen Tieren wies später funktionstüchtige Transplantate auf.

BAUNACK et al. (1988) arbeiteten für ihre Untersuchungen zum präovulatorischen maternalen Einfluß auf die Nachkommen mit der orthotopen OVTR-Technik von JONES und KROHN (1960). Nach Übertragung isogener Ovarien in zwei Mäuseinzuchtstämme (C57BL und AKR) wurden 76 (44%) von den operierten 174 C57BL Mäusen und 36 (38%) von den 106 AKR Tieren trächtig.

BREM et al. (1990) erhielten von in der natürlichen Anpaarung infertilen transgenen Mäuseweibchen mit Hilfe der OVTR Nachkommen. Die Fruchtbarkeitsrate der 15 Rezipientinnen mit transgenen Ovarien lag bei 67% (10 Tiere).

VEPRINTSEV und ROTT (1979) wiesen auf die originelle Anwendungsmöglichkeit der OVTR zur Erhaltung der genetischen Diversität und reproduktiven Kapazität seltener bzw. vom Aussterben bedrohter Tierarten hin.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Erhaltung der reproduktiven Funktion der übertragenen Ovarien durch die Verbesserung der Operationstechnik (Gefäßanschluß), die gezielte Spender/Empfänger-Auswahl nach immunogenetischen Kriterien, durch den Einsatz von immunmodulatorischen Maßnahmen und mit der Jugendlichkeit der Rezipienten anwächst.

2.3.3.3. Kryobiologie

Die Entdeckung des Glycerol-Protein-Gefriermediums von POLGE et al. (1949) führte zu einem großen Umbruch in der sich bis dahin nur langsam entwickelnden Kryobiologie. In der Folgezeit wurde nach neuen biologischen Objekten gesucht, mit deren Hilfe man in der Lage war, eindeutige Aussagen über die Qualität zu testender Variationen vom POLGEschen Gefrierschutzmedium und über unterschiedliche Einfrierregimes machen zu können.

PARKES und SMITH (1953) nutzen für diesen Zweck erstmals Rattenovargewebe, welches sie in Form einer Suspension von 1mm^3 großen, vorher tiefgefrorenen Ovarstücken subkutan in den Bereich der Kniefalte weiblicher Ratten übertrugen.

Der Vorteil des Ovargewebes besteht darin, daß

1. man die endokrine Aktivität anhand des Einsetzens oder Ausbleibens des zyklischen Wechsels der Vaginalschleimverhältnisse (GOODMAN, 1934; HARRIS und EATKIN, 1949) oder der Sexualhormonplasmawerte (LEAVITT und CARLSON, 1969; RADO et al., 1970) am lebenden, kastrierten Transplantatträger ablesen bzw. über Blutentnahmen ermitteln kann,
2. die Wiederfindungsrate des eingebrachten Eierstocksmaterials hoch ist, da es sich durch seine Struktur und Farbe deutlich von der Umgebung unterscheidet (HILDEBRANDT, 1988),
3. das Ovar quantitative Aussagen hinsichtlich verbliebener Follikelzahlen und -größen zuläßt (GREEN et al., 1956; DEANSLEY, 1957) und
4. man neben der endokrinen Funktion auch die reproduktive Leistung von orthotop transplantierten Eierstöcken testen kann (PARROTT, 1960).

Optimierte Kryokonservierungsverfahren wurden vielfach für die Langzeitaufbewahrung von Ovarien genutzt. In der folgenden Tab.1 sind verschiedene Tierarten mit Autoren aufgeführt.

Tab.1 Ovarkryokonservierung bei verschiedenen Tierarten

Spezies	Autor
Maus	PARROTT, 1960
Ratte	MIYAMOTO und SUGIMOTO, 1992
Kaninchen	DANIEL et al., 1983
Maus*	CARROLL et al., 1990
Ziege	MIYAMOTO und SUGIMOTO, 1992
Rind	DANIEL und JUNEJA, 1987

* Es wurden nicht ganze Ovarien, sondern isolierte Primärfollikel aus juvenilen Mäuseovarien kryokonserviert.

Der gegenwärtige Stand der Kryobiologie gestattet nur teilweise die Verwirklichung des von VEPRINTSEV und ROTT (1979) entwickelten Systems der komplexen Genomkonservierung für vom Aussterben bedrohte Lebewesen.

2.3.3.4. Ethologie

Die OVTR fand ebenfalls in der Verhaltensforschung Anwendung. WOOD-GUSH und GILBERT (1970) untersuchten das sog. Nestverhalten (Hauptkomponenten sind: Nestprüfung und Sitzen auf dem Nest) von Hennen nach autogener, ektopischer Gonadenverpflanzung. Die Autoren fanden keinen Unterschied zwischen intakten und operierten Tieren.

ROUBERTOUX und CARLIER (1988) arbeiteten mit der OVTR, um nähere Aussagen über Ursachen des unterschiedlichen Aggressionsverhaltens der Männchen vom CBA/H bzw. NZB-Mäusestamm machen zu können. Die orthotope OVTR-Technik lieferte den Autoren die Möglichkeit, genetisch unterschiedliche Tiere zu züchten, die unter den gleichen intrauterinen und postnatalen Verhältnissen aufwuchsen. Damit waren sie in der Lage, Abweichungen, die auf der Basis maternaler Effekte beruhen, aus ihrem Versuch gezielt zu selektieren. Die Uniformität der maternalen Umgebung hatte keinen Einfluß auf das Angriffsverhalten, so daß eine chromosomale oder zytoplasmatische Korrelation zum Verhaltensmuster von den Autoren vermutet wird.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methode

Für die Erarbeitung einer neuen Methode der freien orthotopen OVTR unter Einbeziehung der biogenen Klebetechnik wurden die Untersuchungen in mehrere Abschnitte unterteilt:

1. Beidseitige Teilresektion der Ovarien beim Syrischen Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) zur Ermittlung möglicher Reproduktionsschäden durch die OP sowie des Einflusses von ZFK auf das Wundheilungsgeschehen.
2. Orthotope Autotransplantation beider Ovarien beim Goldhamster und der Afrikanische Zwergziege (*Capra aegagrus f. domestica*) unter Zuhilfenahme von ZFK mit anschließender Prüfung der Reproduktionsleistung bzw. histologischem Eizellnachweis im Transplantat.
3. Beidseitige orthotope isogene OVTR mit ZFK beim Goldhamster und der Maus (*Mus domestica*) und nachfolgende Prüfung der Reproduktionsleistung und histologische Untersuchung der Transplantate beim Goldhamster.
4. Knochenmarkgewinnung bei adulten Zwergziegen aus dem Tuber coxae und die präparatorische Aufbereitung des Zellmaterials zur Stammzellisolierung.
5. Sonographisch gestützte Fetusbeimpfung von trächtigen Zwergziegen mit Knochenmarkzellen zur Ausbildung einer donorspezifischen Gewebetoleranz.
6. Prüfung der erworbenen Immuntoleranz mit Hilfe der freien Hauttransplantation bei den geborenen Zwergziegen.
7. Ektope allogene OVTR bei der Zwergziege nach Toleranzinduktionsversuch und histologische Untersuchung der Transplantate.

3.1.1. Tiermaterial und Gerätschaft

Syrischer Goldhamster

Es wurden adulte 8-12 Wochen (KM 80g $\pm$ 10%) alte weibliche, wildfarbene Hamster (w) mit konstantem Zyklus aus einem geschlossenen Zuchtstamm genutzt. Die Haltung der Tiere erfolgte einzeln unter definierten Bedingungen (zwölfstündige Hellphase zwischen 6.00 und 18.00 Uhr, 22°C Umgebungstemperatur). Die Hamster erhielten eine pelletierte Zuchtdiät und Wasser ad libitum.

Zusätzlich stand eine begrenzte Anzahl an schwarzen Angorahamstern (a), eine Variation von *Mesocricetus auratus* mit Handelsname "Teddyhamster" zur Verfügung. Sie wurden aus dem Handel frei erworben und nach einer vierwöchigen Quarantäne in das

Versuchsprogramm integriert. Ihre Herkunft sowie ihr Zuchtstatus waren nicht ermittelbar. Die Möglichkeit, eine der von SEARLE (1968) beschriebenen Hamsterfarbvarianten für die Untersuchungen zu nutzen, bestand nicht. Für die einzelnen Versuchsdurchführungen wurden die in Tab.2 aufgeführten Hamstergruppen zusammengestellt.

Tab.2 Hamstergruppen für die verschiedenen Versuchsserien

Experimentalgruppe	Tieranzahl	Farbschlag
Scheinoperation (Kontrolle)	4	w
Beidseitige Ovarresection ohne ZFK	4	w
mit ZFK	4	w
Orthotope autogene OVTR mit ZFK	12	w
Orthotope isogene OVTR mit ZFK	8	w/w
	8	w/a

Maus (*Mus domestica*)

Für die Experimente standen jeweils Tiere der Inzuchtlinie CBWA und F₁-Hybriden der Linien CBA/C57BL6J des Institutes für Biophysik der Akademie der Wissenschaften der UdSSR, Poustschino, zur Verfügung. Das Alter der Weibchen lag zwischen sechs und acht Wochen und die KM betrug 15g (+/-20%). Die Tiere kamen aus der institutseigenen Versuchstierzucht, wo sie unter temperatur- und lichtgesteuerten Bedingungen aufgezogen wurden. Die Mäuse erhielten zweimal täglich ein Weichfutter. Trinkwasser stand ihnen ad libitum zur Verfügung. Im Anschluß an die Operation wurden die Weibchen von der Gruppenhaltung (zehn Tiere pro Käfig) in Einzelhaltung überführt. Für die drei Versuchsserien wurden die in Tab.3 aufgeführten Tiergruppen zusammengestellt, wobei die Hälfte der Tieranzahl jeweils von CBWA-Mäusen und von F₁-Hybriden gestellt wurde.

Tab.3 Mäusegruppen für die verschiedenen Versuchsserien

Experimentalgruppe	Tieranzahl	Linie
Scheinoperation	2	CBWA
	2	F ₁ -Hyb.
Isogene OVTR ohne ZFK	4	CBWA
	4	F ₁ -Hyb.
Isogene OVTR mit ZFK	4	CBWA
	4	F ₁ -Hyb.

Afrikanische Kamerunzwergziege (*Capra aegagrus f. domestica*)

Die Zwergziegen entstammen der Versuchstierzuchtanlage Niederlehme der Forschungsgruppe Versuchstierzucht des Institutes für Tierzüchtung und Haustiergenetik der Humboldt-Universität zu Berlin, Leitung Prof. Dr. sc. H. Seifert. Die Tiere wurden unter artgerechten Bedingungen aufgezogen und für die Experimente nach dem Zufallsprinzip und entsprechend der interessierenden Altersgruppe bzw. des Trächtigkeitsstatus ausgewählt. Die Brunstsynchronisation und die Erfassung der Deckzeitpunkte erfolgte dankenswerter Weise durch Frau Dr. M. Reißmann. Für die Versuchsdurchführung wurden aus den bereitgestellten Tieren die in Tab.4 aufgeführten fünf Gruppen gebildet.

Tab.4 Zwergziegengruppen für die verschiedenen Versuchsserien

Experimentalgruppe	Tieranzahl	Alter	Masse
Orthotope autogene OVTR mit ZFK	5	9 - 24 Mon.	12,5 - 27,5 kg
Knochenmarkzell-gewinnung	16	12 - 48 Mon.	13,8 - 45,6 kg
Sonographische Beimpfung von trächtigen Ziegen	12	12 - 48 Mon.	13,5 - 45,6 kg
Hauttransplantation	4	7 - 21 d	2,8 - 4,7 kg
Heterotope allogene OVTR	4	57 - 71 d	6,7 - 8,0 kg

Die sonographischen Untersuchungen und ultraschallgestützte Punktion erfolgte mit dem Ultraschallgerät "Sonoscope 3" (Fa. Kranzbühler), das mit einem 5,0 MHz Convex-Array-Schallkopf ausgerüstet war.

3.1.2. Biogene Klebetechnik

Für die Versuche wurde mit ZFK hergestellt aus Humanplasma vom Institut für Transplantologie/Transfusiologie der Charité' (deklariert C:K 1:1.,4.10.85,4.12.85,keine Handelsware) gearbeitet. Die Zubereitung und Verarbeitung des ZFK erfolgte nach der Anweisung von Prof. Dr. sc. G. Matthes (1985):

Komponente I

- Die lyophilisierten Fibrinkomponente wird mit 1ml Aqua ad injectionem aufgelöst und dann bis zur Verarbeitung bei 37°C gehältert.

Komponente II (bestehend aus Teil A und B)

-**Teil A:** 500 I.E. Thrombin (Fa. GERMED) in 2ml Kalziumgluconat 10% (Fa. UMB) gelöst.

-**Teil B:** Aprotinin (Contrycal 50.000, Fa. GERMED) mit 50.000 I.E. in 2ml Aqua ad injectionem gelöst.

Mischung von Teil A und B zur Herstellung der Komp.II

1,0ml Teil A

0,2ml Teil B.

= 1,2ml Komp.II nach Herstellung bei 37°C halten.

Zweikomponentenfibrinkleber = Komp.I und Komp.II im Verhältnis 1:1

Für die bessere Ausnutzung wurde die Gesamtmenge der gelösten Komp.I aliquotiert, in Plastikampullen eingebracht und bei -196°C im flüssigen Stickstoff bis zur Verwendung gelagert. Auch die fertige Komp.II wurde im flüssigen Stickstoff bis zur jeweiligen OP in 0,2ml Mengen aufbewahrt. Beide Komponenten wurden vor Versuchsbeginn auf 37°C im Wasserbad erwärmt.

Bei allen Versuchen mit Laborsäugern wurden die Komp.I und II einzeln auf die jeweils eine der beiden zu verklebenden Flächen aufgebracht. Abweichend von dieser Verfahrensweise wurde bei den Zwergziegen vorgegangen. Auf Grund der größeren zu verklebenden Flächen wurde mit 1ml der frischangesetzten Komp.I und 6ml der Komp.II gearbeitet. Der sechsfache Anteil der Komp.II wurde aufgrund ihrer hämostyptischen Eigenschaft für die Reinigung und Blutstillung der Hilusschnittfläche genutzt. Beim nachfolgenden Klebevorgang erfolgte eine Vermischung der beiden Komponenten wie angegeben in gleichen Volumenverhältnissen.

Die Verarbeitung des ZFK erfolgte nach den von SEELICH und REDL (1984) aufgestellten Grundsätzen.

3.1.3. Ovarresection und Ovartransplantation beim Goldhamster und der Maus

Für die OP wurden die Tiere mit Ketamin (Ursotamin, GERMED) und Xylazin (Rompun, Fa. Bayer) entsprechend den Dosierungen von KÜPPER (1984) anästhesiert:

- Ketamin: Hamster 200mg und Maus 100mg pro kg KM,

- Xylazin: Hamster 5mg und Maus 16mg pro kg KM.

Nach Eintritt des Toleranzstadiums (ca. 7min.) wurden die Tiere beidseitig in der Regio abdominis lateralis großflächig rasiert und die Haut mit Jod desinfiziert. Die Fixierung der

Tiere erfolgte auf einem autoklavierten OP-Brett. Zuerst wurde eine 2cm lange, dorsolaterale Inzision in der Regio abdominalis lateralis durch die Haut, Bauchmuskulatur und Peritoneum mit einer gebogenen Irisschere ausgeführt. Die Ovarien wurden zusammen mit Eileiter und dem Anfangsstück des entsprechenden Uterushorns durch Befestigung einer kleinen gebogenen Arterienklemme an dem die Bursa ovarica umgebenden Fettgewebe aus der Bauchhöhle exponiert. Die Blutzirkulation in der A. und V. ovarica wurde durch Anlegen einer Mikrogefäßklemme (Eigenbau) an den Hilus ovarii unterbrochen. Anschließend wurde eine Tropfapparatur, gefüllt mit steriler 0,9% NaCl-Lösung, über dem Ovar angebracht, mit der gesichert wurde, daß der ausgelagerte Teil des Genitaltraktes nicht austrocknet. Die Frequenz betrug 15 Tropfen/min. Während des Klebevorganges erfolgte keine Befeuchtung.

Die OVTR wurde in folgenden Teilschritten durchgeführt (Abb.2).

1.- 3. Die geschlossene Bursa wurde an ihrem membranösen Teil unter mikroskopischer Kontrolle bei zehnfacher Vergrößerung mit einem Skalpell unter Schonung der vorhandenen Kapillaren eröffnet und das Ovar mit Hilfe einer feinen Vanna-Schere oder dem Skalpell vom Hilus ovarii abgetrennt bzw. bei den Tieren mit Teilresektion der Ovarien die obere hilusferne Hälfte der Eierstöcke entfernt.

4. Die gewonnenen Ovarien wurden in eine Blockschale mit 0,9% NaCl-Lösung (22°C) überführt und halbiert. Dies sichert nach STEVENS (1957) ein günstigeres Oberflächen - Volumen - Verhältnis des freien Transplantates, wodurch eine bessere nutritive Versorgung des noch nicht vaskularisierten Gewebes unmittelbar nach der Operation besteht.

Nach einer durchschnittlichen Hälterung von ca. 10 min wurden die Ovarhälften je nach Transplantationsschema orthotop replantiert.

5.- 6. Die Blutungen wurden mit einem Tupfer tamponiert und nachfolgend durch das Einbringen der thrombinhaltigen Komp.II des ZFK nach der Entfernung der Mikrogefäßklemme dauerhaft zum Stehen gebracht. Abweichend davon wurde bei den Tieren vorgegangen, bei denen kein Kleber verwendet wurde. Es erfolgte nur die temporäre Gefäßkompression sowie die Austamponierung, so daß es teilweise zu Nachblutungen kam. Für den Klebevorgang wurde die Komp. I des ZFK auf die trockene Schnittfläche des Halbovars aufgebracht. Das Transplantat wurde dann umgehend in die leere Bursa ovarica eingebracht, wobei die Schnittfläche hiluswärts zeigte. Die Klebeflächen wurden ca. eine Minute mechanisch fixiert.

Die Bauchwand wurde fortlaufend mit 4-0 Dexon (Fa. Ethicon) vernäht und die Haut mit Perlonmaterial 4-0 in Form von Knopfnähten adaptiert.

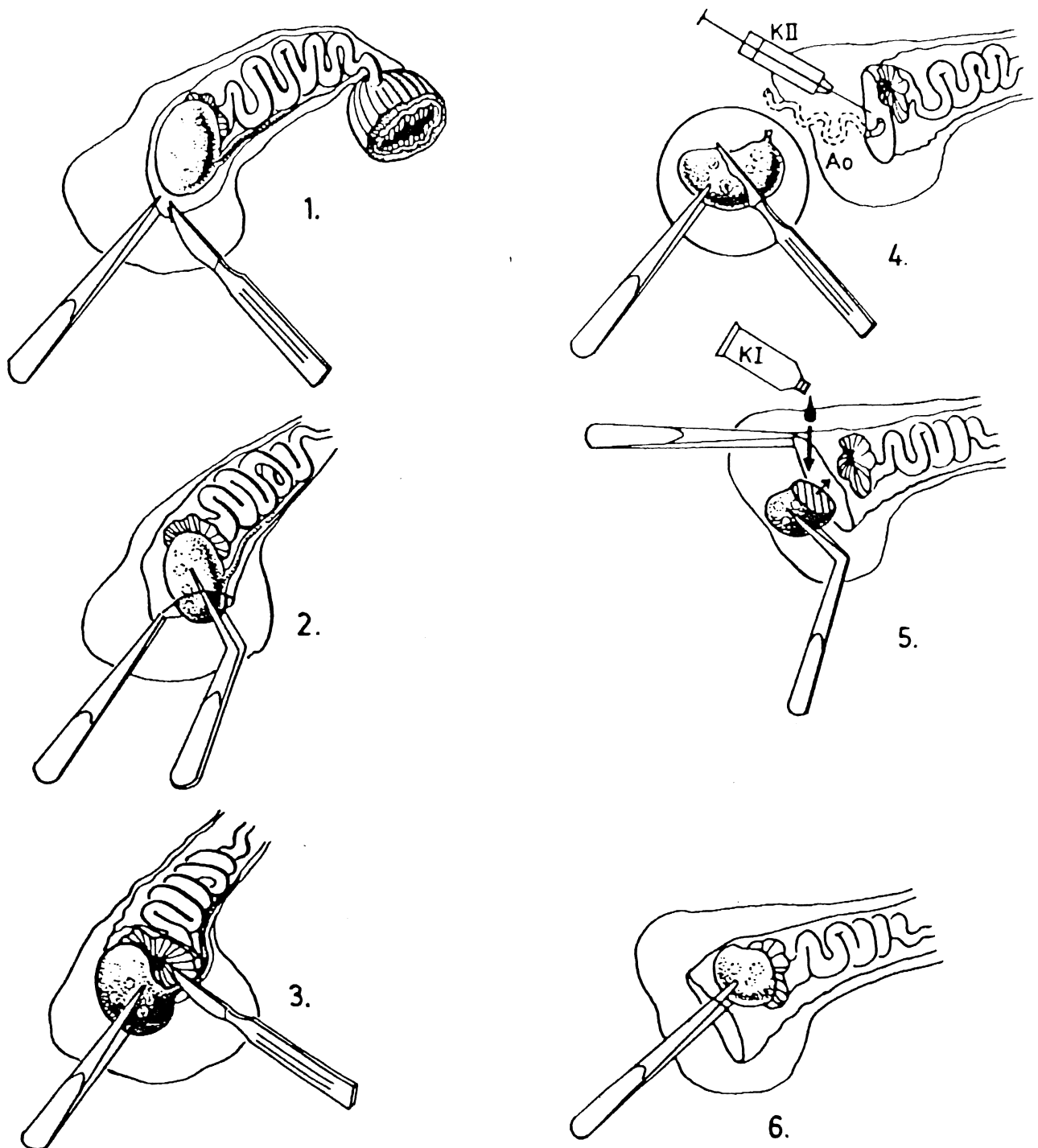


Abb.2 Ovartransplantationstechnik mit Fibrinkleber beim Goldhamster und der Maus

Postoperative Behandlung

Bei allen im Versuch stehenden Goldhamstern erfolgte 10 Tage präoperativ und im gesamten postoperativen Zeitraum bis zum Ausscheiden der Tiere ein Zyklusmonitoring nach der Methode von ORSINI (1961) anhand der in Tab.5 aufgeführten Kriterien.

Tab.5 Zyklusbestimmung anhand der Vaginalschleimverhältnisse beim Syrischen Goldhamster nach ORSINI (1961)

Stadium	Befund
<i>Östrus</i> (1.Tag)	- dünnflüssiger, klarer und transparenter Schleim
<i>Metöstrus</i> (2.Tag)	- charakteristischer, gelblich weißes, opakes, fadenziehendes und käsig riechendes Sekret
<i>Diöstrus</i> (3.Tag)	- eingetrocknetes, gelbliches Sekret, welches als wachsartiger Vaginalausguß erscheint (kann ausgepreßt sein).
<i>Proöstrus</i> (4.Tag)	- kein typischer Ausfluß

Die Hauthefte wurden nach 7 Tagen gezogen. Bei Beobachtung des zweiten Östrus p.op. wurden die Hamsterweibchen mit einem zuchtgeprüften Männchen zusammengebracht und nach 2 Tagen wieder getrennt. Nach einer ausgetragenen Trächtigkeit erfolgte keine weitere Anpaarung. Tiere mit erfolgloser Anpaarung wurden nach gleichem Schema bis zu sechsmal mit teilweise unterschiedlichen Böcken zusammengebracht. Nach einem postoperativen Zeitraum von 90 bis 160 Tagen wurden die Hamster durch zervikale Luxation getötet, der Genitaltrakt pathomorphologisch bewertet, teilweise photographiert und die Gonaden histologisch aufbereitet. Die Serienschnitte von 5µm Dicke wurden mit Hämatoxylin-Eosin (H.E.) gefärbt.

Die Untersuchung der operierten Mäuse erfolgte anhand der reproduktiven Parameter. Die Weibchen wurden 45 Tage p.op. zu einem Männchen gesetzt (Verhältnis 4 zu 1) und über einen Zeitraum von 2 Monaten belassen. Die Würfe und die Nachkommenanzahl wurden registriert. Danach erfolgte die Selektion der Tiere.

3.1.4. Ovartransplantationstechnik bei der Zwergziege

Die Tiere wurden nach intramuskulärer Verabreichung einer Prämedikation (Atropin 0,03mg/kg KM) durch die intravenöse Applikation eines Gemisches aus Xylazin (1-2mg/kg KM) und Ketamin (3mg/kg KM) narkotisiert. Die Regiones umbilicalis et publica wurden

großflächig rasiert und jodiert. Die Tiere wurden danach in Rückenlage auf einem leicht kopfwärts abgesenkten OP-Tisch fixiert. Die Eröffnung der Bauchhöhle erfolgte in der Linea alba ungefähr eine Handbreit kaudal hinter dem Nabel bis zum Euteransatz auf einer Länge von 10-12cm. Bei nulliparen Tieren wurde der Zugang direkt zwischen den beiden Euterhälften im Sulcus intermammarius unter Schonung der Laminae mediales gewählt, da bei diesen der Genitaltrakt sehr weit im kleinen Becken lag.

Netz und Darmschlingen wurden mit Hilfe eines angefeuchteten Bauchtuches kranial verlagert. Anschließend wurden die Ovarien orientierend an der Bifurcatio uteri nacheinander aufgesucht und vorsichtig in den zugänglichen OP-Bereich verbracht. Hier erfolgte die Fixierung des Ovars und gleichzeitige Kompression der A. und V. ovarica durch das Anlegen einer atraumatischen Satinsky-Klemme (Fa. Codeman) im unteren Hilusbereich ohne Einbeziehung des Eileiters.

Die Ovarien wurden mit einem feinen Starmesser (Fa. MLW) bei einer Schnittführung von 45° so vom Hilus abgesetzt, daß dieser ein spitzdachartiges Aussehen erhielt. Damit war gewährleistet, daß der größte Anteil der Zona vasculosa am Hilus ovarii verblieb und das spätere Transplantat vor allem aus Parenchym bestand.

Bis zur Replantation wurden die isolierten Ovarien in Ringer - Lösung bei Raumtemperatur zwischengelagert. Bevor sie auf die jeweils kontralaterale Seite verpflanzt wurden, erfolgte noch die mechanische Entfernung der größeren sichtbaren Funktionskörper (Follikel und Gelbkörper), da diese Strukturen aufgrund der suboptimalen nutritiven Bedingungen bis zur Revaskularisation des Transplantates zuerst der Nekrose unterliegen.

Der Hilusbereich wurde mit der Komp.II vor dem Klebevorgang mehrmals benetzt und abgetupft. Die Komp.I wurde auf die trockene Schnittfläche des Ovar aufgetragen. Danach fand die Adaptation der beiden Schnittflächen und eine ca. einminütige manuelle Fixierung statt. Die angrenzende Umgebung wurde abgedeckt, um ungewollte Adhäsionen durch den ZFK zu verhindern. Zur Sicherung der Klebestelle wurden durch das Transplantat und den Hilusstumpf vier Fäden aus resorbierbarem, atraumatischem Nahtmaterial 7-0 (Fa. Ethicon) gelegt, die nach Abschluß des Klebevorganges zu vier Knopfheften verknotet wurden. Der Verschuß der Laparotomiewunde erfolgte nach vorsichtiger Entfernung der Satinsky-Klemme und Netzreponierung schichtweise. Das Peritoneum, die Fascia transversa, das innere und äußere Blatt der Rektusscheide sowie die Fascia trunci profunda wurden gemeinsam fortlaufend mit Dexon 1-0 (Fa. Ethicon) verschlossen. Das Unterhautgewebe bzw. bei den nulliparen Tieren auch das Eutergewebe wurden auch mit Dexon 2-0 durch eine fortlaufende Naht leicht adaptiert. Die Haut wurde mit Knopfnähte aus Polyester 4 versorgt. Zusätzlich erhielten die Tiere zum Wundschutz eine Entspannungsnäht mit Decktampon.

Die *heterotope Allotransplantation* von Ovargewebe erfolgte nach der Methode von STEINACH (1920) in den M. rectus abdominis. Die gewonnenen Donorovarien wurden gedrittelt. Den narkotisierten Rezipienten* wurden durch einen 10mm langen Hautschnitt in der Regio umbilicalis zweifingerbreit seitlich von der Linea alba jeweils zwei Ovartransplantate in die seitliche Bauchwand übertragen. Die Einbringung in den M. rectus abdominis erfolgte stumpf mit Hilfe einer Bauchfellklemme. ZFK wurde zur Sicherung der Transplantate nicht verwendet. Die Haut wurde mit drei Knopfleften adaptiert.

Postoperative Behandlung

Die Hauthefte wurden nach 8 Tagen gezogen. Die Entspannungsnaht wurde entsprechend dem Zustand der Wunde am 2.-4. Tag p.op. entfernt. Anpaarungsversuche wurden nicht vorgenommen. Der Zeitraum bis zur Tötung betrug sieben bis 170 Tage. Der Genitaltrakt wurde entnommen, bewertet und histologisch in Form von Hämatoxylin-Eosin gefärbten Serienschnitten untersucht.

* Die Ziegenböcke wurden vor der eigentlichen OVTR kastriert.

3.1.5. Knochenmarkgewinnung und -aufbereitung bei der Zwergziege

Der Zugang zur Markhöhle erfolgte über das Tuber coxae. Für die Knochenmarkentnahme wurden die Spendertiere narkotisiert, großflächig die Haut in der Regio coxae rasiert und mit Jod desinfiziert. Es wurde dann ein 3-4 cm langer Hautschnitt über dem Tuber coxae unter Schonung des teilweise vorhandenen Schleimbeutels ausgeführt und stumpfe Wundsperrerr in die OP-Wunde eingelegt. Mit Hilfe eines Knochenmeißels wurde die ca. 6mm starke Kompakta vom Hüfthocker entfernt, um so einen besseren Zugang zum Markbereich des Beckenknochens zu haben. In den eröffneten Markbereich wurden mittels Knochenpfriemer manuell 2-3 Löcher je nach Größe des Os ilium mit einer Tiefe von 25mm und einer Breite von 3mm in die Spongiosa eingebracht. In diese Öffnungen wurde ein Bauchdrainagekatheter (Charger 6, Fa. MLW) eingeführt. Über eine aufgesetzte 50ml Spritze, gefüllt mit 40ml Parker-Medium (Fa. Sigma) und 10 I.E. Heparin/ml (Fa. Richter A.G) wurden im Ebbe-Flut-Verfahren die einzelnen Löcher ausgespült. Die insgesamt gewonnene Spülflüssigkeitsmenge betrug je nach Anzahl der Spongiosalöcher 80-120ml. Nach Abschluß der Spülung wurde die Subkutis über dem Hüfthöcker durch eine fortlaufende 1-0 Dexon-Naht adaptiert und die Haut mit 4-5 Knopfleften aus Perlonmaterial verschlossen. Äußerlich wurde die Wunde mit Sprayverband abgedeckt. Die operierten Tiere bekamen in den unmittelbaren Wundbereich 500.000 I.E. Penicillin G wäßrig (Fa. JenaPharm) und zusätzlich 1, 2 Mill. I.E. Retacillin (Fa. JenaPharm) i.m. zur antibiotischen Abschirmung verabreicht.

Die **weitere Aufbereitung** der gewonnenen Zellsuspension erfolgte unter sterilen Bedingungen im Labor. Zuerst wurde das Material mittels Nylonfilter (autoklavierter Damenstrumpf) von den enthaltenen Knochenbestandteilen gereinigt. Die folgenden Schritte sind analog den Angaben von BARKER und McFARLAND (1983). Es schloß sich zuerst zur Abtrennung der Erythro- und Granulozyten eine Zentrifugation über einem Ficoll-Paque-Dichtegradienten (Fa. Pharmacia) bei 800g für 30min an. Der zellfreie Überstand wurde verworfen und die oberste Zellfraktion gewonnen. Nach einer Zellreinigung mit Parkes-Medium bei 400g für 3min folgte die Abtrennung eines Großteils der noch enthaltenden Lymphozytenfraktion. Dies wurde durch die Zentrifugation über einen Percoll-Dichtegradienten (Fa. Pharmacia) bei 12000g für 90min in der Hochgeschwindigkeitskühlzentrifuge K24 D (Fa. MLW) bei 4C° vorgenommen. Bei vier Tieren erfolgte stellvertretend nach Abschluß der Zellaufbereitung eine mikroskopische Bestimmung der Gesamtzahl der kernhaltigen Zellen mittels hämozytometrischer Zählkammer und Türkscher Lösung. Desweiteren wurden die Zellen durch Herstellung von Ausstrichpräparaten und Färbung nach Pappenheim in periphere Blutzellen und hämatopoetische Stammzellen differenziert (ROMEIS, 1989).

3.1.6. Fetale Beimpfung bei der Zwergziege

Fetale Beimpfungen von Schaffeten nach dem 67. Tag p.c. führen aufgrund der Frühreife des fetalen Immunsystems nicht mehr zur Ausbildung von stabilen Immuntoleranzen. Entsprechende Daten über den zeitlichen Verlauf der Immunogenese bei der Afrikanischen Zwergziege liegen bisher nicht vor. Es wurden aus diesem Grunde für die Toleranzinduktionsversuche unterschiedliche Gestationsstadien zwischen dem 52. und 91. Tag gewählt.

Die Einbringung der vorbereiteten Zellsuspension erfolgte bei den einzelnen Versuchstieren zwischen dem 52. und 91.Tag nach beobachteter Paarung. Vor der Beimpfung erfolgte die sonographische Bestimmung der Anzahl der Fruchtanlagen, eine Lageorientierung und eine biometrische Vermessung der Scheitel-Steiß-Länge (SSL). Sie erfolgte bei Mehrlingsgraviditäten stellvertretend jeweils nur für einen Fetus.

Die gesamten Früchte wurden anschließend unter sonographischer Kontrolle über eine Amniozentesenadel (Gauge 22, Fa. Cook) beimpft. Je Fruchtanlage wurde insgesamt 1ml der vorbereiteten Zellsuspension injiziert. Die Vorgehensweise orientierte sich an die Amniozenteseponktion zur Fruchtwasserentnahme in der Humanmedizin.

Die Nadel wurde durch die vorher rasierte und desinfizierte Bauchdecke des narkotisierten Muttertieres geschoben und dann unter Ultraschallkontrolle in die jeweilige Amnionhöhle und das Abdomen des Fetus, wenn möglich in die Leber, eingeführt. Es wurden in beiden Positionen (Amnionhöhle, fetales Abdomen) 0,5ml von der Zellsuspension deponiert.

Anschließend wurde die Punktionsnadel mit einer zügigen Bewegung aus dem Muttertier entfernt und auf eventuelle Blutungen im Bereich des Genitaltraktes nachuntersucht.

3.1.7. Hauttransplantation bei der Zwergziege

Empfänger- und Spendertier wurden in oben beschriebener Weise narkotisiert. Danach wurden die vorgesehenen Hautpartien, beim Donortier die Regio brachii und beim Rezipienten die Regio costalis, rasiert und mit Alkohol sowie Jod desinfiziert. Mit Hilfe eines Hautbiopsietrokars wurden jeweils 9 Hautteller mit einem Durchmesser von 5mm bei den Tieren ausgeschnitten und dann vorsichtig mit einer Präparierschere unter Schonung des subkutanen, gefäßreichen Bindegewebes entnommen. Die gewonnenen Vollhauttransplantate wurden sorgfältig vom noch anhaftenden Fett- und Bindegewebe befreit und dann entgegen der Wachstumsrichtung der Haarfollikel auf das Empfängerbett platziert. Die 9 Transplantatbetten bei den Rezipienten waren in 3 Reihen symmetrisch angeordnet. In die dorsal gelegene Reihe wurden 3 Autotransplantate aus der ventralen Reihe verpflanzt. In die verbliebenen 6 Hautlöcher wurden die Transplantate von den Spendertieren eingebracht. Anschließend erfolgte die Fixierung der Transplantate mit Sprayverband und einem über jedem Transplantat angebrachten Decktampon. Der gesamte Brustkorb wurde zum Schluß unter Verband genommen. Bei den Donoren wurden die Entnahmestellen jeweils mit einem Heft Catgut verschlossen.

Der Kompressionsverband wurde nach 7 Tagen entfernt und die Transplantate bis zum 50. Tag p.op. kontrolliert. Nach Abschluß des Versuches erfolgte die histologische Untersuchung von ausgewählten Transplantaten.

3.1.8. Statistische Auswertung

Die Erstellung und Auswertung der Datensätze wurde auf einem 486/25s COMPAQ Personalcomputer unter Verwendung des Statistikprogrammpaketes InStat Version 1,13 (GraphPad 1990) ausgeführt. Die Beschreibung der gewonnenen Daten erfolgte durch Mittelwerte und Standardabweichung. Die Werte der SSL-Meßung wurden in einer Regressionsanalyse den entsprechenden Graviditätszeitpunkten zugeordnet. Weiterhin wurden die Werte teilweise mittels des MANN-WHITNEY-Tests und des FISHER-Tests auf Signifikanz geprüft. Für die Beurteilung der Testresultate wurden folgende Grenzen gewählt.

	$p < 0,001$	hoch signifikant	($\infty\infty$)
	$0,001 < p < 0,01$	signifikant	(∞)
	$0,01 < p < 0,05$	schwach signifikant	($\circ$)
	$p < 0,05$	nicht signifikant	(-)

3.2. Ergebnisse

Zur Ermittlung der Auswirkungen der unterschiedlichen OVTR-Techniken einschließlich der Ovarteilresektion auf die Wundheilung und die Reproduktion erfolgten:

1. die Prüfung der Fertilität,
2. eine pathomorphologische Bewertung des Genitaltraktes und
3. die histologische Untersuchung der Adnexe.

3.2.1. Ovarteilresektion beim Goldhamster

Die Ergebnisse der postoperativen Anpaarungsversuche und der Zykluskontrollen zeigt Tab.6. Fünf von 8 Hamsterweibchen waren nach beidseitiger Ovarteilresektion fertil. Die Anzahl der fruchtbaren Tiere aus der Gruppe mit Einsatz des ZFK lag mit drei von 4

Tieren um 25% höher als in Vergleichsgruppe ohne intraoperative Fibrinklebung. Die Hamsterweibchen neigten teilweise zum Infantizid verbunden mit Kannibalismus, so daß die Wurfgrößen in allen Gruppen größer sein können, als in den entsprechenden Tabellen (Tab.6, 8 und 12) angegeben. In der Kontrollgruppe lag die Fruchtbarkeitsrate nach alleiniger Laparotomie (Scheinoperation) bei 100%. Alle operierten Tiere wiesen p.op. einen Sexualzyklus auf.

Die Ergebnisse der pathomorphologischen Untersuchung zeigt Tab.4. Es fanden sich oft Verklebungen zwischen dem Genitaltrakt und dem Narbenbereich der Bauchwand in unterschiedlicher Ausbildung. In 3 Fällen (Tier 3, 9* und 10) waren Dünndarmschlingen mit einbezogen. Ovargewebe war bei allen Tieren beidseitig auffindbar.

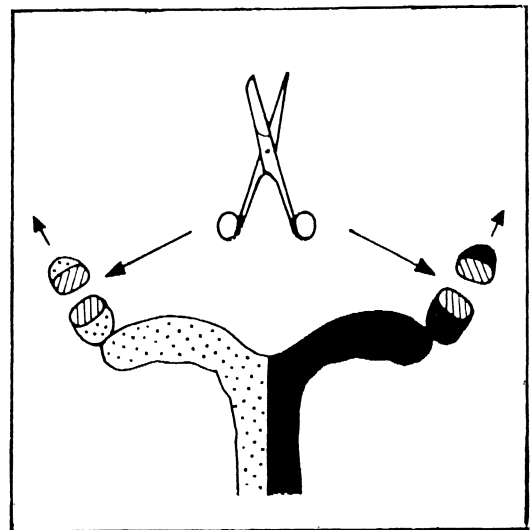


Abb.3

Schematische Darstellung
der Ovarteilresektion

* Zur besseren Übersichtlichkeit werden die Nummern der fertilen Tiere im Text fett gedruckt.

Die Ergebnisse des Signifikanztests (Mann-Whitney) sind im Vergleich zu den Kontrollgruppen in die Fertilitätstabellen bei den Goldhamstern mit folgenden Symbolen eingetragen. (ooo) (oo) (o) (-)

Tab.6 Zyklusverlauf und Fertilität nach beidseitiger Ovariektomie mit und ohne Verwendung von ZFK beim Goldhamster im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Gruppen	Tier-Nr.	Einsetzen des Östrus (d p.op.)	mittlere. Zyklusdauer (d)	Tage (p.op.) bis Geburt	Befruchtungs- zeitpunkt * (Zyklen p.op.)	Anzahl Nachkommen
Scheinoperation (Kontrolle)	1	2	4	23	2.	2,2
	2	1	6	29	3.	3,2
	3	4	4	24	2.	3,4
	4	1	5	27	3.	4,6
X_1 SD_1	2	2	4,8	25,8	2,5.	6,5
	1,4		1,0	2,8	0,6	2,6
Teilresektion ohne ZFK	5	8	5	-	-	-
	6	12	6	34	2.	1,3
	7	10	4	-	-	-
	8	19	7	49	3.	2,2
X_2 SD_2	12,3(°)		5,5(-)	41,5	2,5.	4,0
	4,8		1,3	10,6	0,6	0,0
Teilresektion mit ZFK	9	13	4	34	2.	2,0
	10	17	6	-	-	-
	11	14	4	38	3.	3,2
	12	19	5	45	3.	1,5
X_3 SD_3	15,8(°)		4,8(-)	39,0(°)	2,7. (-)	4,3 (-)
	2,8		1,0	5,6	0,6	2,1

* errechnet mit der von JUNG (1962) angegebenen Trächtigkeitsdauer von durchschnittlich 16 Tagen

Tab.7 Ergebnisse der postmortalen Untersuchung nach Scheinoperation bzw. Ovariektomie mit und ohne Verwendung von ZFK beim Hamster.

Gruppe	Tier-Nr.	Zeitraum zur OP (d)	Adhäsion im Narbenbereich		gefundenes Ovargewebe		Tertiär- follikel		Uterus/ Endometrium	Pathologische Befunde	
			links	rechts	links	rechts	links	rechts		links	rechts
Kontrolle	1	90	-	°	+++	+++	ja	nein	intakt	-	Zyste(O)
	2	100	-	-	+++	+++	ja	ja	intakt	-	-
	3	110	(D)°°°	°	+++	+++	ja	ja	intakt	-	-
	4	120	-	-	+++	+++	ja	ja	intakt	-	-
Teilresektion ohne ZFK	5	90	°	°	+	++	ja	nein	intakt	Zyste(B)	-
	6	100	°	-	++	++	ja	ja	intakt	-	-
	7	110	°°	°°	+	+	nein	ja	intakt	-	Zyste(B)
	8	120	-	-	++	+	ja	nein	intakt	-	-
Teilresektion mit ZFK	9	90	°	°°°(D)	++	+++	ja	ja	intakt	Zyste(B+H)	-
	10	100	(D)°°°	°	+	+	nein	nein	intakt	-	Zyste(B)
	11	110	°	-	++	++	ja	ja	intakt	-	-
	12	120	°	°	+++	+	ja	nein	intakt	-	-

°°°	=	großflächige Verklebung über 5mm in der Ausdehnung	(H)	=	Hydrosalpinx
°°	=	mittelgradige Verklebung bis 5mm	++++	=	gesamtes Ovargewebe
°	=	punktförmige Verklebung	+++	=	über die Hälfte des Ovargewebes
-	=	keine Verklebung	++	=	die Hälfte des Ovargewebes
(D)	=	Darm in die Verklebung mit einbezogen	+	=	weniger als die Hälfte des Ovargewebes
(B)	=	Bursazyste			

Es gab bei keinem Tier makroskopisch und histologisch Anzeichen von Kastrationerscheinungen am Genitaltrakt.

Beim Kontrolltier 1 wurde als Nebenbefund eine stechnadelkopfgroße, gestielte Ovarzyste gefunden. Die Tiere 5, 7, 9 und 10 wiesen einseitig flüssigkeitsgefüllte Umfangsvermehrungen im Bereich der Bursa ovarica auf. Zusätzlich fand sich beim Tier 9 an dem zystisch veränderten Adnex eine Hydrosalpinx.

Das histologische Gesamtbild der chirurgisch erzeugten Halbovarien erschien im Gegensatz zur annähernd runden Ovarform der Kontrolltiere wesentlich unregelmäßiger (Abb.4 und 5) und teilweise stark zerklüftet. Es zeigten sich an den Resektionsstellen Strukturveränderungen im Vergleich zu den Eierstöcken der Kontrolltiere. Diese Bezirke waren vermehrt mit Blutgefäßen und Bindegewebe durchzogen (Abb.6 und 7).

Häufig fanden sich dort Verwachsungen mit der inneren Bursawand. Die Ovarien der infertilen Tiere (5, 7, 10) waren gekennzeichnet durch das Fehlen von Tertiärfollikeln bzw. einem erhöhten Grad an Adhäsionen zwischen der Bursa ovarica und der Ovaroberfläche. Im Zusammenhang mit den Verklebungen fanden sich häufig ein- oder mehrkammerige Zysten im Bereich der Bursa ovarica (Tiere 5, 7, 9, 10), die mit den bei der Obduktion gefundenen Umfangsvermehrungen identisch waren. Die operative Teilung der Ovarien in zwei gleich große Anteile gelang bei den Tieren 9 und 12 nicht vollständig. Einseitig fand sich bei beiden Tieren ein Ovar, welches ungefähr Dreiviertel der Normalgröße aufwies.

Der Einsatz der biogenen Klebetechnik erwies sich für die Erhaltung der Fertilität deutlich vorteilhaft (Tab.6), hatte aber keinen erkennbaren Unterschied im histopathologischen Bild zur Folge (Tab.7).

3.2.2. Orthotope autogene Ovartransplantation unter Verwendung von Zweikomponentenfibrinkleber beim Goldhamster und der Zwergziege

3.2.2.1. Ergebnisse beim Goldhamster

Von zwölf operierten Hamsterweibchen standen elf Tiere für weitere Untersuchungen zur Verfügung. Das Tier 4 verschwand 20 Tage nach der OP aus dem Käfig. Von den elf Weibchen waren 6 Tiere fertil (54%). Zwei der Tiere (3 und 11) zeigten nach der OP keinen Sexualzyklus mehr. Die Käfige wurden in dieser und den folgenden Gruppen im geburtsnahen Zeitraum täglich kontrolliert, um den Erfassungsfehler bei der Bestimmung der insgesamt geborenen Nachkommen zu senken. Die dabei gefundenen Wurfgrößen lagen teilweise höher als die später beim Sexen angetroffene Nachkommenzahl. Die geschlechtlich nicht bestimmten, gefressenen Jungen sind in den folgenden Tabellen in Klammern gesetzt. Im Zeitraum der Anpaarungsversuche der Tiere 5-12 war im Bestand ein massiver Oxyurenbefall aufgetreten.

Dieser wurde nach Erkennung mit der oralen Verabreichung von Mebendazol[®] (Fa.Richter) über das Futter behandelt. Die Ergebnisse der Autopsie und der histologischen Untersuchung zeigt die Tab.9. Zystische Veränderungen an der Bursa ovarica traten bei acht der elf obduzierten Tiere (73%) auf und bei 2 Tieren (18%) waren beide Adnexe betroffen. Das Tier 7 hatte neben der rechtsseitigen Bursazyste zusätzlich eine Hydrosalpinx (Abb.9). Im Gegensatz dazu zeigt Abb.10 das histologische Bild eines wenig veränderten Adnexes nach OVTR.

Die beiden azyklischen Tiere 3 und 11 hatten

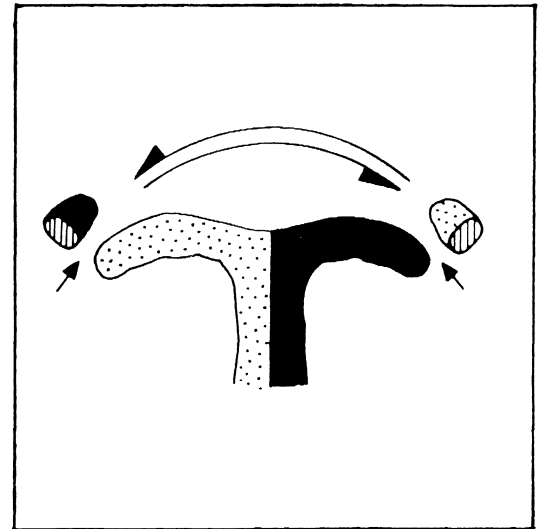


Abb.8
Schematische Darstellung
der orthotopen autogenen OVTR

Tab.8 Zyklusverlauf und Fertilität nach orthotoper autogener OVTR mit ZFK beim Goldhamster

Tier-Nr.	Einsetzen des Östrus (d p.op.)	mittlere Zyklusdauer (d)	Tage(p.op.) bis Geburt	Befruchtungs- zeitpunkt (Zyklen p.op.)	Anzahl Nachkommen
1	11	4	-	-	-
2	19	5	37	2.	2.0
3	-	-	-	-	-
4	12	- am 20.d p.op.	verschwunden	-	-
5	17	4	-	-	-
6	22	6	76	7.	2.2 +(1)*
7	21	4	69	7.	3.2
8	18	5	61	5.	0.2 +(2)
9	24	7	68	4.	3.3
10	11	4	-	-	-
11	-	-	-	-	-
12	14	6	42	2.	1.4
X_4	16,9 (∞)	5,0 (-)	58,8 (∞)	4,5 (-)	4,5 (-)
SD_4	4,7	1,1	15,8	2,3	1,4

* Die in Klammer stehenden Ziffern geben die Anzahl nicht gesexter Jungen an, die im unmittelbaren Geburtszeitpunkt erfasst und später nicht mehr auffindbar waren (Infantizid).

Tab.9 Ergebnisse der postmortalen Untersuchung nach orthotoper autogener OVTR beim Goldhamster

Tier-Nr.	Zeitraum zur OP(d)	Adhäsion im Narbenbereich		gefundenes Ovargewebe		Tertiär- follikel		Uterus/ Endometrium		Pathologische Befunde	
		links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts
1	140	∞	∞	-	++	-	ja	intakt	Zyste(B)	-	-
2	140	°	-	+	++	ja	ja	intakt	Zyste(B)	-	-
3	140	∞	°	-	-	-	-	atrophiert	Zyste(B)	Zyste(B)	
5	140	∞∞	-	++	+	ja	nein	intakt	Zyste(B)	-	-
6	140	-	°	++	++	ja	ja	intakt	-	-	-
7	160	°	∞∞(D)	++	+	ja	nein	intakt	-	Zyste(B+H)	
8	160	-	°	++	+	ja	ja	intakt	-	-	-
9	160	-	∞∞(D)	++	++	ja	ja	intakt	-	Zyste(B)	
10	160	°	∞	+	-	nein	-	intakt	Zyste(B)	-	-
11	160	(D)∞∞	°	-	+	-	nein	atrophiert	Zyste(B)	Zyste(B)	
12	160	-	-	++	++	ja	ja	intakt	-	-	-

$\infty\infty$ = großflächige Verklebung über 5mm in der Ausdehnung
 ∞ = mittelgradige Verklebung bis 5mm
 $^{\circ}$ = punktförmige Verklebung
 $-$ = keine Verklebung
(D) = Darm in die Verklebung mit einbezogen
(B) = Bursazyste
(H) = Hydrosalpinx
++++ = gesamtes Ovargewebe
+++ = über die Hälfte des Ovargewebes
++ = die Hälfte des Ovargewebes
+ = weniger als die Hälfte des Ovargewebes
- = kein Ovargewebe

einen deutlich verkleinerten Genitaltrakt, ein flaches Endometrium und eine verringerte Anzahl an Uterindrüsen. Das in Tier 11 gefundene Ovargewebe enthielt keine Oozyten.

Im Vergleich zur Ovarteilresektion stellt die orthotope autogene OVTR einen wesentlich stärkeren operativen Eingriff dar. Dies spiegelt sich in einer gesenkten Fruchtbarkeitsrate (Tab.8) und einem erhöhten Prozentsatz an pathomorphologischen Veränderungen (Tab.9) bei den Tieren wider.

3.2.2.2. Ergebnisse bei der Zwergziege

Aufgrund der in den einzelnen Monaten teilweise unterschiedlichen Fortpflanzungsaktivität wurde bei der Zwergziege auf postoperative Anpaarungsversuche verzichtet. Es erfolgte die Erfassung des intraoperativen Ovarstatus (Tab.10) in Zusammenhang mit dem Op-Monat sowie die pathomorphologische und histologische Untersuchung des Genitaltraktes (Tab.11).

Zwergziege 1

Dieses Tier wurde im Dezember operiert. Es befanden sich auf den Ovarien je ein stark durchblutetes Corpus luteum. Die reifen Gelbkörper nahmen ca. Dreiviertel des Gesamtovarovolumens ein. Bei diesem Tier erfolgte noch keine Herauslösung der großen Funktionskörper aus dem Ovarparenchym. Die Eierstöcke wurden mit den großen Gelbkörpern übertragen.

Nach einer Übungsoperation an einem getöteten Tier, war dies die erste OVTR bei der Zwergziege mit ZFK. Die einzelnen Arbeitsschritte wie sie im Abschnitt 3.1.4. beschrieben sind, wurden bei dieser OP bzw. nach deren Auswertung teilweise erst festgelegt.

Bei der 7 Tage später durchgeführten Obduktion fanden sich massive Verklebungen zwischen dem linken Adnex, dem linken Uterushorn und der Blase. An dem rechten Adnex war eine mittelgradige Adhäsion mit dem ipsilateralen Uterushorn vorhanden.

Histologisch zeigte sich eine vollständige Nekrose beider übertragener Eierstöcke. Es waren keine Oozyten oder follikulären Strukturen mehr vorhanden. Der strukturelle Aufbau der Nekrose ließ noch teilweise die äußere Begrenzung des Corpus luteum mit dem angrenzenden Parenchym erkennen.

Zwergziege 2

Bei diesem Tier erfolgte die OP im Februar. Das linke Ovar trug ein kleines, wenig erhabenes Corpus luteum. Zusätzlich befanden sich noch drei ca.4mm große Tertiärfollikel auf dem Eierstock. Am rechten Ovar befanden sich zwei kleinere Corpora lutea, die gemeinsam etwas weniger als die Hälfte des Ovarvolumens einnahmen. Die

Funktionskörper wurden vor der Replantation aus dem Rindenparenchym mechanisch entfernt.

Die im April (50 d p.op.) durchgeführte Autopsie des Tieres ergab im Bereich des rechten transplantierten Ovars mittelgradige Verklebungen mit dem rechten Uterushorn sowie im Bereich des linken Adnexes zwei punktförmige Adhäsionen. Ebenfalls linksseitig befand sich kranial des Isthmus tubae uterinae eine 5mm starke Hydrosalpinx. Die Ursache dafür könnte die intraoperative Traumatisierung des linken Eileiters bei der temporären Ligatur der Hilusgefäße gewesen sein.

Histologisch konnte an beiden Adnexen Ovargewebe mit einer stark verringerten Anzahl von Oozyten (Abb.17) und einzelne Tertiärfollikel nachgewiesen werden. Im Parenchym des rechten Eierstockes befanden sich neben einer 6mm großen Gelbkörperzyste einige alte kleine Nekroseherde, die teilweise bindegewebig organisiert oder verkalkt waren.

Der Uterus hatte eine normale Größe. Die Uterusschleimhaut wies ein flaches einschichtiges Epithel auf. In der Propria waren viele geschlängelte Uterindrüsen vorhanden, die mit isoprismatischen Epithelzellen ausgekleidet waren.

Zwergziege 3

Die OP wurde im Oktober ausgeführt. Es befand sich am rechten Ovar ein frisches, leicht zu isolierendes Corpus luteum. Der linke Eierstock trug zwei 5mm große Tertiärfollikel.

Im Ergebnis der Obduktion (150 d p.op.) zeigten sich ein normal großer Uterus und zwei Ovarien mit mehreren flüssigkeitsgefüllten Zysten. Adhäsionen waren nicht vorhanden. An beiden Adnexen wurde Ovargewebe gefunden. Der linke Eierstock war gekennzeichnet durch einen hohen Parenchymverlust verbunden mit der starken Verringerung an Oozyten. Die pathomorphologisch gefundenen Zysten erwiesen sich als zwei große Gelbkörperzysten (8mm, 3mm), eine 6mm große Follikelzyste sowie kleinere Tertiärfollikel.

Der Parenchymanteil des rechten Eierstockes entsprach ungefähr der Hälfte des transplantierten Ovars. Das Gewebe war durch ein fast vollständiges Fehlen von Oozyten charakterisiert. Es bestand vor allem aus zwei großen Gelbkörperzysten (7mm, 7mm) und einer 4mm großen Follikelzyste. Das hochprismatische teilweise mehrstufige Epithel des Endometriums wies viele intrazelluläre Sekretgranula auf. Die Uterindrüsen in der Propria waren stark geschlängelt und das Drüsenepithel hoch aufgebaut. Die Erklärung für die endometriale Aktivität bei diesem Tier wird in einer übermäßigen Hormonproduktion der Ovarzysten vermutet.

Zwergziege 4

Die OP dieses pluriparen Tieres wurde im Mai ausgeführt. Operationstechnisch waren die chirurgischen Manipulation an den Adnexen schwieriger als bei den anderen nulliparen

Tieren auszuführen. Der erhöhte Anteil an eingelagertem Fettgewebe im Bereich des Hilus ovarii verringerte die Klebekraft des ZFK. Es kam während der OP bei diesem Tier beiderseits zur kurzzeitigen Einklemmung der Eileiter. Später bei der Obduktion (160 d p.op.) fanden sich dann auch an den Adnexen beidseitig eine Hydrosalpinx, wobei sie links einen Durchmesser von 15mm und rechts von 5mm erreichte.

Die starke Flüssigkeitsansammlung im linken Eileiter kann auch mit der gefundenen mittelgradigen Verklebung der Adnexe mit dem linken Uterushorn und der Blase in Zusammenhang stehen. Im Bereich des rechten Ovars fanden sich keine Adhäsionen.

Der Uterus war von normaler Größe. Sein endometriales Epithel war einschichtig und flach. Der Anteil der Uterindrüsen war verringert und das Drüsenepithel erschien inaktiv. Es waren aber keine Anzeichen einer Atrophie erkennbar.

Im Bereich des linken Adnexes konnte eindeutig Ovargewebe identifiziert werden. Dieses enthielt eine geringe Anzahl an Eizellen aber keine antralen Follikelstrukturen. Das Schicksal des anderen transplantierten Ovars ist unbekannt, da sich im Bereich des Hilus ovarii dexter keine Anzeichen einer nekrotischen Einschmelzung fanden.

Die oben erwähnte verringerte Klebewirkung des ZFK bei diesem Tier wäre als mögliche Erklärung des postoperativen Ovarverlustes z.B. in die Bauchhöhle denkbar.

Zwergziege 5

Dieses Tier wurde im September operiert. Beide Ovarien zeigten ein homogenes Parenchym ohne sichtbare Funktionskörper. Die OP verlief aufgrund der geringen Größe des Tieres und der inaktiven Eierstöcke sehr gut.

Bei der Obduktion (170 d p.op.) wurde im Bereich des linken Adnexes eine punktförmige Verklebung angetroffen. Der Uterus hatte eine normale Größe. Das Epithel des Endometriums war teilweise mehrstufig und wie das Drüsenepithel der Uterindrüsen hochprismatisch. Die vorhandenen Drüsenschläuche zeigten oft eine Lichtung, die auf eine starke Sekretproduktion rückschließen ließ. Ursache dafür könnte die am linken Eierstock gefundene 11mm große Gelbkörperzyste gewesen sein. Im verbliebenen Ovarparenchym fanden sich keine Oozyten.

Das Ovargewebe des rechten Adnexes enthielt einen 6mm großen atretischen Tertiärfollikel und zwei kleinere antrale Follikel (Abb.18). Die Anzahl der Eizellen war stark verringert. Der Eileiter an diesem Ovar war hydropisch verändert. Der Durchmesser betrug 10mm. Als Ursache ist eine intraoperative Traumatisierung nicht auszuschließen.

Tab.10 Intraoperativer Ovarstatus und OP-Zeitpunkt bei der Zwergziege

Tier-Nr.	Masse (kg)	Funktionskörper an den Ovarien bei OP		Operations- monat
		<i>links</i>	<i>rechts</i>	
1	14,0	1 Corpus luteum	1 Corpus luteum	Dez.
2	16,0	1 Corpus luteum 3 Tertiärfollikel(4mm)	2 Corpora lutea	Febr.
3	12,5	2 Tertiärfollikel (5mm)	1 Corpus luteum	Okt.
4	27,5	homogenes Parenchym gewebe	viele Tertiärfollikel (2-3mm)	Mai
5	13,5	homogenes Parenchym- gewebe	homog. Parenchym- gewebe	Sept.

Auf der Grundlage der beschriebenen Kasuistik lassen sich die Ergebnisse der autogenen OVTR bei der Zwergziege in folgende Punkte zusammenfassen.

1. Der Operationserfolg nach OVTR mit ZFK lag gemessen an dem postoperativ nachweisbaren Gewebe nach 10 Eierstocksübertragungen durchschnittlich bei 70%.
2. Wenn das Kriterium Oozytennachweis als Qualitätsparameter mit einbezogen wird, sinkt er auf 60%.
3. Der Nachweis von Tertiärfollikeln gelang nur in 40% der transplantierten Ovarien.
4. In den erfolgreich übertragenen Eierstöcken liefen die Prozesse der Follikelogenese und der Hormonproduktion über den gesamten Zeitraum der Versuchsdurchführung (max. 170 d p.op.) ab.
5. Pathomorphologische Veränderungen an den Adnexen wie Verklebungen, Hydrosalpinx, Gelbkörper- und Follikelzysten waren nach der OVTR merklich erhöht.
6. Der intraoperative Ovarstatus scheint einen Einfluß auf den Operationserfolg zu haben. Ovarien mit aktiven Funktionskörpern zeigten eine erhöhte Nekrose- neigung in der prävasculären Wundheilungsphase. Die mechanische Entfernung insbesondere von Gelbkörpern wirkte sich auf den postoperativen Erhalt des Transplantates günstig aus.
7. Operationstechnisch ließ sich die OVTR bei nulliparen Tieren besser als bei pluriparen Tieren durchführen.

Tab.11 Ergebnisse der postmortalen Untersuchung nach orthotoper autogener OVTR bei der Zwergziege

Tier-Nr.	Zeitraum zur OP (d)	Adhäsion an den Adnexen		gefundenes Ovargewebe		Anwesenheit von Oozyten		Tertiär- follikel		Uterus/ Endometrium	Pathologische Befunde	
		links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts		links	rechts
1	7	(BI) ^{ooo}	oo	-	-	-	-	-	-	degeneriert	NEK	NEK
2	50	o	oo	+	+	ja	ja	ja	ja	intakt/ einschichtig	H(5)* Nek+Verk	FZ(6)
3	150	-	-	+	++	ja	ja	ja	-	intakt/ mehrstufig	GZn(8,3) FZ(6)	GZn(7,7) FZ(4)
4	160	(BI) ^{oo}	-	+	-	ja	-	nein	nein	intakt/ einschichtig	H(15) FZ(8)	H(5)
5	170	-	o	+	+	nein	ja	-	ja	intakt/ mehrstufig	GZ(11)	H(10)

^{ooo} = großflächige Verklebung über 1cm in der Ausdehnung
^{oo} = mittelgradige Verklebung bis 1cm
^o = punktförmige Verklebung
⁻ = keine Verklebung
⁺⁺ = Hälfte des Ovargewebes vorhanden
⁺ = weniger als die Hälfte des Ovargewebes vorhanden
⁻ = kein Ovargewebe vorhanden
^{*} = Zahlen in () geben die verschiedenen Durchmesser der Strukturen an

NEK = umfangreiche Nekrosen
 Nek = kleine nekrotische Bereiche
 Verk = Verkalkungen
 H = Hydrosalpinx
 GZ/GZn = Gelbkörpermzyste(n)
 FZ/FZn = Follikelzyste(n)
 (BI) = Harnblase in die Verklebung mit einbezogen

3.2.3. Orthotope isogene Ovartransplantation beim Goldhamster und bei der Maus

Die OVTR erfolgte zwischen zwei isogenen Partnern (Abb.11) in einem Operationsschritt. Partiell wurde bei den Goldhamstern mit einem Fellfarbmarker zur Identifizierung der Herkunft der Nachkommen gearbeitet.

3.2.3.1. Ergebnisse beim Goldhamster

Von den acht gebildeten Operationspaaren bestanden 4 Paare aus einheitlich wildfarbenen Tieren(w) und 4 Paare aus je einem schwarzen Angorahamster(a) und einem wildfarbenen Goldhamster(w). Aufgrund der verlängerten Narkosezeit, die durch die synchrone Operationsweise bedingt war, verstarb Tier 13 während der OP. Von den operierten Tieren waren 8 Weibchen (53%) fertil, wobei es beim Tier 16 zu einem Abort um den 10. Trächtigkeitstag kam (Tab.12). Die histologische Untersuchung der Frucht ergab keinen Hinweis auf mögliche Ursachen. Das Tier 4 zeigte im postoperativen Zeitraum keine Anzeichen einer Sexualzyklusaktivität. Die Nachkommen aus der Anpaarung eines wildfarbenen Männchens und des Weibchens 9 mit den Ovarien vom schwarzen Angorahamster 10 zeigten folgende Aufspaltung in der Fellfarbe: Vier der Hamsterjungen (2.2) hatten ein etwas dunkleres Fell im Vergleich zu den Nachkommen aus den anderen Würfen. Demgegenüber war das Fell der beiden anderen Tiere (1.1) durch eine starke Aufhellung gekennzeichnet. Dieses Phänomen der Fellfarbenaufspaltung (Abb.16) der Nachkommen wurde zuvor bei einer Kontrollanpaarung zwischen einem schwarzen Angorahamsterweibchen und einem wildfarbenen Bock beobachtet. Ein verstärktes Haarlängenwachstum trat bei den Nachkommen nicht auf. Bei einem identischen fertilen OP-Paar (Tier 15 und 16) konnte dieses Ergebnis nicht reproduziert werden, da die Nachkommen vor der Fellausbildung durch Infantizid verloren gingen. Erwartungsgemäß waren die Nachkommen der operierten schwarzen Angorahamsterweibchen einheitlich wildfarben.

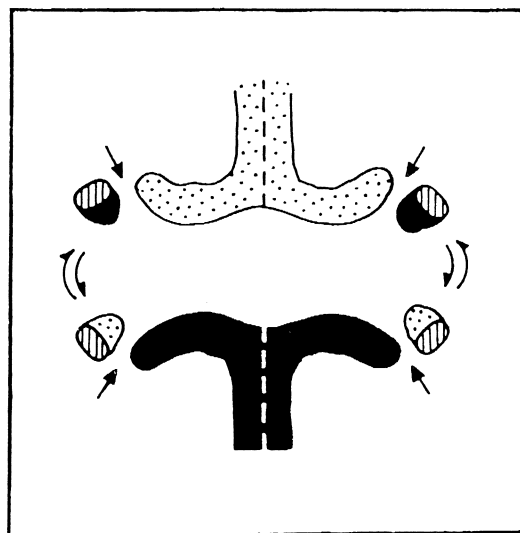


Abb.11

Schematische Darstellung
der orthotopen isogenen OVTR

Tab.12 Zyklusverlauf und Fertilität nach orthotoper isogener OVTR mit ZFK beim Goldhamster

Gruppen	Tier-Nr./ Farbschlag	Einsetzen des Östrus (d p.op.)	mittlere Zyklusdauer (d)	Tage (p.op.) bis Geburt	Befruchtungs- zeitpunkt (Zyklen p.op.)	Anzahl Nachkommen
Hamsterpaar (w/w)	1(w)	35	5	-	-	-
	2(w)	14	4	38	3.	0.2+(2)*
	3(w)	18	7	-	-	-
	4(w)	-	-	-	-	-
	5(w)	21	4	41	2.	5.3
	6(w)	23	4	55	4.	2.2
	7(w)	33	5	59	3.	1.3
	8(w)	27	6	-	-	-
X_5 SD_5		24,4 (∞)	5,0 (-)	48,2 (o)	3,0 (-)	5,0 (-)
		7,7	1,1	10,3	0,8	2,0
Hamsterpaar (w/a)	9(w)	21	5	47	3.	3.3
	10(a)	17	4	-	-	-
	11(w)	27	6	-	-	-
	12(a)	25	4	-	-	-
	13(w)		bei OP gestorben			
	14(a)	19	4	60	6.	0.3
	15(w)	16	6	51	4.	(3)
	16(a)	22	5	(47.d Abort)	3.	-
X_6 SD_6		21,0 (∞)	4,9 (-)	52,7 (o)	4,3 (-)	3,0 (-)
		4,0	0,9	6,7	1,5	0

* Die in Klammer stehenden Ziffern geben die Anzahl der Nachkommen an, die im unmittelbaren Geburtszeitpunkt erfaßt wurden und später nicht mehr auffindbar waren (Infantizid).

Tab.13 Ergebnisse der postmortalen Untersuchung nach orthotoper isogener OVTR beim Goldhamster

Gruppen	Tier-Nr./ Farbschlag	Zeitraum zur OP(d)	Adhäsion im Narbenbereich		gefundenes Ovargewebe		Tertiär- follikel		Uterus/ Endometrium	Pathologische Befunde	
			links	rechts	links	rechts	links	rechts		links	rechts
Hamsterpaar (w/w)	1(w)	90	oo	o	++	+	ja	nein	intakt	-	Zyste(B)
	2(w)	90	o	-	++	++	ja	ja	intakt	-	-
	3(w)	90	(D)ooo	oo	+	+	nein	ja	intakt	Zyste(B+H)	-
	4(w)	90	oo	oo	-	+	-	nein	atrophiert	-	Zyste(B)
	5(w)	90	o	-	++	++	ja	ja	intakt	-	-
	6(w)	100	o	o	++	+	ja	ja	intakt	-	-
	7(w)	100	o	oo	++	+	ja	nein	intakt	-	-
	8(w)	90	oo	ooo(D)	+	+	nein	nein	intakt	Zyste(B)	-
Hamsterpaar (w/a)	9(w)	90	-	o	++	++	ja	ja	intakt	Zyste(B)	-
	10(a)	90	oo	-	+	+	nein	ja	intakt	-	-
	11(w)	90	o	oo	+	-	ja	-	intakt	Zyste(B+H)	Zyste(B)
	12(a)	90	o	-	+	-	ja	-	intakt	Zyste(B)	-
	14(a)	85			nicht obduziert						
	15(a)	65			nicht obduziert						
	16(w)	65			nicht obduziert						

ooo	=	großflächige Verklebung über 5mm in der Ausdehnung	(H)	=	Hydrosalpinx
oo	=	mittelgradige Verklebung bis 5mm	++++	=	gesamtes Ovargewebe
o	=	punktförmige Verklebung	+++	=	über die Hälfte des Ovargewebes
-	=	keine Verklebung	++	=	die Hälfte des Ovargewebes
(D)	=	Darm in die Verklebung mit einbezogen	+	=	weniger als die Hälfte des Ovargewebes
(B)	=	Bursazyste	-	=	kein Ovargewebe

Die Ergebnisse der Autopsie und der histologischen Untersuchung sind in Tab.13 zusammengefaßt. Von den zwölf seziierten Tieren hatten 7 Hamster einseitig zystisch veränderte Adnexe (58%). Die Abbildungen 12, 13, 14 und 15 zeigen eine Auswahl von histologischen Bildern wie sie bei den fertilen Tieren 6, 7, und 9 sowie dem sterilen Weibchen 12 angetroffen wurden. Der Genitaltrakt von Tier 4 war zum Zeitpunkt der Obduktion deutlich verkleinert und zeigte histologisch eine ausgeprägte Kastrationsatrophie.

3.2.3.2. Ergebnisse bei der Maus

Es wurden jeweils 4 Transplantationspaare von CBWA-Mäusen und 4 Transplantationspaare von F₁-Hybriden (CBA/C57BL6J) gebildet (Tab.14 und Tab.14a). Die biogene Gewebeklebung wurde aus Vergleichsgründen nur bei der Hälfte der Paare eingesetzt .

Nach der Scheinoperation zeigte eines der vier operierten Tiere deutliche Wundheilungsstörungen und wurde im Versuchszeitraum nicht trüchtig. Allgemeine gesundheitliche Probleme hatten auch die Tiere 9 und 14, die beide vor Versuchsabschluß starben.

Die OVTR war aufgrund der geringeren Größe der Ovarien schwieriger als beim Goldhamster auszuführen. Nach der *OVTR ohne ZFK* wurden von den operierten Tieren eine CBWA-Maus (25%) von 4 Mäusen dieser Linie und zwei (67%) von den drei verbliebenen F₁-Hybriden trüchtig. Dieses Ergebnis verbesserte sich durch den *Einsatz des ZFK* bei den CBWA Mäusen auf 67% (2 von 3 Tiere waren fertil) und bei den F₁-Hybriden auf 75% (3 von 4 Tieren waren fertil). Siehe in Tab.14 und Tab.14a.

Obduktionen und histologische Untersuchungen wurden bei diesen Tieren nicht vorgenommen.

Die Unterschiede in der postoperativen Fertilität bei den beiden verwendeten Mäuselinien unterstützen die von JONES und KROHN (1960) beschriebene und von BAUNACK et al. (1988) ebenfalls nachgewiesene Linienspezifität nach OVTR.

Tab.14 Postoperative Fertilität bei der Mäuseinzuchtlinie CBWA nach orthotoper isogener OVTR mit und ohne Verwendung ZFK im Vergleich zur Kontrollgruppe

Gruppen	Tier-Nr.	Linie	Zeitraum bis Anpaarung (d p.op)	Zeitraum von Anpaarung bis Geburt (d)	Anzahl Nachkommen
Scheinoperation (Kontrolle)	1	CBWA	45	24	3.4
	2	CBWA	45	28	2.3
X_1			45,0	26,0	6,0
SD_1			0,0	2,8	1,4
isogene OVTR ohne ZFK (CBWA/CBWA)	5	CBWA	45	-	-
	6	CBWA	45	-	-
	7	CBWA	45	-	-
	8	CBWA	45	26	4.1
X_2			45,0	26,0	5,0
SD_2			0,0	0,0	0,0
isogene OVTR mit ZFK (CBWA/CBWA)	13	CBWA	45	27	1.1
	14	CBWA	-	nach 51 Tagen p.op. gestorben	-
	15	CBWA	45	26	2.1
	16	CBWA	45	-	-
X_3			45,0	26,5	2,5
SD_3			0,0	0,7	0,7

Tab.14a Postoperative Fertilität bei den Mäuse-F1-Hybriden (CBA/C57BL6J) nach orthotoper isogener OVTR mit und ohne Verwendung ZFK im Vergleich zur Kontrollgruppe

Gruppen	Tier-Nr.	Linie	Zeitraum bis Anpaarung (d p.op.)	Zeitraum von Anpaarung bis Geburt (d)	Anzahl Nachkommen
Scheinoperation (Kontrolle)	3	F1-Hyb.	45	-	-
	4	F1-Hyb.	45	25	5,2
X_1			45,0	25,0	7,0
SD_1			0,0	0,0	0,0
isogene OVTR ohne ZFK (F1-Hyb./F1-Hyb.)	9	F1-Hyb.	-	nach 30 Tagen p.op. gestorben	-
	10	F1-Hyb.	45	69	1,0
	11	F1-Hyb.	45	26	6,2
	12	F1-Hyb.	45	-	-
X_2			45,0	47,0	4,5
SD_2			0,0	30,4	4,9
isogene OVTR mit ZFK (F1-Hyb./F1-Hyb.)	17	F1-Hyb.	45	27	4,4
	18	F1-Hyb.	45	-	-
	19	F1-Hyb.	45	25	2,5
	20	F1-Hyb.	45	24	2,2
X_3			45,0	25,0	6,3
SD_3			0,0	1,5	2,1

3.2.4. Knochenmarkgewinnung und -aufbereitung bei der Zwergziege

Es wurde bei 16 Zwergziegen eine Knochenmarkentnahme mit anschließender Zellseparation und -reinigung durchgeführt. Der Zugang zur Medulla ossium erfolgte auf der Grundlage der Erfahrungen aus mehreren Vorversuchen über das Tuber coxae. Eine Knochenmarkaspiration nach Punktion des Brustbeins oder des Beckenkamms führte zu keinem Erfolg. Diese Technik aus der Humanmedizin setzt eine aspirationsfähige Medulla ossium voraus. Bei der Afrikanischen Zwergziege ist die Diploe durch ein sehr fest in der Spongiosa verankertes Knochenmark charakterisiert. Die Gewinnung der Medulla ossium beim lebenden Tier war nur durch die im Abschnitt 3.1.5. beschriebene Spülmethode möglich.

Die Trepanation des Sternums für eine Spongiaspülung schied aus, da die einzelnen Sternebrae geringe Mengen an Knochenmark besitzen und zusätzlich die Gefahr, operativ einen Pneumothorax zu erzeugen, besteht. Das Femur, ebenfalls mit aktivem Knochenmark ausgestattet, kam wegen einer schwierigen Operationsführung und zu erwartender postoperativer Wundheilungsstörungen nicht in Betracht.

Die Anzahl der in das Os ilium eingebrachten Bohrlöcher richtete sich nach der Größe des Darmbeins bei den einzelnen Zwergziegen. Tiere, die eine Gesamtmasse unter 25kg aufwiesen, erhielten zwei Zugänge in die Spongiosa und schwerere Ziegen drei Bohrungen. Es wurde jeder Zugang mit 40ml Parker-Medium gespült. Der Anteil an zurückgewonnener Flüssigkeit lag im Mittel bei 81%. Bei den Tieren ab 25kg wurde wegen des zusätzlichen Zuganges ein Drittel mehr Spülmedium eingesetzt. Die Ergebnisse der Knochenmarkgewinnung und -aufbereitung sind in Tab.15 zusammengefaßt. Die gewonnene Gesamtzellzahl nach der Separation und Reinigung unterschied sich nur gering gegenüber den Tieren mit zwei Spongiosabohrungen. Die Ursache ist wahrscheinlich die abnehmende Gesamtmenge an Medulla ossium rubra bei älteren (schwereren) Tieren.

- zwei Bohrungen: $0,85 \pm 0,09 \times 10^8$ kernhaltige Zellen pro Spülung
- drei Bohrungen: $0,93 \pm 0,13 \times 10^8$ kernhaltige Zellen pro Spülung

Eine Zellzählung sowie die Bestimmung des prozentualen Anteils an Knochenmarkzellen wurde stellvertretend bei 4 Spülungen ausgeführt. Die Gesamtzellzahl pro Spülung nach der Zellaufbereitung lag im Mittel bei $0,89 \pm 0,1 \times 10^8$ kernhaltigen Zellen. Erythrozyten, Granulozyten, Monozyten und ein hoher Anteil an Lymphozyten wurde durch die Zweistufen-Zentrifugation über einem Ficoll- und einem Percolldichtegradienten abgetrennt. Der Anteil der hämatopoetischen Stammzellen in der aufbereiteten Zellsuspension betrug durchschnittlich 51 Prozent ($0,45 \pm 0,1 \times 10^8$ Zellen) gegenüber einem mittleren Gehalt an peripheren Lymphozyten von 49 Prozent ($0,44 \pm 0,06 \times 10^8$ Zellen)

Tab.15 Ergebnisse der Knochenmarkgewinnung und -aufbereitung

Tier-Nr.	Masse (kg)	Anzahl der Spongiosa- bohrungen	Spülmedium insgesamt (ml)	Gewonnenes Spülmedium (ml)	Gewinnungs- rate in %	Anzahl der kernhaltigen Zellen x10 ⁸	Anzahl der peripheren Blutzellen x10 ⁸	Anzahl der Knochenmark- zellen x10 ⁸	Anzahl der Zellen pro ml Impfdosis x10 ⁸
1	19,3	2	80	63	79	0,92	0,39 (42%)	0,53 (58%)	0,31
2	17,8	2	80	59	74	0,79	0,40 (51%)	0,38 (49%)	0,26
3	21,2	2	80	68	85	-	-	-	-
4	15,9	2	80	71	89	-	-	-	-
5	13,8	2	80	60	75	-	-	-	-
6	23,5	2	80	65	81	-	-	-	-
<i>X_I</i>	<i>18,6</i>	-	-	<i>64,3</i>	<i>80,5</i>	<i>0,86</i>	<i>0,4 (47%)</i>	<i>0,45 (53%)</i>	<i>0,29</i>
<i>SD_I</i>	<i>3,5</i>	-	-	<i>4,6</i>	<i>5,8</i>	<i>0,09</i>	<i>0,01</i>	<i>0,1</i>	<i>0,03</i>
7	29,0	3	120	88	73	1,02	0,46 (45%)	-	0,34
8	32,5	3	120	97	81	0,84	0,51 (61%)	0,56 (55%)	0,28
9	25,8	3	120	86	72	-	-	-	-
10	41,5	3	120	95	79	-	-	-	-
11	25,5	3	120	102	85	-	-	-	-
12	30,5	3	120	106	88	-	-	-	-
13	44,0	3	120	92	77	-	-	-	-
14	45,6	3	120	101	84	-	-	-	-
15	44,5	3	120	100	83	-	-	-	-
16	26,0	3	120	107	89	-	-	-	-
<i>X₂</i>	<i>34,5</i>	-	-	<i>97,4</i>	<i>81</i>	<i>0,93</i>	<i>0,48 (53%)</i>	<i>0,44 (47%)</i>	<i>0,31</i>
<i>SD_{28,4}</i>	-	-	<i>7,1</i>	<i>5,8</i>	<i>0,13</i>	<i>0,04</i>	<i>0,16</i>	<i>0,04</i>	

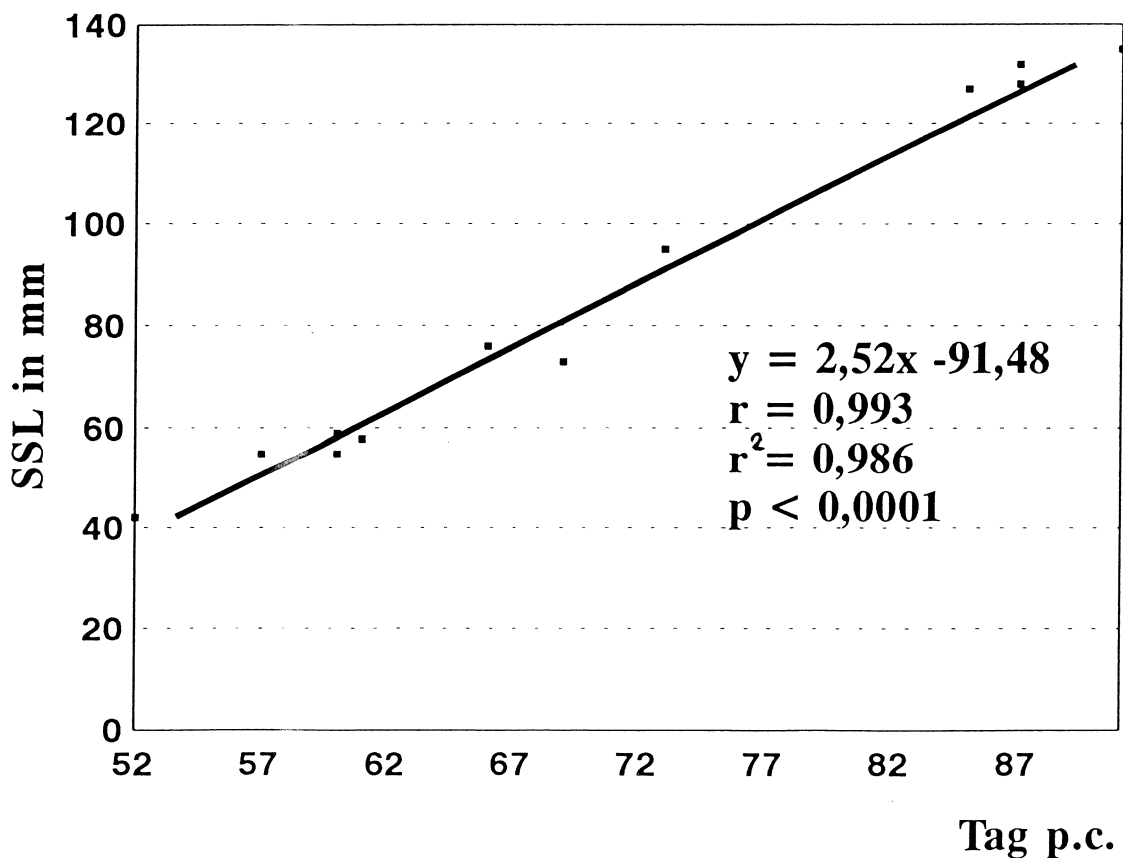
* Die angegebenen Zahlenwerte wurden nach der Zweistufen-Dichtegradientenzentrifugation ermittelt

3.2.5. Fetale Beimpfung

Insgesamt wurden 12 trächtige Zwergziegen mit aufbereiteten Knochenmarkzellen beimpft. Vier weitere Tiere erwiesen sich nach sonographischer Untersuchung als nicht trächtig und schieden aus dem Versuch aus. Die Ergebnisse der fetalen Beimpfung sind in Tab.16 aufgeführt.

Die 12 trächtigen Ziegen trugen 1-4 Feten bei einem Durchschnitt von 2,25 Fruchtanlagen je Ziege. Insgesamt standen damit 27 Feten im Alter von 52-91 Tagen für die Einbringung von allogenen Knochenmarkzellen zur Verfügung. In jede Fruchtanlage wurde insgesamt 1ml mit einer mittleren Zellmenge von $0,3 \pm 0,04 \times 10^8$ Zellen der aufbereiteten Knochenmarkzellsuspension eingebracht. Die Feten wiesen aufgrund des verschiedenen Alters zum Untersuchungszeitpunkt unterschiedliche Scheitel-Steiß-Längen (SSL) auf. Die Abb.19 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Trächtigkeitszeitpunkt und der gemessenen SSL.

Abb.19 Scheitel-Steiß-Länge der beimpften Zwergziegenfeten in Abhängigkeit zum Trächtigkeitszeitpunkt



Tab.16 Ergebnisse der fetalen Beimpfung mit Knochenmarkzellen

Tier-Nr.	Masse (kg)	Alter der beimpften Feten (d)	Anzahl der Fruchtanlagen	SSL (mm)*	Anzahl der resorbierten Feten nach Beimpfung	Anzahl der abortierten Feten nach Beimpfung	Anzahl der ausgetragenen Feten nach Beimpfung	Trächtigkeitsdauer (d p.c.)	Geschlecht der geborenen Tiere	Geburtsmasse (kg)
1	13,8	52	2	42	2	0	0	?	-	-
2	30,5	57	1	55	0	0	1	147	1.0	2,2
3	23,5	60	2	64	2	0	0	?	-	-
4	25,5	60	4	59	4	0	0	?	-	-
5	19,3	61	2	58	2	0	0	?	-	-
6	32,0	66	3	76	0	3	0	70	-	-
7	15,9	69	2	75	0	2	0	71	-	-
8	26,0	73	2	95	2	0	0	?	-	-
9	44,0	85	2	127	2	0	0	?	-	-
10	29,0	87	3	128	1	0	2	146	2.0	1,9; 2,1
11	32,5	87	2	132	1	0	1	146	1.0	2,1
12	45,6	91	2	135	0	2	0	94	-	-
X	28,1	-	2,25	-	1,33 (59%)	0,58 (26%)	0,33 (15%)	-	-	2,08
SD	9,83	-	0,75	-	1,23	1,08	0,65	-	-	0,13

* Die SSL wurde bei Vorhandensein von mehreren Fruchtanlagen nur von einem Fetus bestimmt

Drei von den 12 Mutterziegen gebaren nach der fetalen Beimpfung insgesamt vier männliche Lämmer. Die errechnete Trächtigkeitsdauer betrug 146 bzw. 147 Tage. Die Geburtssmasse lag zwischen 1,9 bis 2,2kg. Die Lämmer waren gesund und zeigten keine Unterschiede gegenüber den Tieren aus Normalablammungen. Bei zwei der Muttertiere kam es nach der Beimpfung zur Reduktion der Anzahl der Fruchtanlagen. Es wurde, jeweils ein Tier weniger als nach der sonographischen Untersuchung erwartet, geboren. Ein Abort wurde nicht beobachtet.

Bei den neun anderen beimpften Tieren kam es zu keiner Geburt. 6 Ziegen (50%) hatten eine vollständige Fruchtresorption. 3 Ziegen (25%) abortierten 2-4 Tage nach der Beimpfung die Früchte. Von den insgesamt 27 beimpften Feten wurden 59% (16 Feten) resorbiert, 26% (7 Feten) abortiert und 15% (4 Feten) ausgetragen.

Für den Verlust der Trächtigkeiten nach der Beimpfung können folgende Ursachen verantwortlich sein:

1. Ein zu hoher Anteil an peripheren Lymphozyten im Zellgemisch, welcher zur Ausbildung einer GVHR führte.
2. Eine mikrobielle Verunreinigung der verimpften Zellsuspension, welche eine spätere intrauterine Infektion des Feten nach sich zog.
3. Eine mechanische Traumatisierung des Fetus oder der Plazentaanlage bei der Beimpfung, die ein Absterben der Frucht zur Folge hatte.

Die Wahrscheinlichkeit mit der diese Ursachen im Einzelfall zutreffen, konnte nicht ermittelt werden. Ein Hinweis, daß vor allem der Punkt (1) zur Resorption der Feten führte, war der hohe Anteil an peripheren Lymphozyten in den verimpften Zellsuspensionen. Die Aborte fanden 2-4 Tage nach der Beimpfung statt, so daß die GVHR für diese Fälle aufgrund des zu kurzen Zeitraumes nicht verantwortlich gemacht werden kann. Eine mikrobielle Verunreinigung des verimpften Zellmaterials (Punkt 2) wird als möglicher Grund für die Aborte angesehen. Die pathohistologische Untersuchung der abortierten Feten ergab keinen eindeutigen Hinweis auf eine infektiöse Ursache. Eine mikrobiologische Abklärung erfolgte nicht, da die Aborte alle Fraßschäden von Ratten aufwiesen. Die Möglichkeit der letalen Traumatisierung der Feten bzw. der Fruchtanlagen ist als gering einzuschätzen, da unmittelbar nach der Beimpfung der entsprechende Fetus auf Blutungen sonographisch untersucht wurde. Es fanden sich in keinem Fall Hinweise dafür.

3.2.6. Prüfung der Immuntoleranz mit Hauttransplantationen.

Den vier nach intrauteriner Beimpfung geborenen Ziegenlämmern (Tab.17) wurden 7-21 Tage p.p. drei Eigenhaut- und 6 Fremdhauttransplantate von dem jeweiligen Knochenmarkzell donor frei übertragen.

Tab.17 Rezipienten für allogene Hauttransplantate

Rezipienten-Nr.	Muttertier-Nr.	Alter bei Beimpfung (d p.c.)	Scheitel-Steiß-Länge (mm)	Geburts-Masse (kg)	Geschlecht
2a	2	57	55	2,2	1,0
10a; 10b	10	87	128	1,9; 2,1	2,0
11a	11	87	132	2,1	1,0

Die Ergebnisse der fünfzigtägigen Beobachtung der Hauttransplantate sind in Tab.18 aufgeführt. Bei allen 4 Tieren kam es unmittelbar nach der OP bis zum 3. Tag p.op. zum Verlust von Auto- und Allotransplantaten. Die Ablösung vor der eigentlichen Einheilungsphase betraf bei Tier 2a beispielsweise 67% beider Transplantatarten. Die Ursache hierfür waren mechanische Irritationen im Bereich des Transplantatbettes durch das Muttertier.

Die verbliebenen autogenen Hautstücke waren bei allen Tieren eingewachsen und zeigten am Ende des Beobachtungszeitraumes ein leichtes Haarwachstum.

Beim Tier 2a wuchsen ebenfalls die beiden verbliebenen allogenen Vollhauttransplantate ein (Abb.20) und waren im Beobachtungszeitraum intakt. Die allogenen Hauttransplantate der Tiere 10a, 10b und 11a wurden in einem Zeitraum von 7-11 Tagen abgestoßen (Abb.21).

Die histologische Untersuchung bestätigte das am Tier festgestellte Ergebnis. In den angewachsenen Transplantaten fanden sich eine verringerte Anzahl an Haarfollikeln, die in ihrer Ausrichtung den angrenzenden Haarfollikeln des Transplantatbettes konträr entgegen standen (Abb.20). Bei den abgestoßenen Transplantaten zeigte sich im Transplantatbett ein follikellooses ungeordnetes Narbengewebe (Abb.21).

Bewertung der Ergebnisse des Hauttransplantationstests:

1. Die fetale Beimpfung am 57. Tag p.c. (SSL 55mm) mit aufbereiteten allogenen Knochenmarkszellen führte bei der Zwergziege zur Ausbildung einer donor-spezifischen Gewebetoleranz, die mit Hilfe der freien Hauttransplantation nachgewiesen werden konnte.
2. Die fetale Beimpfung am 87. Tag p.c. (SSL 128 - 132mm) führte zu keiner späteren donorspezifischen Gewebetoleranz (nachgewiesen mit Hilfe des Hauttransplantationstests).

Tab.18 Ergebnisse der allogenen Hauttransplantation nach 50 Tagen p.op.

Rezipienten-Donor- Nr.	Nr.*	Alter bei OP (d)	Masse (kg)	Kompatibilitäts- verhältnisse	Anzahl der Transplantate insgesamt	Anzahl der Transplantate verlustr (≤ 3.d p.op.)	Anzahl der Transplantat-.angewachsenen Transplantate	Anzahl der abgestossenen Transplantate	Zeitraum bis Abstoßung (d p.op.)
2a	11	21	4,7	autogen allogen	3 6	2 (67%) 4 (67%)	1 (33%) 2 (33%)	- -	- -
10a	4	10	3,0	autogen allogen	3 6	2 (67%) 3 (50%)	1 (33%) -	- 3 (50%)	- 10
10b	4	10	3,3	autogen allogen	3 6	1 (33%) 2 (33%)	2 (67%) -	- 4 (67%)	- 7
11a	3	7	2,8	autogen allogen	3 6	- -	3 (100%) -	- 6 (100%)	- 11

* Donor-Nr. entsprechend der Tab.10

3. Die Ausbildung einer Transplantatimmunologie hatte bei den nicht toleranten Tieren innerhalb von 11 Tagen p.op. die Rejektion der allogenen Vollhauttransplantate zur Folge. Sie ließ sich anhand des zeitlichen Verlaufes als akute frühe Abstoßung klassifizieren.

3.2.7. Ektope allogene OVTR bei der Zwergziege

Nach der Prüfung der Immuntoleranz mittels allogener Hauttransplantation wurde bei den vier nach der intrauterinen Beimpfung geborenen Ziegenlämmern eine ektope allogene OVTR durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab.19 zusammengefaßt. Die Resultate der Hauttransplantation bestätigten sich nach der histologischen Auswertung der OVTR .

Tier 2a

Anhand des Ergebnisses vom Hauttransplantationstest war dieses Tier nach der fetalen Beimpfung mit Knochenmarkzellen vom Donor 11 am 57. Tag p.c. gegenüber dessen allogenen Gewebe tolerant. Von den zwei übertragenen Ovardritteln konnte bei der Obduktion am 50. Tag p.op. nur ein Transplantat wiedergefunden werden. Das Tier war zu diesem Zeitpunkt 121 Tage alt.

Das in seiner Gesamtgröße wenig verkleinerte Transplantat wies keine Funktionskörper auf und war durch ein ungeordnetes Stroma charakterisiert. Die wenigen Primärfollikel, ausgestattet mit einer flachen Granulosazellschicht, befanden sich vor allem in der Peripherie des Transplantates (Abb.22 und 23). Nekrosen oder Verkalkungsherde waren in dem Gewebe nicht vorhanden. Ebenfalls fehlten die bei den anderen drei Tieren gefundenen Lymphozytenaggregationen in der Transplantatumgebung.

Tiere 10a, 10b und 11a

Die Ergebnisse der OVTR bei diesen Tieren können aufgrund des ähnlichen histologischen Bildes zusammengefaßt werden. Diese 3 Ziegen waren nach dem Resultat des Hauttransplantationstests gegenüber dem jeweiligen Donorgewebe nicht tolerant.

Die Tiere hatten bei der Transplantatentnahme ein Alter von 107 (11a) und 110 (10a, 10b) Tagen. Bei der Zwergziege 11a konnte nur ein Transplantat von den zwei übertragenen Ovarstücken wiedergefunden werden. Die Transplantate waren bei allen 3 Tieren linsengroß und von dunkelgrauer Farbe. Sie wiesen eine derbe Konsistenz auf.

Histologisch zeigte sich eine vollständige Nekrose des Ovargewebes. Zusätzlich traten in den Transplantaten von Tier 10a und 11a kleinere Verkalkungsherde auf. Bei allen waren peripher um den Nekroseherd Lymphozytenaggregationen mit struktureller Ähnlichkeit zum Aufbau von Lymphknoten zu finden (Abb.24).

Tab.19 Ergebnisse der ektopen allogenen OVTR bei der Zwergziege

Rezipienten- Nr.	Donor- Nr.	Alter bei OP (d)	Anzahl übertragener Transplantate	Funktionskörper auf Rezipienten- ovarien	Zeitraum zur OP (d)	Anzahl wiedergefundener Transplantate	Anwesenheit von Oozyten	Pathologische Befunde
2a	11	71	2	1 Tertiärfollikel (5mm)	50	1	ja	wenige Primärfollikel, überwiegend unregel- mäßiges Stroma
10a	4	60	2	1 Gelbkörper	50	2	-	vollständige Nekrose mit Verkalkungsherden und peripherer Lympho- zytenaggregation
10b	4	60	2	4 Tertiärfollikel	50	2	-	vollständige Nekrose mit peripherer Lympho- zytenaggregation
11a	3	57	2	homogenes Parenchym- gewebe	50	1	-	vollständige Nekrose mit Verkalkungsherden und peripherer Lympho- zytenaggregation

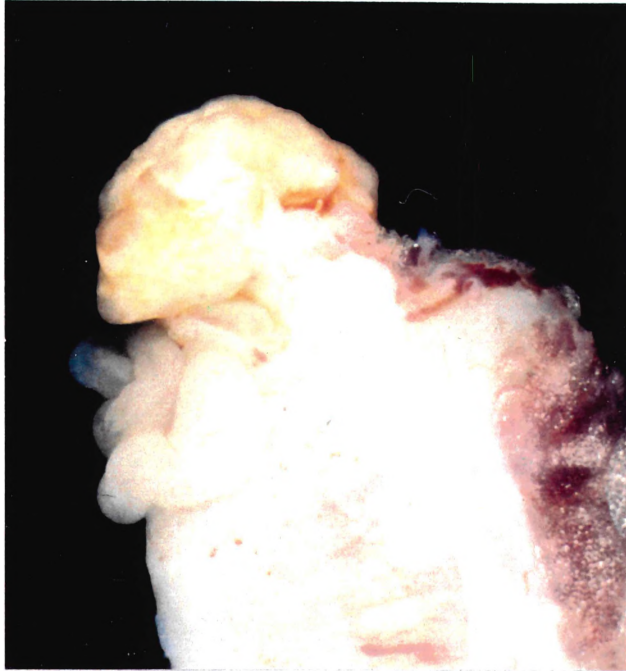


Abb.4 Eierstock vom Goldhamster nach Entfernung der Bursa ovarica (Kontrolltier 1, li. Adnexe) Vergrößerung etwa 13fach.

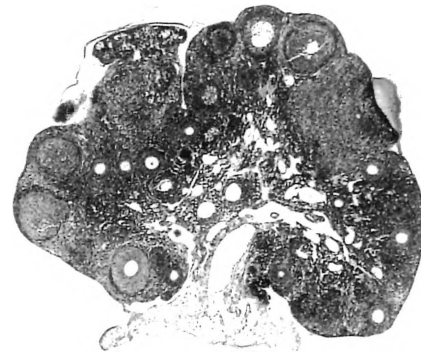


Abb.5 Histologisches Übersichtsbild des Eierstockes vom Goldhamster (Kontrolltier 1, li. Adnexe) H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 18fach.



Abb.6 Eierstock vom Hamster nach Ovarteilresektion mit Zweikomponentenfibrinkleber (ZFK) (Tier 11, re. Adnexe) Vergrößerung etwa 13fach.



Abb.7 Eierstock vom Hamster nach Ovarteilresektion mit ZFK (Tier 11, re. Adnexe) H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 25fach.



Abb.9 Eierstock vom Hamster nach orthotoper Autotransplantation mit ZFK .
(Tier 7, re. Adnexe)
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.



Abb.10 Eierstock vom Hamster nach orthotoper Autotransplantation mit ZFK
(Tier 6, li. Adnexe)
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.

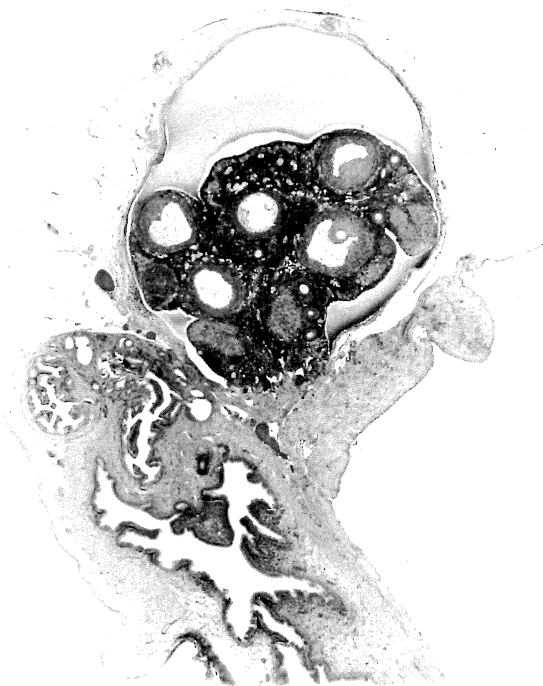


Abb.12 Eierstock vom Hamster nach orthotoper isogener Ovartransplantation (OVTR) mit ZFK (Tier 6, li. Adnexe)
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.

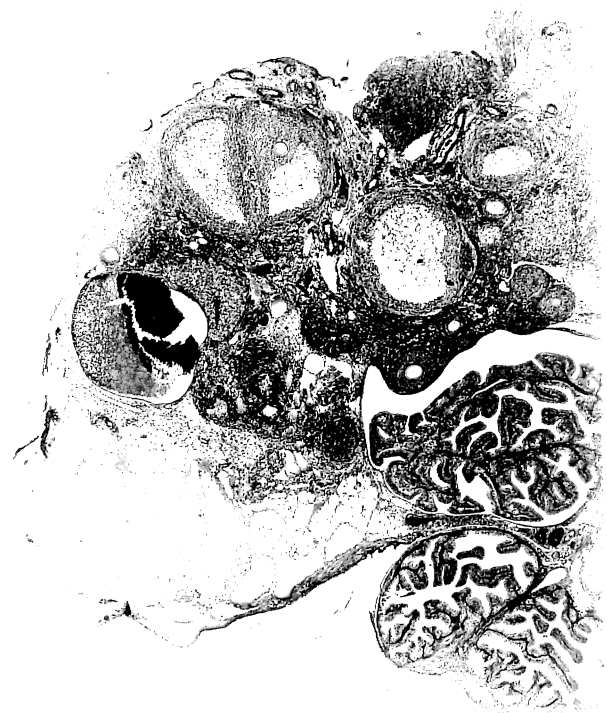


Abb.13 Eierstock vom Hamster nach orthotoper isogener OVTR mit ZFK (Tier 7, li. Adnexe)
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.

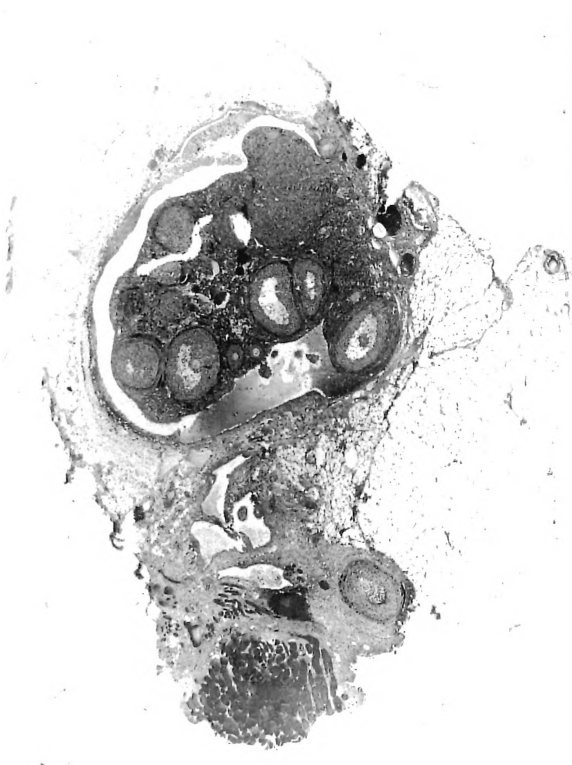


Abb.14 Eierstock vom Hamster nach orthotoper isogener OVTR mit ZFK (Tier 9, re.Adnexe) H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.



Abb.15 Eierstock vom Hamster nach orthotoper isogener OVTR mit ZFK (Tier 12, re.Adnexe) H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 20fach.



Abb.16 Hamster 9 (w) mit sechs Nachkommen nach isogener OVTR. Diesem Muttertier wurden die Ovarien eines Teddyhamsters 10 (a) übertragen. Durch die Anpaarung mit einem wildfarbenden Hamsterbock kam es zur Fellfarbenaufspaltung bei den Jungtieren.

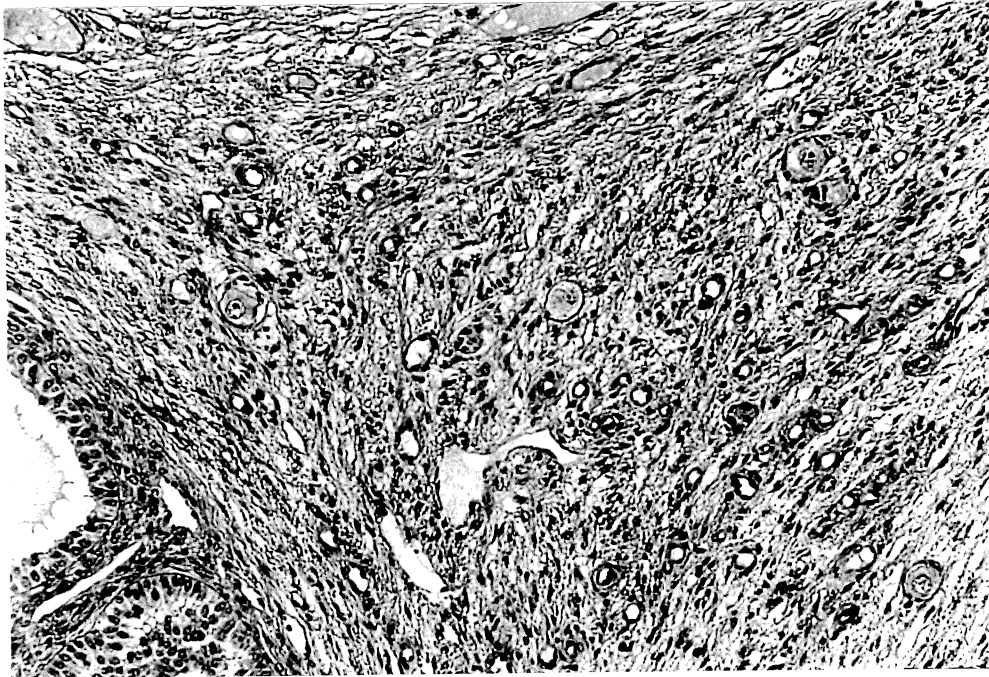


Abb.17 Eierstock von der Zwergziege nach orthotoper Autotransplantation mit ZFK (Tier 2) mit mehreren Primärfollikeln
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 230fach.



Abb.18 Eierstock von der Zwergziege nach orthotoper Autotransplantation mit ZFK (Tier 5) mit zwei verschiedenen antralen Follikelstadien und mehreren Primärfollikeln
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 100fach.



Abb.20 Hautregion von der Zwergziege mit eingewachsenem allogenem Hauttransplantat
Die Haarfollikel im übertragenen Hautstück sind entgegengesetzt ausgerichtet.
(Tier 2a) 50 Tage nach Übertragung; H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 30fach.



Abb.21 Hautregion von der Zwergziege nach der Rejektion eines allogenem Hauttransplantates
(Tier 11a) 50 Tage nach Übertragung
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 30fach.



Abb.22 Allogenes Ovartransplantat vom immuntoleranten, kastrierten Zwergziegenbock (Tier 2a) 50 Tage nach Übertragung
H.E.-Färbg. Vergrößerung etwa 72fach.

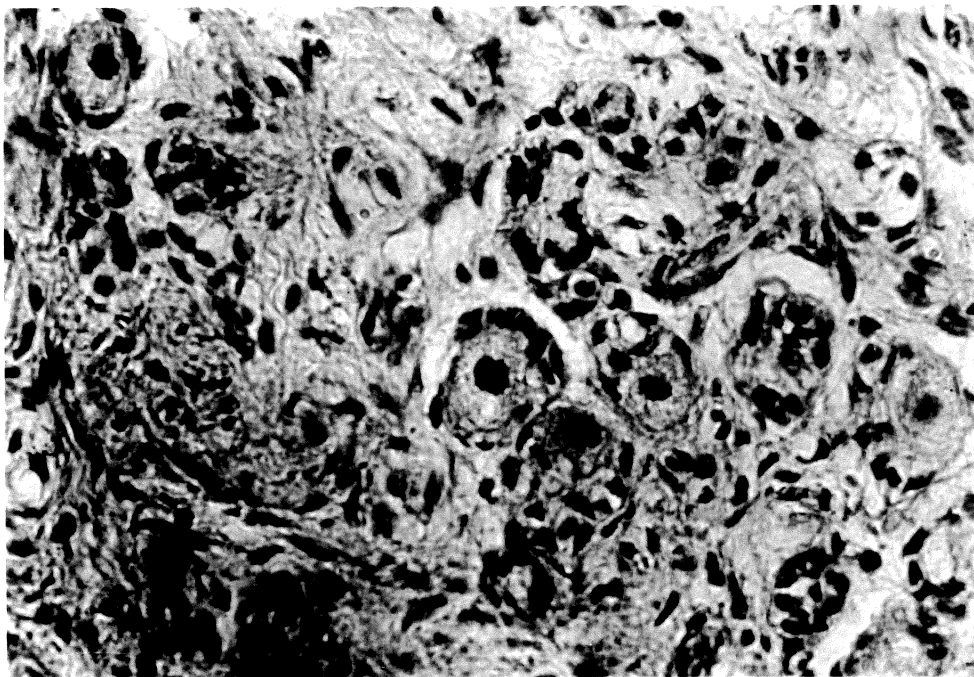


Abb.23 Primärfollikel aus dem allogenen Ovartransplantat des kastrierten Zwergziegenbocks (Tier 2a)
H.E. Vergrößerung etwa 630fach (Ausschnitt aus Abb.22).



Abb.24 Allogenes Ovartransplantat von einem nicht immuntoleranten, kastrierten Zwergziegenbock mit vollständiger Transplantatnekrose und Verkalkungsherden sowie peripherer Lymphozytenaggregation (Tier 10a) 50 Tage nach Übertragung
H.E. Vergrößerung etwa 30fach.

4. Diskussion

Der Einsatz von biotechnischen Reproduktionsverfahren zur besseren Ausnutzung des Keimzellpotentials weiblicher Hochleistungstiere in der Landwirtschaft ist ein Schwerpunkt in der Fortpflanzungsforschung (FIRST, 1990; DRAEHMPAEHL et al. 1990; BRACKETT und ZUELKE 1993). Parallel dazu gewinnen diese Methoden in den globalen Erhaltungszuchtprogrammen für bedrohte Wildtierarten zunehmend an Bedeutung (VEPRINTSEV und ROTT, 1979; PITRA et al., 1991; WILDT et al., 1992).

Die postmortale in vitro "Ernte" der überwiegend als Primärfollikel im Ovar vorliegenden Oozyten sowie deren anschließende Reifung zu befruchtungsfähigen Eizellen gelang bisher nur in Ausnahmefällen bei der Maus (EPPIG und SCHROEDER, 1989; TELFER et al., 1990).

Wir möchten mit dem von uns erarbeiteten Modell "Ovartransplantation" (Abb. 26) die Möglichkeit aufzeigen, daß die allogene (xenogene) Ovartransplantation (OVTR) ein Verfahren darstellen könnte, mit dem das enorme germinative Potential weiblicher Gonaden auch postmortal durch die Übertragung in ein anderes Tier nutzbar wäre.

Die Idee die allogene OVTR bei landwirtschaftlichen Nutztieren auszuführen wurde schon frühzeitig von VORONOFF (1925) entwickelt. Der erste realistische Versuchsansatz die allogene OVTR an einem mittelgroßen Säugetier (Schaf) auszuführen, geht auf MOORE und ROWSON (1961) zurück. Für die Erzeugung von spezifisch immuntoleranten Rezipienten beimpften die Autoren 113 Schafsfeten mit unterschiedlichen allogenen Zellmaterialien von fetalen und adulten Donoren. Das Ziel ihres Experiments, die Erzeugung spezifisch immuntoleranter Rezipienten für spätere OVTR-Versuche, wurde in keinem Fall trotz der großen Tieranzahl erreicht. VEPRINTSEV und ROTT (1979) führen in ihrem theoretischen System zur Konservierung der genetischen Vielfalt rezenter Tierarten die OVTR als eine der einzusetzenden Methoden an. Die allogene OVTR wurde bisher bei der Maus nach fetaler Toleranzinduktion (KROHN, 1958) sowie nach Immunsuppressionstherapie bei der Ratte (SCOTT et al., 1987) und beim Rhesusaffen (NORMAN und SPIES, 1986) erfolgreich ausgeführt. Die zwei Hauptprobleme für die praktischen Umsetzung sind:

- die postoperative Transplantatversorgung und
- die Verhinderung der Transplantatrejektion.

Für die Bearbeitung des Problems der postoperativen Transplantatversorgung prüften wir die Möglichkeit einer biogenen Gewebeklebung. Die herkömmliche freie OP-Technik für die Übertragung von Eierstöcken ist nur bis zu einer bestimmten Transplantatgröße möglich. Schon bei mittelgroßen Säugetieren wie z.B. beim Rhesusaffen kommt es ohne Gefäßchirurgie vor der einsetzenden Revaskularisation zum vollständigen Gewebeuntergang im transplantierten Ovar (SCOTT et al., 1981).

Der Einsatz der biogenen Gewebeklebung für die Übertragung von freien Hauttransplantaten und -lappenplastiken beim Menschen (FREY et al., 1979; RUPP, 1983; STAINDL, 1982, 1983) führte zu einer Verbesserung des OP-Ergebnisses. Die experimentellen Studien von BRANDS et al. (1984) zur Transplantation von Milzsegmenten, eingebettet in ein Fibrinogen-Thrombin-Gemisch, bei der Ratte zeigten eindrucksvoll die erhöhte Transplantatüberlebensrate auf der Grundlage einer verbesserten Revaskularisation.

Die Fibrinbildung stellt einen für die Frühphase jeder Wundheilung charakteristischen physiologischen Vorgang dar (PESCH und SCHEELE, 1984). Klinische Erfahrungen haben gezeigt, daß die Wundheilung nach Verletzung oder Operationen maßgeblich an die intakte Blutgerinnung gebunden ist. Als Ursache wird dafür die teilweise mechanische Fixierung von heilungsfördernden Substanzen in der Fibringitterstruktur bzw. direkt an den Fibrinmolekülen angenommen. Dem Fibrin selbst mit seinem gitterartigem Aufbau werden wichtige Funktionen für die Wundheilung zugewiesen. Seine spezifische Struktur dient nachweisbar als Leitschiene für einsprießenden Fibroblasten und sich bildende Kapillaren (FREY et al., 1979; STEMBERGER und BLÜMEL, 1984; KAESER und DUM, 1988).

Dies veranlaßte uns, die Technik der biogenen Gewebeklebung mit einem aus Humanplasma hergestellten Zweikomponentenfibrinkleber (ZFK) für die freie OVTR bei drei Tierarten (Maus, Hamster, Zwergziege) zu untersuchen. Sowohl der handelsübliche ZFK *Tissucol^R* (Fa. Immuno AG) als auch das von uns eingesetzte Präparat aus dem Institut für Transplantologie und Transfusiologie der Humboldt-Universität zu Berlin bestehen aus zwei Komponenten, die sich folgendermaßen zusammensetzen:

Die *Komp. I* besteht aus gepooltem, lyophilisiertem Humanplasma, das ca. 90% klottierbares Fibrinogen, ca. 5% kalteunlösliches Globulin (Fibronectin), 3% Albumin und ca. 50 I.E./ml Faktor XIII enthält (GASTPAR, 1982).

Die *Komp. II* setzt sich aus einer Kalziumchlorid oder Kalziumglukonat-Thrombinlösung zusammen (Kap. 3.1.2.).

In der Literatur liegen keine Angaben zur Applikation des ZFK für die Übertragung von Ovarien vor. Wir nutzten daher die von MATTHES (1985) erarbeitete Präparationsanleitung zur Herstellung des verwendungsfähigen Klebegemisches. Die dabei genutzte Kryokonservierung (-196°C) für eine begrenzte Zwischenlagerung der beiden vorbereiteten Kleberkomponenten, hatte keinen negativen Einfluß auf die Klebeprozedur. Es verkürzte aber wesentlich die Vorbereitungszeit und ermöglichte darüber hinaus einen sparsamen Umgang mit dem ZFK. SCHERER et al. (1984) zeigten analog mit Hilfe klinischer, physikalischer und histomorphologischer Untersuchungen, daß es keinen signifikanten Unterschied zwischen frisch aufgetautem und neu zubereitetem ZFK gab. Für die OVTR hat sich bei allen drei genannten Tierarten die klassische Applikationsform des

ZFK bewährt. Eine Weiterentwicklung, die sog. Vormischtechnik, wurde zur Erzeugung eines sehr homogenen Fibringemisches von SEELICH und REDL (1984) sowie ODAR und SCHWARZ (1988) empfohlen. Sie basiert auf der Verwendung eines Doppelspritzensystems (Duploject^R, Fa. Immuno), bei dem es im Bereich der Kanüle zur Vermischung beider Komponenten im Verhältnis von 1:1 unter hohem Druck kommt. Die separate Auftragung der beiden Kleberkomponenten (klassische Applikationsform) bot aber nach unserer Erfahrung einen wesentlichen Vorteil. Der thrombinhaltige Anteil (Komp. II) konnte vor dem eigentlichen Klebevorgang als wirkungsvolles Hämostyptikum gegen die auftretenden Stumpfbloodungen aus dem Hilus ovarii eingesetzt werden. Der operationstechnische Aufwand dieser Vorgehensweise ist wesentlich geringer, als die von SCHMIDT et al. (1976) beim Chinesischen Hamster (*Cricetulus griseus*) eingesetzte Mikrokauterisation. Auch die von SOPELAK und BUTCHER (1982) für die Ratte beschriebene Unterbindung des Hilus ovarii ist nicht ohne Schwierigkeiten auf kleinere Tierarten wie Goldhamster und Maus übertragbar. Der Einsatz von Epinephrinhydrochlorid (BAUNACK et al., 1988; BREM et al. 1990) führte zu einer sehr schnellen Blutstillung bedingt durch Gefäßkontraktion. Das dauerhafte Sistieren der Blutung ist nach eigenen Erfahrungen nicht immer gegeben (Hildebrandt, 1988). Neben der hämostyptischen Eigenschaft des ZFK war ein weiterer Vorteil die Fixierung des Ovartransplantates. Das Fibrin haftet mit physikalischen und chemischen Bindungskräften an den jeweiligen Geweben, wobei eine besondere Affinität zu Kollagenfasern besteht (SEELICH und REDL, 1984; KAESER und DUM, 1988). Die Transplantatfixierung ist eine wichtige Voraussetzung für den Erfolg der OVTR. Generell führen Irritationen im Bereich des Transplantatbettes aufgrund ungenügender Befestigung zu einer verlangsamten Gefäßinsproßung bzw. zum Totalverlust des Transplantates (BILLINGHAM und MEDAWAR, 1951; BOLZ und DIETZ, 1985; DUTZ et al., 1988). Die anatomischen Verhältnisse an der Bursa ovarica bei der Maus und beim Hamster gestatten es im Regelfall, die OVTR ohne zusätzliche Fixierungshilfen auszuführen. Aber bei einer vorgeschalteten Ovariectomie (Kap. 3.1.3., Abb. 2), kann es zur starken Beschädigung der das Ovar vollständig umschließenden Bursa ovarica kommen (IGNATEWA, 1988b). Falls Graafsche Follikel oder reife Gelbkörper sich auf den Rezipientenovarien befinden, muß der Zugang nach unseren Erfahrungen besonders groß gewählt werden. Die so eröffnete Bursa ovarica bietet dann nicht mehr die notwendige taschenartige Umfassung für das Transplantat (Kap. 3.1.3.; Abb. 2).

PARROTT (1959) gab für die OVTR beim Syrischen Goldhamster eine Transplantatverlustrate von 38% an, wobei es in 10% der Fälle beiderseits zu keiner Etablierung der übertragenen Ovarien kam. Abweichend von der Standardmethode von ROBERTSON (1940) führte PARROTT (1959) vor der eigentlichen Transplantation keine Ovariectomie aus, sondern sterilisierte die Rezipienten mit Röntgenstrahlung. Diese Methode

erbrachte nicht in jedem Fall die vollständige Inaktivierung der Eierstöcke. Sie hatte aber den Vorteil, daß man den Zugang durch die Bursa ovarica sehr klein wählen konnte.

Demgegenüber wurde in unseren Untersuchungen nach Einsatz der biogenen Gewebeklebung bei acht (35%) von 23 histologisch untersuchten Hamstern der Verlust eines Transplantates festgestellt. Bei einem Tier befand sich an beiden Adnexen kein Ovargewebe. Das Tier zeigte histologisch eine ausgeprägte Kastrationsatrophie (Tab.9 und 13). IGNATEWA (1988b) sprach von ca. 40% Transplantatverlusten für die orthotope freie OVTR mit Ovariectomie bei adulten Mäusen aufgrund der ungenügenden Fixierungsmöglichkeit in der Bursa ovarica. Das Problem trat jedoch bei juvenilen Rezipienten kaum auf. Dies ist mit ein Grund, daß für die OVTR in Zusammenhang mit der Erfassung von Fertilitätsdaten vor allem juvenile bis subadulte Tiere Verwendung finden (PARROTT, 1959; BAUNACK et al., 1988; IGNATEWA, 1988a; BREM et al., 1990). Transplantatverluste vor dem Einsetzen der Revaskularisation können durch Verwendung des Fibrinklebers unabhängig vom Alter der Rezipienten bei der Maus und dem Hamster gesenkt werden. In diesem Zusammenhang muß vielleicht auch die von PARKENING et al. (1985) beschriebene zunehmende Alterssterilität nach OVTR bei Mäusen gesehen werden. Sie kann möglicherweise allein schon durch die rein mechanisch verringerte Befestigungsmöglichkeit des Transplantates in der Bursa ovarica bedingt sein.

Die Vorversuche in Form der Ovarteilresektion beim Goldhamster haben gezeigt, daß die Manipulationen am Ovarparenchym zu einer signifikanten Verschiebung des postoperativen Einsetzens der Zyklusaktivität im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrolltieren ($2,0 \pm 1,4$ d) zur Folge hatte. Dieses Phänomen konnte beim Goldhamster sowohl bei Verwendung von ZFK ($15,8 \pm 2,8$ d; $p = 0,014$) als auch ohne ZFK ($12,3 \pm 4,8$ d; $p = 0,014$) beobachtet werden. Nach autogener und isogener OVTR beim Hamster wurde ebenfalls eine postoperative azyklische Phase von $16,9 \pm 4,7$ d; $p = 0,003$ und $22,7 \pm 6,2$ d; $p = 0,0018$ gefunden, die sich signifikant von der Kontrollgruppe unterschied. BREM et al. (1990) gaben eine mittlere Zyklusrestaurationszeit bei der Maus nach OVTR von 37,7 Tagen (Streuung 15-91d) an. Zu diesem Zeitpunkt fanden die ersten postoperativen Paarungen statt. Als Ursachen für diese doch teilweise sehr lange sexuelle Ruhephase können

- der vollständige Untergang der größeren Funktionskörper auf dem Transplantat in der perioperativen ischämischen Phase und
- die nur schrittweise einsetzende Neubildung von größeren follikulären Strukturen aufgrund der langsam beginnenden Revaskularisation des Ovargewebes angesehen werden.

Eine weitere Ursache könnten immunologische Wechselwirkungen zwischen zirkulierenden Autoantikörpern und den in der perioperativen Phase teilweise ungeschützten Oozytenantigenen auf postmeiotischen Oozyten sein (DRAEHMPAEHL, 1993).

Eine generelle Azyklie wurde bei zwei Goldhamstern nach Autotransplantation der Ovarien und bei einem Tier nach isogener OVTR gefunden. Diese Weibchen wiesen makroskopisch und histologisch eine ausgeprägte Kastrationsatrophie am Genitaltrakt auf.

In Auswertung der Fertilitätsdaten konnte zwischen den beiden OVTR-Gruppen bzw. den Teilresektionsgruppen beim Hamster kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des postoperativen Einsetzens der Zyklusaktivität ermittelt werden. Ebenfalls bestand kein signifikanter Unterschied in der Zykluslänge, der Wurfgröße und im Geschlechtsverhältnis der Nachkommen zwischen den verschiedenen Hamstergruppen. Die mittlere Wurfgröße von $4,5 \pm 1,6$ Jungen pro Wurf (Streuung: 2 bis 8) nach OVTR beim Hamster (ermittelt aus insgesamt 13 Geburten) lag in den von HOFFMANN (1961) und GRZIMEK (1988) angegebenen Bereichen von zwei bis zwölf bzw. 2-16 Nachkommen. JUNG (1962) gab die mittlere Wurfgröße für den ersten Wurf mit 4-5 Nachkommen im weiteren mit 8-10 Jungen an. Die von GRZIMEK (1988) beschriebene mittlere Wurfgröße mit 8,5 lag deutlich höher als unsere Ergebnisse. Die Ursachen können dafür sein, daß

1. die Tiere zu jung für größere Würfe waren,
2. der häufig in bei unseren Experimentaltieren registrierte, neonatale Infantizid in Zusammenhang mit Kannibalismus die wahre Wurfgröße verfälschte und/oder
3. eine verringerte Ovulationsrate in den Transplantaten auftrat.

Der Kannibalismus ist ein generelles Problem bei der Goldhamsterzucht (HOFFMANN, 1961). Die genaue Erfassung des prozentualen Anteils der gefressenen Nachkommen bzw. der Vergleich zu anderen Daten war nicht möglich. Eine Umgehung dieses Problems könnte durch die pränatale Auszählung der Fruchtanlagen erreicht werden. Die transkutane Ultraschalluntersuchung mit einem 7,5 MHz Schallkopf bietet beim Goldhamster ab dem 13. Tag p.c. gute Möglichkeiten zur nicht invasiven Erfassung der Fetenanzahl (HILDEBRANDT, 1992).

Eine Oozytenverarmung in den Ovartransplantaten wurde von mehreren Autoren beschrieben (GREEN et al., 1956; DEANSLEY, 1957; JONES und KROHN, 1960; BAUNACK et al. 1988 u.a.). Sie scheint eine Folge der unmittelbar nach der OP einsetzenden ischämischen Phase bei der freien Transplantation zu sein. JONES und KROHN (1960) gaben für 3-30 Tage alte Ovartransplantate bei der Maus Oozytenverlusten, bezogen auf intakte Ovarien, zwischen 30% und 90% an. BAUNACK et al. (1988) beschrieben in dieser Phase Ovargewebsverluste von über 50% bei der Maus. Im Rahmen der von uns durchgeführten histologischen Bewertung der Ovartransplantate erfolgte nur die qualitative Bestimmung der Follikelpopulationen. Es zeigte sich bei den Untersuchungen am Goldhamster, daß bei 29% von den 38 insgesamt nach autogener und isogener OVTR eingewachsenen Transplantaten keine Tertiärfollikel vorhanden waren.

Dagegen befanden sich in jedem Transplantat Primärfollikel. Die Tab.20 faßt die in der Literatur beschriebenen Fertilitätsdaten nach OVTR bei drei Kleinsäugetierarten im Vergleich zu den eigenen Ergebnissen bei der Maus und dem Syrischen Goldhamster zusammen.

Tab.20 Postoperative Fertilitätsdaten nach freier orthotoper OVTR bei drei Kleinsäugetierarten

Tierart	Anzahl operierter Tiere	Anzahl fertiler Tiere	Fertilitätsrate	Autor
Maus	8	4	50%	ROBERTSON, 1940
Maus	24	16	66%	STEVENS, 1955
Maus	24	14	58%	STEVENS, 1957
Maus	294	203	69%	STEVENS et al., 1957
Maus	86	40	47%	JONES und KROHN, 1960
Maus	41	23	56%	PARROTT, 1960
Maus	12	7	58%	PARKENING et al., 1985
Maus	56	33	59%	GRANHOLM und DICKENS, 1986
Maus	280	112	40%	BAUNACK et al., 1988
Maus	28	12	54%	IGNATEWA, 1988a
Maus	10	6	60%	BREM et al., 1990
Maus	7	3	43%	HILDEBRANDT, 1993
Maus*	7	5	71%	HILDEBRANDT, 1993
Goldhamster ^o	45	27	60%	PARROTT, 1959
Chinesischer Hamster	24	19	79%	SCHMIDT et al., 1976
Goldhamster*	26	14	54%	HILDEBRANDT, 1993

^o Diese Tiere wurden mittels Röntgenstrahlung teilweise nur unvollständig sterilisiert, so daß die Rezipientenovarien in "mehreren" Fällen noch fertil waren.

* Bei diesen Tieren wurde mit der biogenen Gewebeklebung gearbeitet.

Die von uns erreichte postoperative Fertilitätsrate nach Einsatz des ZFK bei der Maus ist aufgrund der geringen Tieranzahl im Vergleich zu den anderen Daten nicht überzubewerten. Sie gibt aber eine Tendenz an, die im direkten Vergleich zur Mäuse-Gruppe ohne biogene Gewebeklebung bei der OVTR noch verstärkt wird. Auch nach Ovariektomie beim Hamster erwies sich die OP-Technik mit ZFK bezogen auf die postoperative Fertilität als vorteilhaft. Es ließ sich aufgrund der Gruppengröße keine statistische Absicherung vornehmen (FISHER-Test).

Der Vergleich unserer Ergebnisse der postoperativen Fertilitätsdaten beim Syrischen Goldhamster mit den in der Literatur vorhandenen Werten ist schwierig. Unseres Wissens nach existiert nur eine Arbeit von PARROTT (1959) zur OVTR bei dieser Tierart. Sie arbeitete bei den Transplantatempfängern im Gegensatz zu unserer Studie nicht mit einer vorgeschalteten Ovariectomie, sondern nutzte die zerstörende Wirkung der Röntgenstrahlung auf die Eierstöcke. Die potentiellen Rezipienten wurden unterschiedlichen Bestrahlungsregimen ausgesetzt, die eine in situ Sterilisation der Gonaden bewirken sollten. Teilweise waren die rezipienteneigenen Eierstöcke nach der Übertragung der Fremdovarien noch zyklusaktiv (Tertiärfollikel), so daß keine eindeutige Zuordnung der Geburten zu den transplantierten Eierstöcken möglich war. Das kann mit ein Grund dafür sein, daß die von PARROTT (1959) erreichte postoperative Fertilität mit 60% so hoch lag.

SCHMIDT et al. (1976) führten sehr erfolgreich die OVTR beim Chinesischen Hamster aus. Sie erreichten mit ihrer OP-Technik bei 79% der Rezipienten eine postoperative Fertilität. Inwieweit unsere Ergebnisse mit den Fertilitätsdaten bei dieser Tierart vergleichbar sind, kann nicht eingeschätzt werden.

Die beschriebenen Schwierigkeiten hinsichtlich der Zuordnung der nach OVTR geborenen Nachkommen kann durch die Verwendung von vererbten phänotypischen Merkmalen bei Donor und Rezipient gelöst werden. Diese sog. "Genetischen Marker" bieten gute Unterscheidungsmöglichkeiten und führen zu keiner Transplantatimmunität bei den Rezipienten. Die Empfängertiere sind entweder gegenüber den spezifischen Histokompatibilitätsantigenen (H-Ag) immunologisch tolerant wie z.B. bei Transplantation auf Tiere der F₁-Hybriden (STEVENS, 1955; STEVENS et al., 1957) oder es existiert keine genetische Kopplung zwischen dem phänotypischen Merkmal und der Struktur der H-Ag (PARROTT, 1959; BREM et al. 1990).

Es kann aufgrund der Geschichte der in Menschenhand gezüchteten Syrischen Goldhamster davon ausgegangen werden kann, daß diese Goldhamsterpopulation einen den Inzuchtlinien ähnlichen Status besitzt (ADLER, 1948). Durch verschiedene Transplantationsversuche wurde diese Annahme bestätigt (ADAMS et al., 1956; PARROTT, 1959).

Im Rahmen unserer Untersuchungen zur isogenen orthotopen OVTR beim Goldhamster wurde mit zwei Farbschlägen gearbeitet. Nachteilig war bei diesen Experimenten die geringe Tieranzahl (vier Tiere) an schwarzen Goldhamstern(a) und deren unbekannter genetischer Status. Trotz dieser ungünstigen Voraussetzungen, konnte bei einem Goldhamsterweibchen(w) (Tier 9, Abb.16) nach der Übertragung von den Ovarien des schwarzen Hamsterweibchens(a) 10, die Farbaufspaltung bei den Nachkommen bedingt durch die Anpaarung mit einem sandfarbenen Hamsterbock eindeutig nachgewiesen werden. Die Arbeit mit genetischen Markern bei der OVTR bietet eine gute Möglichkeit zur Verifizierung von Fertilitätsergebnisse.

Versuche, die Ovarien von größeren Tieren als Kaninchen ohne Gefäßanschluß zu transplantieren, schlugen meist fehl. Die Ursache hierfür war die große Organmasse des Transplantates im Vergleich zur relativ kleinen Oberfläche, so daß die einfachen Diffusionsvorgänge bis zur langsam einsetzenden Revaskularisation nicht ausreichten, um die nutritive Versorgung in diesem Zeitraum zu sichern. Es kam zu zentralen Gewebenekrosen (SCOTT et al., 1981).

DEMPSTER (1954), ERASLAN et al.(1966)) und GODING et al. (1967) führten aus diesem Grund die Gefäßchirurgie in die OVTR für mittelgroße Säugetiere (Hund, Schaf) ein. Begrenzend für die freie OVTR insbesondere bei diesen Tierarten ist die Länge des Zeitraumes, in dem das Transplantat ohne Gefäßversorgung ist. BRANDS et al. (1984) konnten eine beschleunigte Gefäßeinsprossung dadurch erzielen, daß sie Milzsegmente mit Hilfe von Fibrinkleber wieder zu ihrer Organform vereinigten und dieses organoide Gebilde frei transplantierten. Zusätzlich erhöhten sie die im ZFK enthaltene Konzentration des Gerinnungsfaktors XIII je ml ZFK auf 60 I.E.. Das Fibrin und insbesondere der in ihm enthaltene Gerinnungsfaktor XIII hat wundheilungsfördernde Eigenschaften (BRANDS et al., 1984).

Das von uns verwendete Fibrinklebegemisch enthielt keine zusätzliche Anreicherung des Faktor XIII. Die Ergebnisse nach der freien OVTR bei der Zwergziege zeigten aber, daß durch den Einsatz von xenogenem ZFK auch bei mittelgroßen Säugetieren die Möglichkeit besteht, die Ovarien erfolgreich frei zu übertragen. Bei sieben der zehn transplantierten Eierstöcke ist es zur Einheilung gekommen (Tab.11). In sechs der Transplantate waren histologisch Oozyten nachweisbar (Abb.17). Tertiärfollikel befanden sich in vier der Transplantate (Abb.18). In den erfolgreich etablierten Ovarien liefen die Prozesse der Follikulogenese und der Hormonproduktion bis zu 170 Tage nach der OVTR ab.

Eine Ausnahme bildete die Zwergziege 1, da bei ihr beide autogen übertragenen Ovarien nekrotisch waren (Tab.11). Bei diesem zuerst operierten Tier befanden sich zum Zeitpunkt der Übertragung auf beiden Ovarien je ein reifes Corpus luteum. Das Alter bzw. der jeweilige Funktionszustand der Ovarien scheint bei der freien Transplantation einen Einfluß auf den Umfang der postoperativen Transplantatveränderungen zu haben (WELSCHEN, 1971). Die Eierstöcke bei der Zwergziege, welche in hohem Maße stoffwechselaktiv zum Zeitpunkt der Übertragung waren (charakterisiert durch das Vorhandensein von reifen Corpora lutea oder Graafschen Follikeln), wiesen nach der freien Autotransplantation umfangreichere Nekrosen bzw. vollständige Gewebeeinschmelzungen auf (Tab.10 und 11). Die negativen Folgen der unmittelbar nach der OP einsetzenden ischämischen Phase konnten

- mit Einsatz des ZFK und
- durch die Entfernung der großen Funktionskörper aus den Ovarparenchym gesenkt werden.

Antrale Follikel wie auch Gelbkörper sind sehr eng mit der vaskulären Versorgung verbunden (DRAEHMPAEHL, 1993), so daß sie nicht in der Lage sind, auch nur kurze ischämische Phasen zu überdauern. Der Zelltod in den großen Funktionskörpern führte möglicherweise zur Freisetzung von toxischen Substanzen, die dann den vollständigen Transplantatuntergang zur Folge hatten.

Die von MARCZELL et al. (1979) aufgezeigten Probleme der biogenen Gewebeklebung wie

- A. mögliche Übertragung von infektiösen Agenzien, insbesondere von Viren,
- B. immunologische Gegenreaktionen auf das Fibrin und
- C. die Gefahr der Adhäsionsbildung in der Abdominalchirurgie

treffen nur bedingt beim Einsatz am Tier zu.

Zu [A] KESSLER et al. (1984) leiteten aus ihren Experimenten ab, daß Fragen der Infektionsgefahr bei Verwendung von xenogenem ZFK kaum eine Rolle spielen. Wir fanden bei keinem der operierten Tiere Anzeichen einer Erkrankung, die durch den Einsatz des xenogenen Fibrinklebers bedingt waren.

Zu [B] Es konnte auch in keinem Fall bei den von uns untersuchten Transplantaten eine immunologische Gegenreaktion auf den xenogenen ZFK (human) festgestellt werden. Analog dazu fanden KLEINSCHMIDT und BRÜCKNER (1984) keine Hinweise auf eine nachteilig beeinflusste Wundheilung beim Kaninchen nach Verwendung von xenogenem ZFK aus Schweine- bzw. Hundeplasma. KESSLER et al. (1984) konnten nach Erstapplikation von humanem ZFK bei Hunden keinen Titer von zirkulierenden Antikörpern im Plasma der Tiere feststellen. Doch warnen die Autoren vor dem Einsatz von xenogenem ZFK beim Menschen, da es nach Zweitanwendung zu einer ausgeprägten allergischen Reaktion kommen kann. Interessant in diesem Zusammenhang sind die Untersuchungen von PESCH und SCHEELE (1984) zur Struktur des Fibrins bei Hund und Kaninchen. Der Hund besitzt ein dem Menschen ähnliches Fibrin von feinnetziger Gitterstruktur, das schon am 4. Tag der Wundheilung eine deutliche Kapillareinsprossung zeigt. Dagegen ist das Fibrin des Kaninchens wesentlich kompakter und grobschollig bis bandförmig strukturiert. Nach 5 Tagen finden sich im Wundgebiet bei dieser Tierart vor allem neutrophile Granulozyten und vereinzelt Makrophagen. Im Einzelfall müßte bei den verschiedenen Tierarten entschieden werden, inwieweit xenogener Fibrinkleber (human) einsetzbar ist bzw. die Herstellung einer homologen Klebpräparation angezeigt wäre. Die Herstellung eines artspezifischen Fibrinklebers ist mit einem hohen zeitlichen und finanziellen Aufwand verbunden, aber prinzipiell durchaus bei Vorhandensein von ausreichenden Blutmengen realisierbar (MATTHES, 1987).

ZU [C] Die dritte von MARCZELL et al. (1979) angesprochene Problematik der erhöhten Adhäsionsbildung, ist unserer Meinung nach für die OVTR am bedeutungsvollsten. In Auswertung der Experimente zeigte sich, daß nach Ovarteilresektion beim Hamster zwei Tiere und nach autogener bzw. isogener OVTR 5 Tiere großflächige Verklebungen im Adnexenbereich aufwiesen. Die Veränderungen standen in enger Beziehung zur postoperativen Sterilität. Fünf (71%) dieser Tiere gebaren keine Jungen nach der OVTR. Der mittlere Anteil an sterilen Hamsterweibchen war mit 43% (13 Tiere) von insgesamt 30 mit ZFK behandelten Tieren deutlich niedriger. Statistisch ließ sich diese Aussage jedoch nicht sichern (FISHER-Test).

Der Anteil an pathomorphologischen Veränderungen an den Adnexen bei der Zwergziege wie Verklebungen, Hydrosalpinx, Gelbkörper- und Follikelzysten war ebenfalls erhöht. Möglicherweise kam es aufgrund des intraoperativen Einsatzes von größeren Mengen an ZFK (ca. 1,5ml) in diesem Bereich zu den Adhäsionen. Bei 2 Tieren waren die Harnblasen mit einbezogen. Der Eileiter war teilweise in die Verklebungen integriert und an 40% (4) der untersuchten Adnexen hydropisch verändert. In diesen Fällen war auch der Keimzelltransport via naturalis gestört. Ein ähnliches pathomorphologisches Bild beschrieben bei der Maus JONES und KROHN (1960) und für den Goldhamster PARROTT (1959). Inwieweit der erhöhte Anteil von Follikel- und Gelbkörperzysten auf 75% der Ovartransplantaten bei der Zwergziege mit der Anwendung des ZFK in Beziehung stand, kann mit den bisherigen Erkenntnissen noch nicht beantwortet werden. Dazu wären Experimente mit einer höheren Probandenzahl angezeigt.

Ein zweites Problem für die praktische Umsetzung der allogenen OVTR ist die immunologische Reaktion des Rezipienten auf das übertragene Fremdovargewebe. Für die Experimente zur Erprobung des ZFK wurde die immunologische Problematik durch die Arbeit im autogenen bzw. isogenen System umgangen. Im zweiten experimentellen Teil wurde nach einer möglichen Lösungsvariante zur Umgehung der immunologischen Abstoßungsreaktion gesucht. Die Transplantatrejektion kann mit Hilfe unterschiedlicher Verfahren beeinflusst bzw. überwunden werden (Kap.2.2.2.) Die fetale Toleranzinduktion von BILLINGHAM et al. (1953) erstmals experimentell bei der Maus erprobt, erschien uns speziell für die Entwicklung eines Modells zur allogenen OVTR (Abb.26) die geeignete Methode. Auf andere, teilweise sehr kosten- und arbeitsintensive Verfahren, wie z.B. die Immunsuppression wird in der Diskussion nicht eingegangen.

Entscheidend für den Erfolg der experimentellen Erzeugung einer Immuntoleranz sind

- *das verwendete Antigen,*
- *die Art der Applikation und*
- *der Zeitpunkt der Induktion bezogen auf den Ontogeneseabschnitt des Rezipienten.*

Voraussetzung für die Ausbildung einer Immuntoleranz ist die Etablierung von körperfremden Antigenen im Rezipienten vor der Ausbildung seines spezifischen Immunsystems. Eine dauerhafte Gewebetoleranzerscheinung findet sich bei Zellchimären. Sie können auf natürliche Weise durch Plazentaanastomosen entstehen (OWEN, 1945) oder experimentell prä- oder postimplantativ erzeugt werden (BILLINGHAM et al., 1953; BÜRKI, 1986). Eine andere Form der Toleranzinduktion, die durch die postnatale Übertragung von spezifischen T-Lymphozyten (Suppressorzellen) induziert werden kann, wurde von HASEK et al. (1980) beschrieben. Sie ist für den Einsatz bei der allogenen OVTR nicht praktikabel. Eine mögliche Vererbung der einmal erworbenen immunologischen Toleranz auf die Nachkommen konnte durch die Ergebnisse der Arbeit von BRENT et al. (1982) ausgeschlossen werden.

Wichtig für die erfolgreiche experimentelle Induktion einer Transplantattoleranz ist die Verweildauer der antigenen Strukturen im Rezipienten. Wenn diese nur kurze Zeit im Organismus verbleiben, kommt es im Laufe der Zeit wieder zum Verlust der erworbenen Toleranz (WJASOW und BARABANOW, 1978). Wir wählten daher in Anlehnung an die natürliche Chimärenbildung beim Rind und Schaf (OWEN, 1945; SLEE, 1963; DAIN, 1971) hämatopoetische Stammzellen für die experimentelle Toleranzinduktion. Diese Zellen sind pluripotent, können andere Organe besiedeln und erneuern sich durch Bildung weiterer Stammzellen selbst (ROITT, 1988). Die hämatopoetischen Stammzellen befinden sich beim adulten Individuum in den Hohlräumen der Substantia spongiosa. Sie sind Bestandteil der Medulla ossium rubra, dem Organ für die Blutzellenbildung (KOCH und BERG, 1992). Die in der Literatur beschriebenen Methoden zur chirurgischen Knochenmarkgewinnung in Form einer Markaspiration (THOMAS und STORB, 1970; DICKE et al., 1978; WELLS et al., 1979; GRINDEM, 1989) führten bei der Afrikanischen Zwergziege zu keinem Erfolg. Wir modifizierten daher die Methode (Kap.3.1.5.) entsprechend den spezifischen Bedingungen von adulten Zwergziegen (Masse 13,8kg bis 45,6kg). Sie basiert auf einer Markraumspülung über 2-3 Zugänge der freigelegten Substantia spongiosa im Bereich des Tuber coxae. Die Wundheilung nach der Knochenmarkentnahme verlief bei allen 16 Zwergziegen mit einer Restitutio ad integrum. Ein ähnliches Verfahren zur Knochenmarkgewinnung am lebenden Tier ist uns aus der Literatur nicht bekannt. Es wurde mit dieser Technik eine mittlere Gesamtzellzahl von $0,89 \pm 0,1 \times 10^8$ kernhaltigen Zellen je Spülung nach der Zellseparation (Zweistufen-Dichtegradientenzentrifugation) gewonnen. Diese Menge reichte aus, um bis zu 4 Fruchtanlagen mit der von ZANJANI et al. (1982) und FLAKE et al. (1986) angegebenen Zellzahlen je kg KM (Schaffetus) zu beimpfen (Tab.21). Es wurde für die Berechnung eine geschätzte Fetalmasse von 40g bis 200g (SSL 42mm bis 135mm) bei der Zwergziege zu Grunde gelegt (Tab.21).

Zur Verhinderung der GVHR nach fetaler Beimpfung muß der Anteil an peripheren Lymphozyten in der Impfdosis so gering wie möglich gehalten werden (FLAKE et al., 1986; MARTIN et al., 1987; STORB, 1989). Die von uns eingesetzte Zweistufen-Dichtegradientenzentrifugation mit Ficoll Paque (Fa. Pharmacia) und Percoll (Fa. Pharmacia) ist eine einfache mechanische Zelltrennmethode. Sie beruht auf dem Dichteunterschied zwischen hämatopoetischen Stammzellen und den etwas schwereren Lymphozyten (DICKE et al., 1978). Die Durchführung erforderte viel Zeit und häufiges Umfüllen der Knochenmarkszellsuspension. Es konnte trotz der Arbeit in einem Sterillaboratorium eine Keimkontamination der Proben nicht vollständig ausgeschlossen werden. Es traten nach der Beimpfung innerhalb von 2-4 Tage p.op. bei drei beimpften Mutterziegen Aborte auf. Diese wurden mit Sicherheit nicht durch die immunologische Wechselwirkung zwischen Fetus und Fremdzellmaterial verursacht, da diese Prozesse mehr Zeit bedürfen (Kap.2.2.1.) Es wurde daher auf eine mikrobielle Verunreinigung der verimpften Zellsuspensionen geschlossen. FLAKE et al. (1986) gab nach fetaler Beimpfung von 8 Mutterschafen eine Abortrate im perioperativen Zeitraum von 50% an.

Im Resultat der Zellaufbereitung kam es zu einer mittleren Stammzellenanreicherung in der Zellsuspension von 51% ($0,45 \pm 0,4 \times 10^8$ Zellen). Das Trennergebnis entsprach damit den von BARKER und McFARLAND (1983) mit dieser Methode bei der Maus ermittelten Werten.

Andere Verfahren wie die Bestrahlung von Knochenmarkproben mit speziellem ultravioletten Licht (DEEG et al., 1989; CHABOT et al., 1990) oder die Arbeit mit einer Counterflow-Zentrifuge (DE WITTE et al., 1984) ermöglichten nach den Angaben der Autoren eine höhere Anreicherung an hämatopoetischen Stammzellen. Dieses Methodenspektrum stand im Rahmen der durchgeführten Experimente nicht zur Verfügung. Die immunologische Reinigung von Stammzellsuspensionen mit Hilfe spezifischer zytotoxischer Antikörper gegen die peripheren Lymphozyten ist in der Humanmedizin ein weiteres, erfolgreich eingesetztes Trennverfahren. Es führt zur hundertprozentigen Deletion der peripheren Lymphozyten bei vom Menschen gewonnenen Knochenmarksuspensionen (SERKE, 1990). Eine Übertragung dieser Methode auf caprines Knochenmark wurde in einem separaten Versuchsansatz in Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik "Rudolph Virchow" Berlin getestet. Es kam aber zu keiner Interaktion zwischen Lymphozyten und Antikörpern aufgrund fehlender Antigenverwandtschaft.

Die Bereitstellung einer lymphozytenfreien, sterilen Stammzellsuspension des allogenen Donors stellt nach unseren Erfahrungen bei der Afrikanischen Zwergziege mit ein Hauptproblem für die erfolgreiche fetale Toleranzinduktion dar. Aus diesem Grund sollte nach Alternativen gesucht werden. Es wäre in diesem Zusammenhang zu prüfen, inwieweit Zellpräparationen aus der Nachgeburt für diesen Zweck genutzt werden können. Die Nachgeburt ließe sich auch von den wertvollsten Zoo- und Nutztieren ohne Risiko zum

Zeitpunkt der Geburt oder später, bei ausgetragenen Graviditäten gewinnen und die aufbereiteten Zellen für Toleranzinduktionsversuche kryokonservieren.

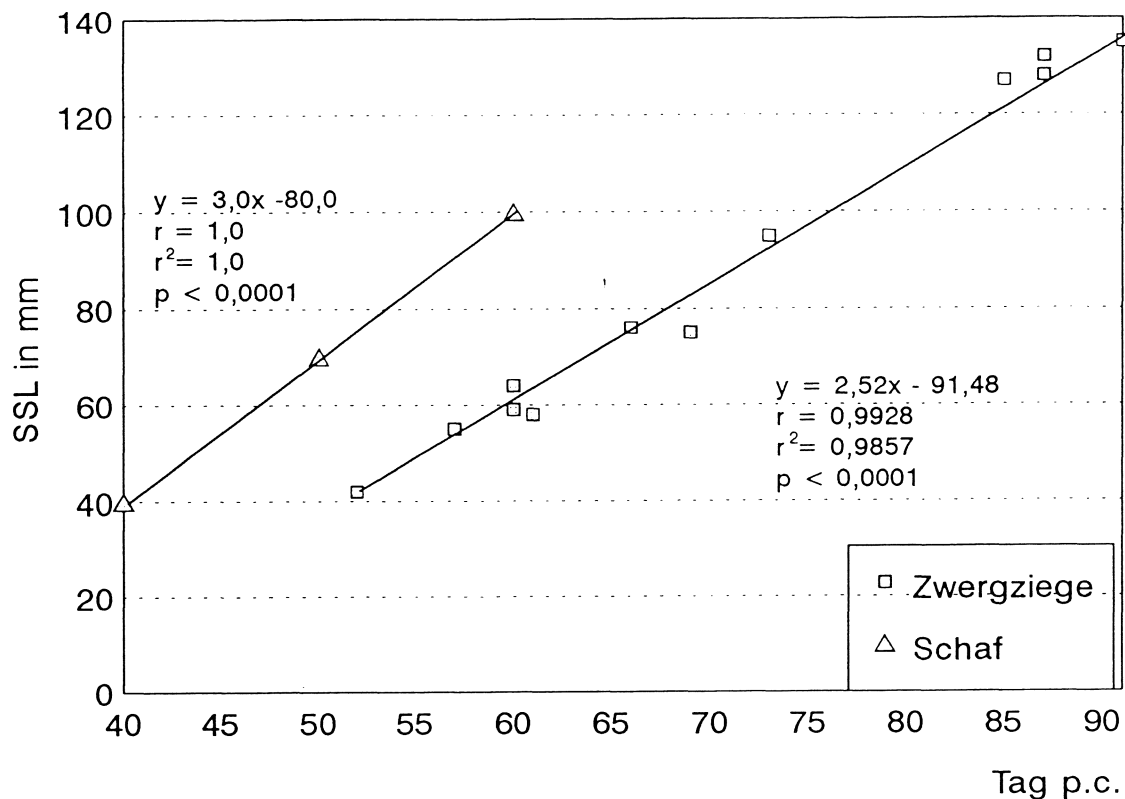
Es existieren unterschiedliche Möglichkeiten für das methodische Vorgehen bei der Applikation des allogenen (xenogenen) Zellmaterials in den Rezipienten. Für die fetale Beimpfung beim Schaf wurde von MOORE und ROWSON (1961), ZAJANI et al. (1982) und FLAKE et al. (1986) eine Laparotomie beim trächtigen Muttertier vorgenommen. Die Fruchtanlage wurde entweder blind durch den Uterus (MOORE und ROWSON, 1961) oder nach Freilegung der Fruchthüllen unter visueller Kontrolle beimpft (FLAKE et al., 1986). ZAJANI et al. (1982) gingen methodisch ähnlich vor, injizierten aber die Stammzellsuspension intravenös in die fetale V. femoralis.

Wir setzten die ultraschallgestützte Punktionstechnik für die fetale Beimpfung ein, um das operative Risiko für das Muttertier und den Fetus zu senken. GLOBUS et al. (1984) sowie SIMPSON und GLOBUS (1985) beschrieben diese minimal invasive Methode zur Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen für mögliche Fetalbehandlungen beim Menschen. Sie gestattet die exakte Deponierung von Zellmaterial unter sonographischer Kontrolle in der Fruchtanlage. Die Anwendung der fetoskopischen Zweikanaltechnik (LÖFBERG und GUSTAVII, 1982) schied aus Gründen der Handhabung und der praktischen Erfahrung von BOLLMANN (1989) als Alternativvariante aus.

Die der eigentlichen Beimpfungsprozedur vorgeschaltete transkutane Ultraschalluntersuchung mit einem 5 MHz-Schallkopf ermöglichte die Kontrolle des Trächtigkeitsstatus. 4 Tiere erwiesen sich danach als nicht trächtig und wurden vom Versuch ausgeschlossen. Auf der Grundlage der bekannten Deckdaten konnten die im Zeitraum vom 52.-91. Tag p.c. in unregelmäßigen Abständen gemessenen SSL in einer Regressionsanalyse den entsprechenden Graviditätszeitpunkten zugeordnet werden ($y = 2,52x - 91,48$; $r = 0,993$). Ab dem 85. Trächtigkeitstag wurde die SSL bei den Feten fraktioniert gemessen, da die Abbildungsgröße des Schallkopfes für eine Gesamtdarstellung nicht ausreichte. KÄHN (1991) gab für Schaffeten um den 40. Tag p.c. eine SSL von etwa 4cm und um den 50. Tag p.c. 7cm an. Um den 60. Tag p.c. wiesen die Schaffeten nach KÄHN (1991) eine SSL im Bereich von 10cm auf. Die Abb.25 zeigt eine Gegenüberstellung der bei Schaf und Zwergziege ermittelten SSL. Es zeigt sich beim Vergleich beider Regressionsgeraden, daß der Anstieg etwa übereinstimmt. Dagegen sind die absoluten Werte beim Schaf höher. KÄHN (1991) machte keine Aussage dazu, ob es sich um uni- oder multipare Muttertiere handelte.

Durch die ultraschallgestützte Beimpfungstechnik konnten nach unserer Meinung eine zusätzliche mechanische Traumatisierung der Fruchtanlage minimiert und Probleme der postoperativen Wundheilung beim Muttertier ausgeschlossen werden. Die im Anschluß durchgeführte sonographische Kontrolluntersuchung lieferte in keinem Fall den Beweis für

Abb.25 Scheitel-Steiß-Länge von Schaf- und Zwergziegenfeten in Abhängigkeit zum Trächtigkeitszeitpunkt



eine erhebliche Traumatisierung der Fruchtanlage. In der Humanmedizin gehört die ultraschallgestützte Amniozentese zur Routinediagnostik für die Abklärung von fetalen Wachstumsstörungen. Die Komplikationsrate liegt aufgrund dessen heute unter 1% (Bollmann, 1989). Dagegen gab KÄHN (1992a, b) in Auswertung der Literatur und eigener Arbeiten nach diagnostischer Fruchtwasserentnahme unter sonographischer Kontrolle für Pferd und Rind eine fetale Absterberate von ungefähr 80% an. Einige Daten aus den in der Literatur gefundenen Arbeiten zur Erzeugung von Blutzellchimären beim Schaf im Vergleich zu unseren eigenen Ergebnissen bei der Zwergziege sind in Tab.21 aufgeführt. Wir führen den hohen Anteil an Fruchtresorptionen (Tab.16) bei unseren Versuchen von insgesamt 59% der Gesamtanzahl der Feten vor allem auf die Ausbildung einer GVHR zurück. Die GVHR steht in unmittelbarer Beziehung zum Reinheitsgrad der übertragenen hämatopoetischen Stammzellen. Die nicht vollständige Entfernung von peripheren Lymphozyten aus dem Knochenmarktransplantat ist mit einem großen Risiko für den immuninkompetenten Rezipienten verbunden (MARTIN et al., 1987).

WAGEMAKER et al. (1981) gaben als Voraussetzung für die erfolgreiche allogene Übertragung von Knochenmarkszellen ein Gleichgewicht zwischen der Immunreaktivität des Transplantates (GVHR) und der Immunreaktivität des Rezipienten (HVGR) an.

Tab.21 Vergleich der Beimpfungsergebnisse bei verschiedenen Tierarten

Tierart	Alter der beimpften Feten (d p.c.)	Verwendetes Zellmaterial	Verimpfte ⁺ Zellmengen	Anzahl beimpfter Muttertiere	Anzahl beimpfter Feten	Anzahl Geburten nach Beimpfung	Anzahl der Nach- kommen	Anzahl toleranter Nach- kommen	Autoren
Schaf	85 - 105	HS* (adult)	4x10 ⁸ /kg KM	11	11	5 (45%)	5 (45%)	3 (27%) ⁺⁺	ZANJANI et al. 1982
Schaf	45 - 65	HS (fetal)	2-5x10 ⁸ /kg KM	8	8	4 (50%)	4 (50%)	3 (38%)	FLAKE et al. 1986
Pavian	118 - 125	HS° (fetal)	5-7x10 ⁷ /kg KM	3	3	2 (60%)	2 (60%)	2 (60%)	MICHEJDA et al. 1992
Zwergziege	52 - 91	HS (adult)	1-7x10 ⁸ /kg KM	12	27	3 (25%)	4 (15%)	1 (4%)	HILDEBRANDT 1993

+ Die Angaben beruhen auf Schätzungen der Autoren, da zwar Zellkonzentrationen je ml bestimmbar sind, aber die Massen der beimpften Feten nur näherungsweise aus Vergleichswerten vorliegen.

++ Diese Tiere verstarben kurz nach der Geburt an einer GVHR.

* HS = hämatopoetische Stammzellen

° HS = hämatopoetische Stammzellen von xenogenem Donor (Rhesusaffe)

Nach der Übertragung von unbehandeltem, allogenen Knochenmark auf immunsupprimierte Rhesusaffen kam es innerhalb von 13 Tagen bei allen 11 Tieren zur Ausbildung einer tödlichen GVHR. Die Tiere, denen hoch gereinigte hämatopoetische Stammzellen transplantiert wurden, hatten in Zusammenhang mit einer keimfreien Haltung eine Überlebensrate von 89%. STORB (1989) gab für Patienten nach Knochenmarkstransplantation, bei denen es zur Ausbildung einer GVHR kommt, eine mittlere Überlebensrate von 42% an. Im Normalfall liegt diese bei 82%. Die angeführten Daten zeigen deutlich, wie entscheidend für eine erfolgreiche Langzeitetablierung von allogenen Stammzellen im Rezipienten die vollständige Entfernung immunkompetenter Lymphozyten aus dem Transplantat ist.

Bemerkenswert war der Anteil an Mehrlingsgraviditäten bei den zwölf sonographisch untersuchten Muttertieren im Vergleich zu den von SEIFERT et al. (1991a) erhobenen Reproduktionswerten bei Zwergziegen. Die Tab.22 zeigt die Gegenüberstellung der Daten.

Tab.22 Vergleich der Reproduktionsleistung in einer Normalpopulation von Afrikanischen Zwergziegen mit den bei 12 Muttertieren sonographisch erhobenen Trächtigkeitsbefunden aus dem gleichen Bestand

	Reproduktionsdaten (SEIFERT et al. 1991a)	Sonographische Befunde (Hildebrandt 1993)
Anzahl der untersuchten Muttertiere	403	12
mittlere Anzahl der geworfenen Lämmer bzw. detektierten Feten	1,92	2,25
Anteil an Einlingsgeburten bzw. -graviditäten	24,6%	8%
Anteil an Zwillingsgeburten bzw. -graviditäten	60,1%	67%
Anteil an Drillingsgeburten bzw. -graviditäten	14,6%	17%
Anteil an Vierlingsgeburten bzw. -graviditäten	0,7%	8%

Obwohl die untersuchte Tieranzahl klein war, fällt der erhöhte Anteil an Drillings- und Vierlingsgraviditäten zur Normalpopulation auf. Eine Erklärung wäre die sonographische Fehlbestimmung der Fetenanzahl. Sie konnte aber aufgrund der Beimpfungstechnik mit teilweiser Verwendung von einem Biofarbstoff (Indigokarmin) ausgeschlossen werden. KÄHN (1991) gab als Ursache für eine geringe Fehlerquote bei der positiven Trächtigkeitsdiagnose beim Schaf die embryonale Mortalität an. Der von uns untersuchte

Zeitraum (52.-91.Tag p.c.) umfaßt die frühe Fetalentwicklung. Inwieweit in diesem Gestationsabschnitt noch physiologische Fruchtresorptionen bei der Afrikanischen Zwergziege stattfinden, sollte durch weitere Arbeiten geklärt werden.

Die Wahl des Zeitpunktes der Toleranzinduktion bezogen auf den Ontogeneseabschnitt des Rezipienten steht in direkter Beziehung zur Ausbildung des Immunsystems. Die Immunogenese ist bei den einzelnen Spezies unterschiedlich im Verlauf der Ontogenese angesiedelt (SILVERSTEIN et al., 1963b). VON FELLEBERG (1978) teilte die bisher untersuchten Arten hinsichtlich ihrer Immunkompetenz in *immunologisch frühreife Spezies* wie Schaf, Rind, Schwein und Mensch sowie in *immunologisch unreife Spezies* wie Kaninchen, Ratte, Maus, Meerschweinchen, Opossum und Huhn ein. Eine Zwischenstellung nimmt in diesem System der Hund ein. Die Arbeit von OSBURN (1981) zur Ontogenese des Immunsystems bei Ruminantia zeigt generelle Gemeinsamkeiten in der Entwicklung und Funktionsweise bei dieser Tiergruppe. Es kann davon abgeleitet werden, daß bei der Spezies Afrikanische Zwergziege (*Capra aegagrus f. domestica*) die Prägung der Lymphozyten auf die körpereigenen H-Ag am Ende der Trächtigkeit abgeschlossen ist.

SILVERSTEIN und PRENDERGAST (1970) untersuchten experimentell die Fähigkeit zur Hauttransplantatrejektion bei Schaffeten. Die Autoren zeigten, daß allogenenes Gewebe von Feten bis zum 67 Tag p.c. toleriert, und nach dem 77 Tag p.c. abgestoßen wird. Analog dazu beschrieben FLAKE et al. (1986), daß fetale Beimpfungen nach dem 67. Tag p.c. beim Schaf aufgrund der Reife des Immunsystems nicht zur Ausbildung einer stabilen Immuntoleranz führten. Entsprechende Daten über den zeitlichen Verlauf der fetalen Entwicklung des Immunsystems bei der Afrikanische Zwergziege liegen bisher nicht vor. Wir wählten aus diesem Grund für die Versuchsserie zur Toleranzinduktion unterschiedliche Gestationsstadien zwischen dem 52. und 91. Tag p.c..

Nach der intrauterinen Beimpfung von 12 Muttertieren mit insgesamt 27 Feten wurden vier Jungtiere von 3 Zwergziegen geboren (Tab.21). Die Graviditätsdauer, Geburtsmassen sowie die postnatalen Körpermassezunahmen der vier nach Beimpfung geborenen Zwergziegen wiesen keine feststellbaren Abweichungen zu den von SEIFERT et al. (1991a,b) bei der Zuchtpopulation ermittelten Normwerten auf. Dagegen war das Geschlechtsverhältnis vollständig zugunsten der männlichen Seite verschoben. Ein möglicher Zusammenhang zwischen diesem Phänomen und der Beimpfung wird nicht angenommen.

Bei dem am 57.Tag p.c. beimpften Fetus (2a) der Afrikanischen Zwergziege wurde postnatal die beabsichtigte Induktion der donorspezifischen Immuntoleranz anhand des allogenen Hauttransplantationstests zweifelsfrei nachgewiesen. Bei den drei weiteren Ziegenfeten (10a,10b,11a), die am 91. Tag p.c. beimpft wurden, ergab der postnatal durchgeführte Hauttransplantationstest keinen Hinweis auf eine Induktion der

Immuntoleranz (Tab.18). Der Hauttransplantationstest von ANDERSON et al. (1951) für die frühzeitige Feststellung von Zwicken als immunologisches Testverfahren eingeführt, lieferte eindeutige Ergebnisse zum immunologischen Status der vier untersuchten Ziegenlämmer. Die von uns verwendete freie Vollhauttransplantation (BILLINGHAM und MEDAWAR, 1951) war wenig für die Boxenhaltung mit Muttertier geeignet. Die Transplantatnachsorge erwies sich als schwierig. Wir konnten bis zwei Drittel der übertragenden Hautstücken nicht mit in die Auswertung einbeziehen, da sie schon innerhalb von 3 Tagen p.op. aus dem Transplantatbett meist vom Muttertier herausgelöst worden waren. Die immunologische Abstoßungsreaktion benötigt auch bei Zweitkontakt mindestens 3-4 Tage (ROITT, 1988) zur Transplantatrejektion. Die verbliebenen autogenen und allogenen Transplantate ließen aber noch eindeutige Aussagen über die immunologische Situation zu.

Die Ergebnisse der Beimpfung weisen auf einen Beginn der fetalen Immunogenese mit Ausbildung der Transplantatimmunität nach dem 57.Tag p.c. und dem Abschluß vor dem 91.Tag p.c. hin. Eine nähere zeitliche Bestimmung dieses Prozesses wäre [1.] im Rahmen der umfassenden Kennwertforschung der agrarwissenschaftlichen und biomedizinischen Modelltierart Afrikanische Zwergziege von Bedeutung und [2.] bieten Basisinformationen über das fetale Immunsystem dieser landwirtschaftlich genutzten Tierart eine bessere Grundlage für die Erforschung der Pathogenese kongenitaler Infektionen, von Abortursachen sowie von neonatalen Infektionen und Erkrankungen. Bemerkenswert ist, daß die Afrikanische Zwergziege ähnlich wie Schaf und Rind als Vertreter der Ruminantia zu den immunologisch frühreifen Tierarten gezählt werden muß.

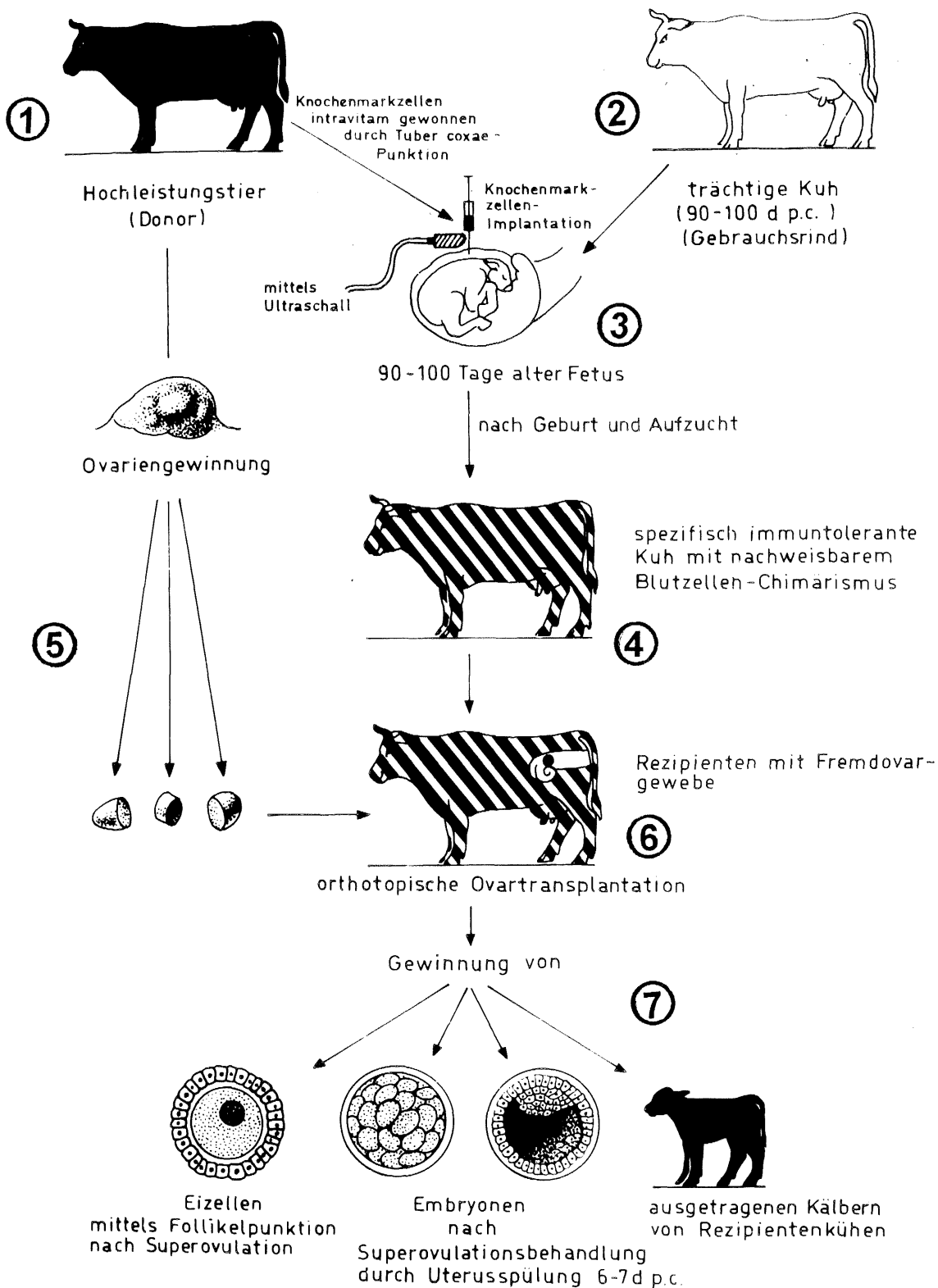
In den donorspezifisch immuntoleranten Ziegenbock (2a) wurde nach der Kastration im Alter von 71 Tagen p.p. ektop in den M. rectus abdominis Ovargewebe des entsprechenden Knochenmarkdonors übertragen. In identischer Weise wurde die Gruppe von drei Ziegenlämmern (10a,10b,11a) behandelt, die gegenüber ihren Knochenmarkdonoren im Hauttransplantationstest nicht immuntolerant waren. Sie erhielten die Ovarteilstücke im Alter von 57 Tagen und 60 Tagen übertragen. Das Schicksal der Transplantate wurde 50 Tage post transplantationem histologisch untersucht. Im Falle des einen immuntoleranten Rezipienten fanden sich im akzeptierten ektopen Transplantat in ungeordnetes Ovarstroma eingebettete Primärfollikel (Abb.22 und 23). Größere Funktionskörper waren erwartungsgemäß im Transplantat nicht enthalten. Die hypothalamohypophysäre gonadale Achse (Kap.2.3.1.4.) war bei diesem Tier noch nicht ausgebildet bzw. durch die vorgeschobene Kastration irreversibel gestört. Bei den drei nicht toleranten Rezipienten wurde am Transplantationsort eine vollständige Gewebeeinschmelzung mit Verkalkungsherden und peripheren Lymphozytenaggregationen histologisch nachgewiesen (Abb.24). Diese Ergebnisse zeigen, daß die allogene OVTR nach fetaler

Immuntoleranzinduktion bei einer mittelgroßen Säugetierart (Zwergziege) möglich ist. Demgegenüber führte die Transplantation von Ovargewebe in nicht tolerante Rezipienten zur Ausbildung einer Transplantatimmunität. Sie hatte den schnellen Gewebsuntergang der Transplantate zur Folge, welches sich in den vorhandenen Verkalkungsherden widerspiegelte.

Auf der Grundlage der diskutierten Ergebnisse und den Erkenntnissen anderer Autoren möchten wir abschließend ein Modell für zukünftige allogene und vielleicht auch xenogene Ovartransplantationen bei größeren Säugetieren in Form einer schematischen Darstellung vorstellen. Auf der Zeichnung sind im konkreten Fall rinderartige Tiere abgebildet, die aber durch jede andere Tierart(en) ausgetauscht werden können.

- ① Auswahl eines ökonomisch oder ethisch wertvollen Donortieres. Gewinnung von Knochenmarkzellen oder anderen Gewebematerialien, die geeignet sind, eine Immuntoleranz zu induzieren.
- ② Auswahl eines allogenen oder xenogenen Muttertieres mit einer entsprechenden Frühgravidität (Mutter des Rezipienten).
- ③ Ultraschallgestützte Beimpfung des immuninkompetenten Fetus mit einer allogenen oder xenogenen, lymphozytenfreien Stammzellsuspension.
- ④ Geburt eines donorspezifisch immuntoleranten Rezipienten mit nachweisbarem Zellchimärismus (Hauttransplantationstest).
- ⑤ Postmortale Gewinnung und Aufbereitung der Ovarien des wertvollen Donortieres.
- ⑥ Orthotope freie Transplantation des Ovargewebes mit Hilfe der biogenen Gewebeklebung in den vorher kastrierten Rezipienten.
- ⑦ Die postmortale Nutzung des donorspezifischen Keimzellpotentials durch die Gewinnung von:
 - a. Präovulatorischen Eizellen aus Tertiärfollikeln nach Superovulation für die in vitro Reifung und Befruchtung.
 - b. Embryonen nach Superovulationsbehandlung mit Hilfe der Uterusspülung.
 - c. ausgetragene Nachkommen.

OVARTRANSPLANTATION



5. Schlußfolgerungen

Die beidseitige Ovarresection beim Goldhamster führte sowohl bei Verwendung von ZFK ($15,8 \pm 2,8$ d; $p = 0,014$) als auch ohne ZFK ($12,3 \pm 4,8$ d; $p = 0,014$) zu einer signifikanten Verschiebung des postoperativen Einsetzens der Sexualzyklusaktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe ($2,0 \pm 1,4$ d). Nach autogener und isogener OVTR beim Hamster konnte ebenfalls eine postoperative azyklische Phase von $16,9 \pm 4,7$ d; $p = 0,003$ und $22,7 \pm 6,2$ d; $p = 0,0018$ beobachtet werden, die sich signifikant von der Kontrollgruppe unterschied. Eine generelle Azyklie trat bei 2 Tieren nach Autotransplantation der Ovarien und bei einem Tier nach isogener OVTR auf. Diese Hamsterweibchen wiesen makroskopisch und histologisch eine Kastrationsatrophie am Genitaltrakt auf. Signifikante Unterschiede in der Zykluslänge, der Wurfgröße und im Geschlechtsverhältnis der Nachkommen zwischen den verschiedenen Hamstergruppen konnten nicht nachgewiesen werden. Die Verwendung von ZFK erleichterte wesentlich das operationstechnische Vorgehen, insbesondere bei der intraoperativen Blutstillung und der Transplantatfixierung. Es hat sich dabei die "klassische" Applikation der beiden Kleberkomponenten bewährt. Der in der Tendenz günstige Einfluß des Gewebeklebers auf die postoperative Restauration des Fortpflanzungspotentials konnte statistisch nicht gesichert werden (FISHER-Test). Sie muß durch eine höhere Probandenanzahl verifiziert werden.

Die freie orthotope OVTR konnte durch den Einsatz des ZFK und die Entfernung von größeren Funktionskörpern bei einer mittelgroßen Säugetierart wie der Afrikanischen Zwergziege ohne die sonst auftretenden umfangreichen Parenchymnekrosen ausgeführt werden. Die übertragenen autogenen Ovarien zeigten bis zu 170 Tagen nach der Übertragung unterschiedliche Stadien der Follikulogenese mit Ausbildung von Tertiärfollikeln. Damit stellt die biogene Gewebeklebung eine Alternative zur Transplantation mit Gefäßanschluß dar. Die postoperativ auftretenden Adhäsionen im Adnaxenbereich müssen durch eine Modifizierung der OP-Technik vermindert werden. Inwieweit die erhöhte Zystenbildung an den Ovartransplantaten damit beeinflußt werden kann, sollte durch weiterführende Experimente geklärt werden.

Die anatomische Lokalisation und der Umfang der einzelnen medullären Blutbildungszentren in der Substantia spongiosa gestaltet eine Knochenmarkentnahme bei der Afrikanischen Zwergziege schwierig. Darüber hinaus ist die Medulla ossium in die sie umgebenden Knochenstrukturen fest verankert, so daß eine herkömmliche Markaspiration nicht möglich ist. In der vorliegenden Arbeit wurde daher eine neuartige Methode zur Knochenmarkgewinnung erprobt. Folgende Schritte wurden am liegenden Tier unter Vollnarkose innerhalb von 50 Minuten durchgeführt: [1.] Freilegung des Tuber coxae, [2.] Entfernung der Substantia compacta (ca. 100mm^2), [3.] Einbringen von 2-3 Zugängen in die Substantia spongiosa ($3\text{mm} \times 25\text{mm}$), [4.] Spülung des Markraumes im Ebbe-Flut-

Verfahren, [5.] Verschuß der OP-Wunde. Die mittlere Gesamtzellmenge je Spülung betrug nach Aufbereitung $0,89 \pm 0,1 \times 10^8$ kernhaltige Zellen. Die Wundheilung nach der Knochenmarkentnahme verlief bei allen 16 Ziegen mit einer Restitutio ad integrum. Die Methode gestattet eine für das Donortier schonende Isolierung von hämatopoetischen Stammzellen in ausreichender Menge für verschiedene zellpräparatorische Arbeiten.

Die Entfernung der peripheren Blutzellen insbesondere der immunkompetenten Lymphozyten, aus dem Knochenmarktransplantat ist die Voraussetzung zur Verhinderung einer GVHR im Rezipienten. Derzeit werden unterschiedliche Methoden im Bereich der Humanmedizin erprobt. Die von uns gewählte Zweistufen-Dichtegradientenzentrifugation mit Ficoll Paque und Percoll stellt eine einfache mechanische Trennmethode dar. Sie beruht auf Dichteunterschieden zwischen peripheren Lymphozyten und hämatopoetischen Stammzellen. Der zeitliche Aufwand ist relativ hoch und das Trennergebnis nicht optimal. Ursache ist z.B. die Bildung von Zellaggregaten. Das Verhältnis von Stammzellen zu peripheren Lymphozyten lag im Mittel bei 51% ($0,45 \pm 0,1 \times 10^8$ hämatopoetische Zellen). Effektivere Trennverfahren wurden für das Knochenmark beim Menschen entwickelt. Sie nutzen die unterschiedlichen Antigenstrukturen von Lymphozyten und Stammzellen. Eine Übertragung dieses Systems für die Separierung von caprinen Stammzellen wurde in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum "Rudolph Virchow" versucht. Es versagte aber aufgrund der nicht vorhandenen Antigenverwandtschaft. Für die fetale Toleranzinduktion ist lebendes Zellmaterial vom späteren Donortier erforderlich. Inwieweit dafür auch andere Zellpräparationen, z.B. aus der Nachgeburt des entsprechenden Tieres möglich sind, kann nur mit Hilfe weiterführender Untersuchungen geklärt werden.

Die transkutane sonographische Trächtigkeitsuntersuchung bei der Zwergziege mit einer 5-Megahertz (MHz)-Sonde in liegender Position zwischen dem 52. und 91. Tag p.c. erlaubt eine qualitative Beurteilung und quantitative Darstellung fetaler Wachstumsprozesse. Die Messung der SSL ermöglicht die Erstellung einer fetalen Wachstumskurve ($y = 2,52x - 91,48$; $r = 0,993$).

Die ultraschallgestützte Beimpfung von Zwergziegenfeten mit allogenen blutbildenden Stammzellen (mittlere Zellmenge je Fruchtanlage $0,3 \pm 0,04 \times 10^8$ Zellen) gestattet eine minimal invasive Vorgehensweise für die fetale Toleranzinduktion. Von den 12 beimpften Mutterziegen trugen 3 Tiere (25%) die Graviditäten zeitgerecht aus.

Bei einem am 57.Tag p.c. beimpften Fetus der Afrikanischen Zwergziege wurde postnatal die beabsichtigte Induktion der donorspezifischen Immuntoleranz anhand des allogenen Hauttransplantationstests zweifelsfrei nachgewiesen. Bei drei weiteren Ziegenfeten, die am 91. Tag p.c. beimpft wurden, ergab der postnatal durchgeführte Hauttransplantationstest keinen Hinweis auf eine Induktion der Immuntoleranz. Dieses Ergebnis weist auf einen Beginn der fetalen Immunogenese mit Ausbildung der Transplantatimmunität nach dem

57.Tag p.c. und dem Abschluß vor dem 91.Tag p.c. hin. Eine nähere zeitliche Bestimmung dieses Prozesses wäre [1.] im Rahmen der umfassenden Kennwertforschung der agrarwissenschaftlichen und biomedizinischen Modelltierart Afrikanische Zwergziege von Bedeutung und [2.] bieten Basisinformationen über das fetale Immunsystem dieser landwirtschaftlich genutzten Tierart. Man hätte dann eine bessere Grundlage für die Erforschung der Pathogenese kongenitaler Infektionen, von Abortursachen sowie von neonatalen Infektionen und Erkrankungen. Bemerkenswert ist, daß die Afrikanische Zwergziege ähnlich wie Schaf und Rind als Vertreter der Ruminantia zu den immunologisch frühreifen Tierarten gezählt werden muß.

In ein donorspezifisch immuntolerantes Ziegenlamm wurde im Alter von 71 Tagen p.p. ektop in den M. rectus abdominis Ovargewebe des entsprechenden Knochenmarkdonors übertragen. In identischer Weise wurde eine Gruppe von 3 Ziegenlämmern (57d, 60d, 60d p.p.) behandelt, die gegenüber ihren Knochenmarkdonoren im Hauttransplantationstest nicht immuntolerant waren. Das Schicksal der Transplantate wurde 50 Tage post transplantationem histologisch untersucht. Im Falle des einen immuntoleranten Rezipienten fanden sich im akzeptierten heterotopen Transplantat in ungeordnetes Ovarstroma eingebettete Primärfollikel. Dagegen wurde erwartungsgemäß bei den drei nicht toleranten Rezipienten am Transplantationsort eine vollständige Gewebeeinschmelzung mit Verkalkungsherden und peripheren Lymphozytenaggregationen histologisch nachgewiesen.

Die Ergebnisse der exemplarischen Untersuchung an der Afrikanischen Zwergziege zeigen, daß die Methode der allophenen Ovartransplantation nach fetaler Toleranzinduktion prinzipiell realisierbar ist. Sie eröffnet neuartige Möglichkeiten zur postmortalen Konservierung des Keimzellpotentials und zur biotechnischen Steuerung der Fortpflanzungskapazität ökonomisch und ethisch wertvoller Muttertiere.

6. Literaturverzeichnis

- ABDEL RAHIM, S.E.A.; BLAND, K.P.; UND POYSER, N.L. (1984):
Surgical separation of the uterus and ovaries with simultaneous cannulation of the uterine vein extends luteal function in sheep.
J.Reprod.Fert. **72**, 231-235.
- ADAMS, R.A.; PATT, D.I. UND LUTZ, B.R. (1956):
Long term persistence of skin homografts in untreated hamsters.
Transplant.Bull. **3**, 41-42.
- ADLER, S. (1948):
Origin of the golden hamster *Cricetus auratus* as a laboratory animal.
Nature **162**, 256-257.
- ALDERI, G.; NOCITI, V.; PEREGO, P. UND BUGATTI, A. (1984):
Anastomosensicherung mit Fibrinkleber bei Kolonresektionen.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.) *Fibrinklebung*. Springer, Berlin.
- ALLEN, E. UND PRIEST, F.O. (1932):
Physiological responses of ectopic ovarian and endometrial tissue.
Surg.Gyn.Obstet. **55**, 553-558.
- ANDERSON, D.; BILLINGHAM, R.E.; LAMPKIN, G.H. UND MEDAWAR, P.B. (1951):
The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle.
Heredity **5**, 379-397.
- ARMUTH, V. UND BERENBLUM, I. (1979):
Mechanism of ovarian carcinogenesis: Effect of 7 12 dimethylbenz[a]anthracene administration on intrasplenic ovarian grafts in unilaterally ovariectomized C-3HeB/Fe mice.
J.Natl.Cancer Inst. **63**, 1047-1050.
- BAGWELL, J.N.; CHIHAI, H.J.W. UND PEPPLER, R.D. (1976):
Fine structure of the corpus luteum of the autografted ovary in the rat.
Cell Tiss.Res. **171**, 375-379.
- BAILEY, C.E. (1970):
Studies on the antigenicity of the human ovary and interrenal grafting of the ovary in the rabbit.
Ph.D. Diss., Wayne State University, Detroit, Mich.
- BAIRD, D.T.; COLLETT, R.A. UND LAND, R.B. (1971):
The pattern of progesterone secretion by the autotransplanted ovary of the ewe in response to ovine luteinizing hormone and HCG:
J.Reprod.Fertil. **25**, 308-309.
- BARKER, J.E. UND McFARLAND, E.C. (1983):
A method to enrich mouse hematopoietic stem cells.
Blood **62**, 827-831.
- BARRETT, S.; DE BLOCKEY, M.A.; BROWN, J.M.; CUMMING, I.A.; GODING, J.R.; MOLE, B.J. UND OBST, J.M. (1971):
Initiation of oestrus cycle in the ewe by infusions of PGF 2 alpha to the autotransplanted ovary.
J.Reprod.Fertil. **24**, 136-137.
- BAUNACK, E.; GÄRTNER, K. UND WERNER, I. (1988):
Ovary transplantation - a means of estimating prenatal maternal effects in mice.
Fertilität **4**, 235-239.

- BER, A. (1968):
Development of ovarian autografts near the stomach of adult castrated rats.
Endokrinologie **53**, 48-61.
- BER, A. (1970):
Comparision of tumorigenesis and of long-term development of ovarian autografts on the greater omentum of castrated infantile and mature rats.
Cancer Research **30**, 426-429.
- BER, A. (1971):
The effect of gonadotrophins and of growth hormone on the development of ovarian autografts on the greater omentum of hemicastrated rats.
Acta Endocrinol. **66**, 99-110.
- BER, A (1973):
Growth competence of ovarian autografts after a " dormancy" of one to eighteen months.
Endokrinologie **62**, 129-141.
- BILLINGHAM, R.E.; BRENT, L. UND MEDAWAR, P.B. (1953):
Actively acquired tolerance of foreign cells.
Nature **172**, 603-606.
- BILLINGHAM, R.E. UND MEDAWAR, P.B. (1951):
The technique of free skin grafting in mammals.
J.Exp.Biol. **28**, 385-402.
- BILLINGHAM, R.E. UND PARKES, A.S. (1955):
Studies on the survival of homografts of skin and ovarian tissue in rats.
Proc.Roy.Soc.B. **143**, 550-560.
- BLAHA, G.C. (1970):
The influence of ovarian grafts from young donors on the development of transferred ova in aged golden hamsters.
Fertil.Steril. **21**, 268-273.
- BLAND UND DONOVAN (1968):
The effect of autotransplantation of the ovaries to the kidney or uterus on the oestrus cycle of the guinea pig.
J.Endocr. **41**, 95-103.
- BOLLMANN, R. (1989):
Persönliche Mitteilung.
- BOLZ, W. UND DIETZ, O. (1985):
Lehrbuch der Allgemeinen Chirurgie für Tierärzte.
5. Aufl.
Gustav Fischer, Jena.
- BOOTH, J.E. UND McDONALD, P.G. (1975):
Ovarian graft morphology and sexual behaviour in neonatally castrated rats treated with propionated androgens.
J.Endocr. **64**, 36P.
- BOOTH, J.E. (1977):
Sexual behaviour of neonatally castrated rats injected during infancy with oestrogen and dihydrotestosterone.
J.Endocr. **72**, 135-141.

- BÖSCH, P. (1981):
Die Fibrinspongiosalplastik.
Wr.Klin.Wschr. **93**: Suppl., 124.
- BÖTTICHER, R. (1984):
Anastomosensicherung durch Fibrinklebung am oberen Gastrointestinaltrakt.
In: SCHEELLE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- BRACKETT, B.G. UND ZUELKE, K.A. (1993):
Analysis of factors involved in the in vitro production of bovine embryos.
Theriogenology **39**, 43-64.
- BRANDS, W.; JOPPICH, I.; MENNICKEN, C.; MENGES, H.-W. UND HRSTKA, J. (1984):
Möglichkeiten zur Erhaltung von Milzgewebe.
In: SCHEELLE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- BREM, G.; BAUNACK, E.; MÜLLER, M. UND WINNACKER, E.L. (1990):
Transgenic offspring by transcaryotic implantation of transgenic ovaries into normal mice.
Mol.Reprod.Dev. **25**, 42-44.
- BRENT, L.; CHANDLER, P.; FIERZ, W.; MEDAWAR, P.B.; RAYFIELD, L.S. UND SIMPSON, E. (1982):
Further studies on supposed lamarckian inheritance of immunological tolerance.
Nature **295**, 242-244.
- BROWNLIE, J. (1981):
Lymphocyte recirculation in the chimeric calf.
In: BUTLER, I.E. (Hrsg.): The ruminant immune system. Plenum Press, New York.
- BÜRKI, K. (1986):
Monographs in Developmental Biology Vol. 19: Experimental embryology of the mouse.
KARGER, Basel.
- BUNDSCHUH, G.; SCHNEEWEISS, B. UND BRÄUER, H. (1988):
Lexikon der Immunologie.
Medical Service, München.
- BUXTON, C.L. UND WONG, A.S.H. (1950):
The use of ovarian transplants for hormonal replacement therapy
Am.J.Obst.Gynec. **60**, 401-405.
- CAMPBELL, B.K.; BAIRD, D.T.; McNEILLY, A.S. UND SCARAMUZZI, R.J. (1990a):
Ovarian secretion rates and peripheral concentrations of inhibin in normal and androstenedione-immune ewes with an autotransplanted ovary.
J.Endocr. **127**, 285-296.
- CAMPBELL, B.K., SCARAMUZZI, R.J., DOWNING, J.A. UND EVANS, G. (1990b):
Steroid secretion rates and plasma binding activity in androstenedione immune ewes with autotransplanted ovary.
J.Reprod.Fertil. **89**, 485-496.
- CARROLL, J.; WHITTINGHAM, D.G.; WOOD, M.J.; TELFER, E. UND GOSDEN, R.G. (1990):
Extraovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles.
J.Reprod.Fertil. **90**, 321-327.
- CASTELLANOS, H. UND STURGIS, S.H. (1957):
Functional survival of ovarian homografts within millipore filter chambers in the castrate rat.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. **94**, 569.

- CASTELLANOS, H. UND STURGIS, S.H. (1958):
Ovarian homografts survival within millipore filter chambers in the monkey.
Obstet.Gynecol. **12**, 603-609.
- CASTLE, W.E. UND PHILLIPS, J.C. (1909):
A successful ovarian transplantation in the guinea-pig, and its bearing on problems of genetics.
Science **30**, 312-313.
- CASTLE, W.E. UND PHILLIPS, J.C. (1911):
On germinal transplantation in vertebrates.
Publ. by the Carn. Inst. of Wash. 1911.
- CHABOT, J.A.; PEPINO, P.; WASFIE, T.; STEGALL, M.D.; MARBOE, C. UND HARDY, M.A. (1990):
UVB pretreatment of rat bone marrow allografts.
Transplantation **49**, 886-889.
- CHAMLEY, W.A.; BROWN, J.M.; CAIN, M.D.; CERINI, J.C.; CERINI, M.E.D.; CUMMING, I.A.; GODING, J.R. UND KRAGT, C. (1972):
Luteolysis following intra-arterial infusion of prostaglandin F2a directly into the ovine autotransplanted ovary.
J.Reprod.Fertil. **28**, 153-155.
- CHIHAI, H.J.W.; STONE, S.C. UND PEPPLER, R.D. (1976a):
Effects of 'extra' ovarian tissue on ovulation number and ovarian steroids in rats.
J.Reprod.Fert. **47**, 107-109.
- CHIHAI, H.J.W.; WEITSEN, H.A.; STONE, S.C. UND PEPPLER, R.D. (1976b):
Autonomic innervation and plasma estradiol-17 β and progesterone levels in rats with subcutaneous ovarian.
Cell Tiss.Res. **175**, 113-121.
- CLARK, R.G. UND HOLDER, A.T. (1984):
Ovarian-splenic autotransplantation: evidence that oestrogen does not inhibit hepatic somatomedin generation.
J.Endocr. **103**, 43-47.
- COLLETT, R.A.; LAND, R.B. UND BAIRD, D.T. (1973):
The pattern of progesterone secretion by the autotransplanted ovary of the ewe in response to ovine luteinizing hormone.
J.Endocr. **56**, 403-411.
- COOPER, D.K.C.; KEMP, E.; REEMSTMA, K. UND WHITE, D.J.G. (1991):
Xenotransplantation - The transplantation of organs and tissues between species.
Springer, Berlin.
- DAIN, A. (1971):
The incidence of freemartinism in sheep.
J.Reprod.Fertil. **24**, 91-97.
- DANIEL, J.C.; FOX, J.M. UND RICHARDSON, P. (1983):
Return to partial function of rabbit ovaries after cryoconservation in liquid nitrogen.
Theriogenology **19**, 405-412.
- DANIEL, J.C. UND JUNEJA, S.C. (1987):
Cryoconservation of sliced bovine ovaries.
Theriogenology **27**, 220.

- DEANSLEY, R. (1957):
Egg survival in immature rat ovaries grafted after freezing and thawing.
Proc.Roy.Soc.B. **147**, 412-421.
- DEEG, H.J.; BAZAR, L.; SIGAROUNDINIA, M.; SPIELBERG, H.; CAHILL, R.A.; COHN, M. UND COTTLER-FOX, M. (1989):
Inactivation of bone marrow T-lymphocytes by ultraviolet light.
Transplant.Proc. **21**, 2938.
- DE WITTE, T.; RAYMAKERS, R.; PLAS, A.; KOEKMAN, E.; WESSELS, H. UND HAANEN, C. (1984):
Bone marrow repopulation capacity after transplantation of lymphocyte-depleted allogeneic bone marrow using counterflow centrifugation.
Transplantation **37**, 151-155.
- DEMPSTER, W.J. (1954):
A technique for the study of the behaviour of the autotransplanted kidney, adrenal and ovary of the dog.
J.Physiol.Lond. **124**, 15-16 P.
- DENJEAN, R.; BOECKX, W.; GORDTS, S. UND BROSENS, I. (1982):
Ovarian transplantation by selective microvascular anastomoses in the rabbit.
Br.J.Obstet.Gynaecol. **89**, 652-656.
- DICKE, K.A.; McCREDIE, K.B.; SPITZER, G.; ZANDER, A.; PETERS, L.; VERMA, D.S.; STEWART, D.; KEATING, M. UND STEVENS, E.E. (1978):
Autologous bone marrow transplantation in patients with adult acute leukemia in relapse.
Transplantation **26**, 169-173.
- DOMINGUEZ, R.; CARLEVARO, E. UND BUNO, W. (1968):
Evolution of ovarian grafts in male guinea-pigs castrated the first day of life.
Experientia **24**, 459-460.
- DONOVAN, B.T. (1969):
The functional capacity of ovarian tissue transplanted to the spleen or kidney in the ferret.
J.Endocr. **45**, 91-97.
- DRAEHMPAEHL, D.; REHAK, E. UND HILDEBRANDT, T. (1990):
Zur Antigenität von Oozyten aus Tertiärfollikeln bei Meerschweinchen.
Mh.Vet.-Med. **45**, 676-680.
- DRAEHMPAEHL, D. (1993):
Morphologische und immunologische Untersuchungen zur Oo- und Spermiogenese bei Meerschweinchen, Zwergziegen, Schweinen und Rindern.
Vet. Med. Habil., Humboldt-Universität zu Berlin..
- DRÖBLER, K. (1988):
Wörterbücher der Biologie: Immunologie.
Gustav Fischer, Jena.
- DUDLEY, P. (1899):
Ueber intrauterine Implantation des Ovarium.
Monatsschrift f.Gynäk. **10**, 662.
- DUTZ, H.; MEBEL, M.; GROßMANN, P.; GUDDAT, H.-M. UND STRANGFELD, D. (1988):
Urologie und Nephrologie.
4.erw. Aufl.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin.

- EINER-JENSEN, N. (1988):
Countercurrent transfer in the ovarian pedicle and its physiological implications.
In: CLARKE, J.R. (Hrsg.): Oxford reviews of reproductive biology **10**, 348-381.
- ELLIS, W.M.; GEORGIU, G.M.; ROBERTON, D.M. UND JOHNSON, G.R. (1984):
The use of discontinuous Percoll gradients to separate populations of cells from human bone marrow and peripheral blood.
J.Immunol.Methods **66**, 9-16.
- EPPIG, J.J. UND SCHROEDER, A.C. (1989):
Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation and fertilization in vitro.
Biol.Reprod. **41**, 268-276.
- ERASLAN, S.; HAMERNIK, R.J. UND HARDY, J.D. (1966):
Replantation of uterus and ovaries in dogs, with successful pregnancy
Arch.Surg. **92**, 9-12.
- ESTES, W.L. (1924):
Ovarian implantation.
Surg.Obstet.Gynec. **38**, 394-398.
- FELICIO, L.S.; NELSON, J.F.; GOSDEN, R.G. UND FINCH, C.E. (1983):
Restoration of ovulatory cycles by young ovarian grafts in aging mice: Potention by long-term ovariectomy decreases with age.
Proc.Natl.Acad.Sci. **80**, 6076-6080.
- FELS, E. (1977):
Hypophysen- und Ovarienfunktion nach einer postnatalen Oestradiolinjektion I. Untersuchungen vermittelt Ovarimplantats in Milz.
Arch.Gynäk. **223**, 357-363.
- FIRST, N.L. (1990):
New animal breeding techniques and their application.
J.Reprod.Fert.Suppl. **41**, 3-14.
- FLAKE, A.W.; HARRISON, M.R.; ADZICK, N.S. UND ZANJANI, E.D. (1986):
Transplantation of fetal hematopoietic stem cells in utero: The creation of hematopoietic chimeras.
Science **233**, 776-778.
- FLAMENT-DURAND, J. UND DESCLIN, L. (1967):
Action de lumiere sur les noyaux supraoptiques chez le rat normal, le rat chatre et le rat chatre porteur d'une greffe d'ovaire dans la rate.
Ann.Endocrinol. **28**, 240-244.
- FLEISCHMAN, R.A. UND MINTZ, B. (1979):
Prevention of genetic anaemias in mice by microinjection of normal hematopoietic stem cells into the fetal placenta.
Proc.Natl.Acad.Sci. **76**, 5736-5740.
- FLURKEY, K.; ANDERSON, C.P.; MAY, P.C. UND FINCH, C.E. (1987):
Supernumerary ovarian grafts in aging C57BL/6J mice reveal complexities in the neuroendocrine impairments of acyclic mice.
Biol.Reprod. **36**, 961-969.
- FREY, M.; HOLLE, J.; MANDL, H. UND FREILINGER, G. (1979):
Die Vorteile der aufgeschobenen Spalthauttransplantation und die Erweiterung ihres Anwendungsbereiches durch die Verwendung des Fibrinklebers.
Acta Chir.Austriaca **11**, 97-100.

- GARG, B.D.; KOVACS, K. UND TUCHWEBER, B. (1973):
Hepatic ultrastructural changes in rats bearing intrasplenic ovarian autografts.
Anat. Anz. **133**, 171-179.
- GASSER, G.; MOSSIG, H.; FISCHER, M.; EIDLER, R.; KLÄRING, W. UND LURF, H. (1983):
Modifikation der suprapubischen Prostatektomie unter Verwendung eines biologischen
Klebeverfahrens.
Wien. Klin. Wschr. **95**, 399-403.
- GASTPAR, H. (1982):
Tonsillektomie bei Gerinnungsstörungen.
Münch. med. Wschr. **124**, 992-994.
- GILBERT, A.B. UND WOOD-GUSH, D.G.M. (1969):
Innervation of ovarian transplants in the domestic hen.
J. Reprod. Fertil. **18**, 550-551.
- GLASS, J.H. (1899):
An Experiment in Transplantation of the entire human ovary.
The medical news (Philadelphia) **29**, 523-525.
- GLOBUS, M.S.; HOLZGREVE, W. UND HARRISON, M.R. (1984):
Intrauterine Direktbehandlung des Feten.
Gynäkologie **17**, 62-71.
- GODING, J.R.; McCracken, J.A. UND BAIRD, D.T. (1967):
The study of ovarian function in the ewe by means of a vascular autotransplantation technique.
J. Endocr. **39**, 37-52.
- GOECKE, H. UND WIRZ, P. (1931):
Die Wirkung auf das Ovarium (nach Halbseitenkastration und Reimplantation eines Ovariums).
Arch. Gynäk. **144**, 451-452.
- GOLDMAN, M.B. (1974):
Immunogenetic factors in the survival of ovarian transplants.
Transplantation **17**, 518-523.
- GOODMAN, L. (1934):
Observations on transplanted immature ovaries in the eyes of adult male and female rats.
Anat. Rec. **59**, 223-252.
- GOSDEN, R.G. (1992):
Transplantation of ovaries and testes.
In: EDWARDS, R.G. (Hrsg.): *Fetal tissue transplants in medicine.*
University Press, Cambridge.
- GRANHOLM, N.H. UND DICKENS, G.A. (1986):
Effects of reciprocal ovary transplantation on reproductive performance of lethal yellow mice
(Ay/a; C57BL/6J).
J. Reprod. Fert. **78**, 749-753.
- GREEN, S.H.; SMITH, A.U. UND ZUCKERMAN, S. (1956):
The numbers of oocytes in ovarian autografts after freezing and thawing.
J. Endocrinology **13**, 330-334.
- GRIGORIEFF, W. (1897):
Die Schwangerschaft bei der Transplantation der Eierstöcke.
Ctrbl. f. Gynäk. **21**, 663-668.

- GRINDEM, C.B. (1989):
Bone marrow biopsy and evaluation.
Vet.Clin.North Am. **19**, 669-695.
- GRZIMEK, B. (1988):
Mesocricetus auratus.
Grzimek's Enzyklopädie, Säugetiere, Bd.III.
Kindler Verlag, München.
- GUSTAVII, B.; LÖFBERG, L. UND OLOFSSON, T. (1982):
Transfer of tissue cells to the fetus.
Acta Obstet.Gynecol.Scand. **61**, 361-365.
- HAID, T.; GSCHREY, G.; PANIS, R. UND PFISTER, P. (1984):
Ergebnisse der Tympanoplastik nach Verwendung des Fibrinklebers.
In: SCHEELE, J (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- HAMANN, M.; LINDEMANN, G.; ALBRECHT, G. UND ZIPPRICH, K.-W. (1985):
Tumöröse Entartung eines autogenen Ovartransplantates.
Zbl.Gynäkol. **107**, 1323-1325.
- HARRIS, M. UND EAKIN, R.M. (1949):
Survival of transplanted ovaries in rats.
J.Exp.Zool. **112**, 131-163.
- HARRISON, F.A. UND HEAP, R.B. (1972):
Ovarian activity in a pig after autotransplantation of an ovary.
J.Physiol. **226**, 39P.
- HARRISON, F.A., HEAP, R.B., HORTON, E.W. UND POYSER, N.L. (1972):
Identification of prostaglandin F 2 alpha in uterine fluid from the non-pregnant sheep with an autotransplanted ovary.
J.Endocr. **53**, 215-222.
- HARRISON, F.A.; HEAP, R.B. UND SILVER, A. (1974):
Cholinesterase activity.
J.Physiol. **242**, 10P-11P.
- HARRISON, F.A. UND HEAP, R.B. (1978):
Progesterone secretion during pregnancy in sheep with an autotransplanted adrenal and an autotransplanted ovary.
J.Reprod.Fertil. **54**, 153-157.
- HARRISON, F.A.; CHAMBERS, S.G. UND GREEN, E.A. (1979):
Autotransplantation of the ovary to the neck in sow: normal cyclic activity and plasma hormone levels.
J.Endocr. **83**, 46P.
- HASEK, M.; HOLAN, K.V. UND CHUTNA, J. (1980):
Comparison of neonatally and adoptively transplantation tolerance in mice.
Folia biologica (Praha), **26**, 167-175.
- HAVERICH, A.; WALTERBUSCH, G.; OELERT, H. UND BORST, H.G. (1984):
Anwendung des Fibrinklebers in der kardiovaskulären Chirurgie.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- HAYASHI, S.; MENNIN, S.P. UND GORSKI, R.A. (1974):
Effect of hypothalamic deafferentation on luteinization of intrasplenic ovarian grafts in ovariectomized rat.
Neuroendocrinology **14**, 321-332.

- HELBIG, W.; KUBEL, M.; SCHWENKE, H. UND HOFFMANN, F.-A. (1988):
Therapeutische Möglichkeiten durch Knochenmarktransplantation.
Wiss.Zschr. HUB, R. Medizin. **37**, 289-299.
- HENNING, K. UND URLESBERGER, U. (1984):
Nierenparenchymoperationen mit Fibrinklebung.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- HILDEBRANDT, T. (1988):
Unveröffentlichte Daten.
- HILDEBRANDT, T. (1992):
Unveröffentlichte Daten.
- HILDEBRANDT, T. (1993):
Unveröffentlichte Daten.
- HOFFMANN, G. (1961):
Abriß der Laboratoriumstierkunde.
Gustav Fischer, Jena
- HOPPEN, H.O.; SCHRAMM, W. UND FINDLAY, J.K. (1979):
Steroid secretion by the ovarian transplant of sheep and gonadotrophins during prostaglandin induced luteolysis.
Acta endocr.(Kbh) **0(225)** Suppl., 104.
- HOUDA, L.; SHAOHUA, J. UND BICHUEN, L. (1992):
Nude mouse used as an alternative to in-vitro fertilization.
12th International Congress on Animal Reproduction: Poster Session Ib, Poster 185.
- ICHINOE, K.; SHIINA, Y. UND YAMADA, Y. (1985):
Endocrine function of autotransplanted ovaries in young women undergoing radical operation and radiotherapy for cervical cancer.
Arch.Gynecol. **237**(Suppl.), 87.
- IGNATEWA, E.L. (1988a):
Genome conservation by ovarian transplantation
In: VEPRINTSEV, B.N. (Hrsg.): Genome conservation. Pushchino 1988, 1-17.
- IGNATEWA, E.L. (1988b):
Persönliche Mitteilung.
- JACOBOWITZ, D. UND LATIES, A.M. (1970):
Adrenergic Reinnervation of the cat ovary transplanted to the anterior chamber of the eye.
Endocrinology **86**, 921-924.
- JAENISCH, R. (1985):
Mammalian neural crest cells participate in normal embryonic development on microinjection into post-implantation mouse.
Nature **318**, 181-183.
- Jahr, H. (1991):
Persönliche Mitteilung.
- JASZCZAK, ST. UND HAEFEZ, E.S.E. (1971):
Ovarian grafting in the rabbit with successful delivery of young.
Int.J.Fertil. **16**, 117-129.

- JESIONOWSKA, H.; KARELUS, K. UND NELSON, J.F. (1990):
Effects of chronic exposure to estradiol on ovarian cyclicity in C57BL/6J mice: Potention at low doses and only partial suppression at high doses.
Biol.Reprod. **43**, 312-317.
- JONES, E.C. UND KROHN, P.L. (1959):
Influence of the anterior pituitary on the ageing process in the ovary.
Nature **183**, 1155-1158.
- JONES, E.C. UND KROHN, P.L. (1960):
Orthotopic ovarian transplantation in mice.
J.Endocrin. **20**, 135-146.
- JUNG, S. (1962):
Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere.
Gutav Fischer, Stuttgart.
- KÄHN, W. (1991):
Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover.
- KÄHN, W. (1992a):
Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction.
Proceedings of the 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Netherland, 23-27 August 1992. Plenary Session I.
- KÄHN, W. (1992b):
Persönliche Mitteilung.
- KAESER, A. UND DUM, N. (1988):
Grundlegende Aspekte der Fibrinklebung.
In: ZELLNER, P.R. (Hrsg.): Fibrinklebung in der Verbrennungschirurgie - Plastischen Chirurgie. Springer, Berlin.
- KAJIWARA, Y., INOUE, M.; KUWANA, T. UND FUJIMOTO, T. (1988):
Interspecific melanocyte chimeras made by introducing rat cells into postimplantation mouse embryos in utero.
Dev.Biol. **129**, 586-589.
- KESSLER, B.; ARNDT, M. UND ZIMMERMANN, R.E. (1984):
Erprobung neuartiger Klebevarianten im Tierexperiment.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- KLEINSCHMIDT, J. UND BRÜCKNER, W.L. (1984):
Milzklebung im Kleintierversuch ohne Vlies.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- KLETTER, G. UND HORACZEK, A. (1982):
Die Anwendung des Fibrinklebers in der Neurotraumatologie.
In: COTTA, H. UND BRAUN, A. (Hrsg.): Fibrinklebung in Orthopädie und Traumatologie. Georg Thieme, Stuttgart.
- KNAUER, E. (1896):
Einige Versuche über Ovarientransplantation bei Kaninchen.
Ctrbl.f.Gynäk. **20**, 524-528.

- KNAUER, E. (1898):
Zur Ovartransplantation (Geburt am normalen Ende der Schwangerschaft nach Ovarientransplantation beim Kaninchen).
Ctrbl.f.Gynäk. **22**, 201-203.
- KNAUER, E. (1900):
Die Ovartransplantation.
Arch.f.Gynäk. **60**, 322-375.
- KOCH, T. UND BERG, R. (1992):
Lehrbuch der Veterinäranatomie.
Bd.1, Bewegungsapparat
5. Aufl.
Gustav Fischer, Jena.
- KOHAMA, S.G.; ANDERSON, C.P.; OSTERBURG, H.H.; MAY, P.C. UND FINCH, C.E. (1989):
Oral administration of estradiol to young C57BL/6J mice induces age-like neuroendocrine dysfunctions in the regulation of estrous cycles.
Biol.Reprod. **41**, 227-232.
- KOHDA, M.; SHIRAMA, K. UND HOKANO, M. (1990):
Histological and immunohistochemical study on ovarian tumors induced by intrasplenic ovarian grafting in rats.
J. Tokyo Med.Coll. **48**; 723-734.
- KÖHLER, R. (1953):
Die Ovartransplantation in oder an den Uterus zum Zwecke der Erhaltung der Konzeptionsfähigkeit.
Carl Marhold Verlag, Halle (Saale).
- KÖVES, K.; MOLNAR, J.; BALIKA, K.; STOHL, V.; KOVACS, G. UND HALASZ, B. (1989):
Transitory increase in plasma FSH and LH levels induces early vaginal opening and corpus luteum formation in ovarian transplants of rats ovariectomized at 20 days of age.
Acta Physiol.Hung. **73**, 489-498.
- KROHN, P.L. (1958):
Litters from C3H and CBA ovaries orthotopically transplanted into tolerant A strain mice.
Nature **181**, 1671-1672.
- KROHN, P.L. (1962):
Heterochronic transplantation in the study of ageing.
Proc.Roy.Soc.B. **157**, 128-147.
- KÜPPER, W. (1984):
Narkosen und chirurgische Eingriffe beim Kaninchen und bei Nagetieren.
In: GABRISCH, K. UND ZWART, P. (Hrsg.): Krankheiten der Heimtiere.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover.
- LEAVITT, W.W. UND CARLSON, I.H. (1969):
Progesterone, 20 alpha-hydroxy-delta 4-pregnen-3-one, androstenedione and corticosterone content of portal vein and vena caval blood in rats bearing ovarian grafts to the spleen.
J.Reprod.Fertil. **18**, 172.
- LEAVITT, W.W.; CARLSON, I.H. UND MEYER, R.K. (1971):
Progesterin secretion and excretion in the ovariectomized rat bearing a luteinized ovarian graft in the hepatic portal circulation.
Endocrinology **88**; 16-25.

- LEAVITT, W.W.; LOWENHAUPT, R.W.; BLAHA, G.C.; KENNAN, A.L. UND MEYER, R.K. (1972):
Steroidogenic function of luteinized ovarian grafts in the hepaticportal circulation of ovariectomized rats.
Endocrinology **90**, 362-370.
- LILLIE, F.R. (1916):
The theory of the free-martin.
Science **43**, 611-613.
- LIPSCHÜTZ, A. (1925):
Experimenteller Hermaphroditismus und der Antagonismus der Geschlechtsdrüsen.
I. Die intrarenale Ovartransplantation. Die Indikatoren des weiblichen und männlichen hormonalen Effekts beim Meerschweinchen.
Pflüg.Arch. **207**, 548-562.
- LOEB, L. (1930):
Transplantation and individuality.
Physiol.Rev. **10**, 547-616.
- LÖFBERG, L. UND GUSTAVII, B. (1982):
Technical difficulties in fetal skin sampling.
Acta Obstet.Gynecol.Scand. **61**, 505-507.
- MAEKAWA, K. UND IMAMURA, K. (1967):
Behaviour of testes and intratestikular ovarian grafts in male rats following injection with cadmium or ligation of testicular artery.
Acta Anat.Nippon. **42**, 343-350.
- MANGOUSHI, M.A. (1975):
Scrotal allografts of fetal ovaries.
J.Anat. **120**, 595-599.
- MARCZELL, A.; EFFERDINGER, F.; SPOULA, H. UND STIERER, M. (1979):
Anwendungsbereiche des Fibrinklebers in der Abdominalchirurgie.
Acta chir.Austriaca **11**, 137-141.
- MARCZELL, A. (1985):
Erfahrungen mit dem Fibrinkleber bei Operationen am Pankreas.
Akt.Chir. **20**, 52-54.
- MARIC, D.; TADIC, R. UND MILINE, R. (1974):
The influence of the gonads on the functional development of the hypothalamo-hypophysial system of the male rat.
Neuroendocrinology **15**, 92-98.
- MARTIN, F.H. (1922):
Ovarian transplantation.
Surg.Gynecol.Obstet. **35**, 573-585.
- MARTIN, P.A. UND DZUIK, P.J. (1974):
Estrous in pig after ovarian transplantation.
J.Anim.Sci. **39**, 992-993.
- MARTIN, P.J.; HANSEN, J.A.; STORB, R.; THOMAS, E.D. (1987):
Graft-versus-host disease.
In: DIXON, F.J. (Hrsg.): *Advances in Immunology*, Vol. **40**.
Academic Press, Orlando.
- MATTHES, G. (1985):
Aus: Beipackzettel für institutsinternes Produkt - Fibrinkleberkomponente I.

- MATTHES, G. (1987):
Persönliche Mitteilung.
- MATTINGLY, R.F.; CLARK, D.O.; LUTSKY, I.I.; HUANG, W.Y.; STAFL, A. UND MADDISON, F.E. (1970):
Ovarian function in uteroovarian homotransplantation.
Amer.J.Obstet.Gynec. **108**, 773-794.
- McCRACKEN, J.A.; BAIRD, D.T. UND GODING, J.R. (1971):
Factors affecting the secretion of steroids from the transplanted ovary in the sheep.
Recent Progr.Horm.Res. **27**, 537-582.
- MEDAWAR, P.B. (1948):
Tests by tissue culture on the nature of immunity to transplanted skin.
Quart.J.Micr.Sci. **89**, 239-252.
- MICHEJDA, M.; PETERS, S.M.; BACHER, J.; HERNANDEZ, L.F. UND BELLANTI, J.A. (1992):
Intrauterine xenotransplantation of bone marrow stem cells in nonhuman primates.
Transplantation **54**, 759-762.
- MIYAMOTO, H. UND SUGIMOTO, M. (1992):
Cryopreservation of rat ovaries and pieces of goat ovarian tissue.
12th International Congress on Animal Reproduction: Poster Session IIa, Poster 430.
- MOBS, C.V.; GEE, D.M. UND FINCH, C.E. (1984):
Reproductive senescence in female C57BL/6J mice: Ovarian impairments and neuroendocrine impairments that are partially reversible and delayable by ovariectomy.
Endocrinology **115**, 1653-1662.
- MOORE, C.R. UND PRICE, D. (1942):
Differentiation of embryonic reproductive tissues of the rat after transplantation into post-natal hosts.
J.Exp.Zool. **90**, 229-265.
- MOORE, N.W. UND ROWSON, I.E.A. (1961):
Attempts to induce tissue tolerance in sheep.
Res.vet.Sci. **2**, 1-10.
- MORRIS, R.T. (1895):
The ovarian graft.
New York M.J. **62**, 436.
- MURANYI-KOVACS, I.; RUDALI, G. UND ASSA, R. (1977):
Mammary Carcinogenesis in castrated (C3H*RIII)F1 male mice bearing ovarian transplants in the ear for variable periods of time.
Europ.J.Cancer **13**, 1351-1356.
- MURRAY, W.S. (1927):
Ovarian secretion and tumor incidence.
Science **66**, 600-601.
- NANDI, S. UND HELMICH, CH. (1974):
Transmission of mammary tumor virus by the GR mouse strain. I. Role of the virus in the production of lesions.
J.Natl.Cancer Inst. **52**, 1285-1290.
- NELSON, J.F.; BERGMAN, M.D.; KARELUS, K. UND FELICIO, L.S. (1987):
Aging of hypothalamo-pituitary-ovarian axis: hormonal influences and cellular mechanisms.
J.Steroid.Biochem. **27**, 699-705.

- NORMAN, R.L. UND SPIES, H.G. (1986):
Cyclic ovarian function in a male macaque: Additional evidence for a lack of sexual differentiation in the physiological mechanisms that regulate the cyclic release of gonadotrophins in primates.
Endocrinology **118**, 2608-2610.
- ODAR, J. UND SCHWARZ, H. (1988):
Applikationstechniken bei der Fibrinklebung.
In: ZELLNER, P.R. (Hrsg.): *Fibrinklebung in der Verbrennungschirurgie - Plastischen Chirurgie*. Springer, Berlin.
- OHTA, Y. (1987):
Age-related decline in decidualogenic ability of the rat uterus.
Biol.Reprod. **37**, 779-785.
- ORSINI, M.W. (1961):
The external vaginal phenomena characterizing the studies of the estrous cycle, pregnancy, pseudopregnancy, lactation and anestrus hamster.
Proc.Anim.Care Panel **11**, 193-196.
- OSBURN, B.I. (1981):
The ontogeny of the ruminant immune system and its significance in the understanding of maternal-fetal-neonatal relationships.
In: BUTLER, I.E. (Hrsg.): *The ruminant immune system*. Plenum Press, New York.
- OWEN, R.D. (1945):
Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins.
Science **102**, 400-401.
- PALDI, E.; GAL, D.; BARZILAI, A.; HAMPEL, N. UND MALBERGER, E. (1975):
Genital Organs auto and homotransplantation in forty dogs.
Int.J.Fertil. **20**, 5-12.
- PALLAVICINI, M.G.; FLAKE, A.W.; MADDEN, D.; BETHEL, C.; D.; DUNCAN, B.; GONZALGO, M.L.HAENDEL, S.; MONTOYA, T. UND ROBERTS, L.(1992):
Hemopoietic chimerism in rodents transplanted in utero with fetal human hemopoietic cells.
Transplant Proc. **24**, 542-543.
- PARKENING, T.A.; COLLINS, T.J. UND ELDER, F.F.B. (1985):
Orthotopic ovarian transplantations in young and aged C57BL/6J mice.
Biol.Reprod. **32**, 989-997.
- PARKES, A.S. UND SMITH, A.U. (1953):
Regeneration of rat ovarian tissue grafted after exposure to low temperatures.
Proc.Roy.Soc.B. **140**, 455-470.
- PARROTT, D.M.V. (1959):
Orthotopic ovarian grafts in the golden hamster.
J.Endocrin. **19**, 126-138.
- PARROTT, D.M.V. (1960):
The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue.
J.Reprod.Fertil. **1**, 230-241.
- PESCH, H.-J. UND SCHEELE, J. (1984):
Lokaler Fibrinkleberabbau im Tierexperiment - Histomorphologische Untersuchungen.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): *Fibrinklebung*. Springer, Berlin.

- PITRA, CH.; HILDEBRANDT, T. UND REINSCH, A. (1991):
Embryotransfer bei Wirbeltieren in menschlicher Obhut: Die Technik und ihre Anwendungen (Übersichtsreferat).
Mh.Vet.-Med. **46**, 618-621.
- POLGE, C.; SMITH, A.U. UND PARKES, A.S. (1949):
Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures.
Nature **164**, 666.
- POSSELT, A.M.; BARKER, C.F.; TOMASZEWSKI, J.E.; MARKMANN, J.F.; CHOTI, M.A. UND NAJI, A. (1990):
Induction of donorspecific unresponsiveness by intrathymic islet transplantation.
Science **249**, 1293-1295.
- RADO, A.; McCracken, J.A. UND BAIRD, D.T. (1970):
The formation of oestrogens by the autotransplanted ovary of the ewe perfused in vivo with C19 steroids.
Acta Endocrinol. **65**, 244-260.
- REICHLE, F.A.; GRUENSTEIN, M.; REICHLE, R.M.; MERANZE, D.R.; ROSEMOND, G.P. UND SHIMKIN, M.B. (1972):
Inhibition of experimental mammary carcinoma.
Arch.Surg. **104**, 206-208.
- ROBERTSON, G.G. (1940):
Ovarian Transplantations in the house mouse.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. **44**, 302-304.
- ROITT, I.M.; BROSTOFF, J. UND MALE, D.K. (1987):
Kurzes Lehrbuch der Immunologie.
George Thieme Verlag, Stuttgart.
- ROITT, I.M. (1988):
Leitfaden der Immunologie.
3. Aufl.
Steinkopff Verlag, Darmstadt.
- ROMBERG, G.H. (1935):
Experimental Transplantation of the ovary.
Am.J.Surg. **24**, 249-252.
- ROMEIS, B. (1989):
Mikroskopische Technik.
17. Aufl.
Urban und Schwarzenberg, München.
- ROUBERTOUX, P.L. UND CARLIER, M. (1988):
Differences between CBA/H and NZB mice on intermale aggression. II. Maternal effects.
Behav.Genet. **18**, 175-184
- ROWSON, L.E.A. (1970):
The evidence for luteolysin.
Br.med.Bull. **26**, 14-16.
- RUPP, G. (1983):
Klinische Applikationsmöglichkeiten der Fibrinklebung im Bereich der Haut .
Hämostaseologie **3**, 40-43.

- SHAFFER, C.F. UND HULKA, J.F. (1969):
Ovarian transplantation Graft-host interactions in corneal encapsulated homografts.
Am.J.Obst.Gynec. **103**, 78-85.
- SCHEELE, J. (1982):
Klinische Erfahrungen mit der Fibrinklebung an parenchymatösen Oberbauchorganen.
Akt.Chir. **17**, 153-161.
- SCHEELE, J.; GENTSCH, H.H. UND MATTESON, E. (1984):
Splenic repair by fibrin tissue adhesive and collagen fleece.
Surgery **95**, 6-13.
- SCHEIDEL, P.; WENDT, T.G. UND HEPP, H. (1985):
Heterotopic autotransplantation of ovary to prevent sequelae of ionizing radiation to pelvis.
Arch.Gynecol. **237**(Suppl.), 87.
- SCHERER, M.; ASCHERL, R.; STEMBERGER, A.; SCHMELLER, M.-L. UND BLÜMEL, G. (1984):
Kann eine niedrige Applikationstemperatur des Fibrinklebers die Wundheilung im
Gastrointestinalbereich stören?
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- SCHMIDT, F.L.; MILLER, R.L.; PETERSON, T. UND SORET, M.G. (1976):
A microsurgical technique for orthotopic ovarian transplantation in the chinese hamster.
Surgery **80**, 595-600.
- SCHOCHET, S.S. (1920):
The physioplogy of ovulation.
Surg.Gyn.Obstet. **31**, 148.
- SCHRAMM, W.; FRIESEN, H.G.; ROBERTSON, H.A. UND McCracken, J.A. (1984):
Effect of exogenous ovine placental lactogen on luteolysis induced by prostaglandin F-2 alpha in sheep.
J.Reprod.Fertil. **70**, 557-565.
- SCOTT, J.R.; KEYE, W.R.; POULSON, A.M. UND REYNOLDS, W.A. (1981):
Microsurgical ovarian transplantation in the primate.
Fertil.Steril. **36**, 512-515.
- SCOTT, J.R.; HENDRICKSON, M.; LASH, S. UND SHELBY, J. (1987):
Pregnancy after tubo-ovarian transplantation.
Obstet.Gynecol. **70**, 229-234.
- SEARLE, A.G. (1968):
Comparativ genetics of coat colour in mammals.
Logo Press Academic Press, London.
- SEELICH, T. UND REDL, H. (1984):
Applikationstechniken.
In: SCHEELE, J.(Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- SEIFERT, H., REIßMANN, M. UND WUSCHKO, S. (1991a):
Erste Ergebnisse aus einer Zwergziegenpopulation zur Reproduktionsleistung sowie begleitender
Untersuchungen zur Körper- und Herzmassenentwicklung.
Wiss.Zeitschrift d.Humboldt-Univ.zu Berlin,R. Agrarwiss. **40**, 21-28.
- SEIFERT, H., REIßMANN, M. UND WUSCHKO, S. (1991b):
Persönliche Mitteilung.
- SELLER, M.J. (1966):
Donor haemoglobin in anaemic mice of the W-series transplanted with haematopoietic tissue from an
unrelated donor.
Nature **212**, 81-82.

- SELLER, M.J. UND POLANI, P.E. (1966):
Experimental chimerism in a genetic defect in the house mouse *Mus musculus*.
Nature **212**, 80-81.
- SERKE, T. (1990):
Persönliche Mitteilung.
- SHAPIRO, B.H.; GOLDMAN, A.S. UND GUSTAFSSON, J.A. (1975):
Masculine-like hypothalamic -pituitary axis in the androgen-insensitive genetically male rat pseudohermaphrodite.
Endocrinology **97**, 487-497.
- SILVERSTEIN, A.M.; PRENDERGAST, R.A. UND KRANER, K.L. (1963a):
Homograftrejection in fetal lamb: The role of circulating antibody.
Science **142**, 1172-1173.
- SILVERSTEIN, A.M.; UHR, J.W. UND KRANER, K.L. (1963b):
Fetal response to antigenic stimulus.
J.Exp.Med. **117**, 799-812.
- SILVERSTEIN, A.M. UND PRENDERGAST, R.A. (1970):
Lymphogenesis, immunogenesis and the generation of immunologic diversity.
In: STERZL, J. UND RHIA, I. (Hrsg.): Developmental aspects of antibody formation and structure. Acad.Publ.House of Czech.Acad.Sci.Prague.
- SIMPSON, T.J. UND GLOBUS, M.S. (1985):
In utero fetal hematopoietic stem cell transplantation.
Semin.Perinatol. **9**, 68-74.
- SLEE, J. (1963):
Immunological tolerance between litter-mates in sheep.
Nature **200**, 654-656.
- SOPELAK, V.M. UND BUTCHER, R.L. (1982):
Contribution of the ovary versus hypothalamus-pituitary to termination of estrous cycles in aging rats using ovarian transplants.
Biol.Reprod. **27**, 29-37.
- STAINDL, O. (1982):
The fibrin - adhesive - system in plastic surgery of head and neck.
J.Haed and Neck Pathol. **3**, 78-85.
- STAINDL, O. (1983):
Defektversorgung im Bereich des Nasenrückens und des Nasen - Augen - Winkels.
Laryng.Rhinol.Otol. **62**, 6-18.
- STEINACH, E. (1920):
Verjüngung durch experimentelle Neubelebung der alternden Pubertätsdrüsen.
Arch.Ent.mech. **46**, 557-626.
- STEMBERGER, A. UND BLÜMEL, G. (1984):
Theoretische Aspekte der Fibrinklebetechnik.
In: SCHEELE, J. (Hrsg.): Fibrinklebung. Springer, Berlin.
- STEVENS, L.C. (1955):
Survival of ovarian grafts in castrate and unilaterally ovariectomized female mice.
Trans.Bull. **2**, 45-46.
- STEVENS, L.C. (1957):
A modification of Robertson's Technique of homoiotopic ovariantransplantation in mice.
Trans.Bull. **4**, 106-107.

- STEVENS, L.C.; RUSSEL, E.S. UND SOUTHARD, J.L. (1957):
Evidence on inheritance of muscular dystrophy in an inbred strain of mice using ovarian transplantation.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. **95**, 161-164.
- STORB, R. (1989):
Graft rejection and graft-versus-host disease in marrow transplantation.
Transplant.Proc. **21**, 2915-2918.
- TAKETO, T.; MERCHANT-LARIOS, H. UND KOIDO, S.S. (1984):
Induction of testicular differentiation in fetal mouse ovary by transplantation into adult male mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. **176**, 148-153.
- TAKETO-HOSOTANI, T.; MERCHANT-LARIOS, H.; THAU, R.B. UND KOIDE, S.S. (1985):
Testicular cell differentiation in fetal mouse ovaries following transplantation into adult male mice.
J.Exp.Zool. **236**, 229-237.
- TAKETO-HOSOTANI, T. (1987):
Factors involved in the testicular development from fetal mouse ovaries following transplantation.
J.Exp.Zool. **241**, 95-100.
- TAKETO-HOSOTANI, T.; NISHIOKA, Y.; NAGAMINE, C.M.; VILLAPANDO, I. UND MERCHANT-LARIOS, H. (1989):
Development and fertility of ovaries in the B6.Y DOM sex-reversed female mouse.
Development **107**, 95-105.
- TALAMANTES, F.; GUZMAN, R. UND LOPEZ, J. (1977):
Intraocular ovarian isografts in male mice and their response to human placental lactogen.
J.Endocr. **75**, 333-334.
- TAMURA, Y. (1927):
The effects of implantation upon ovarian grafts in the male mouse.
Proc.Roy.Soc.Edinburgh **47**, 148-164.
- TELFER, E.; TORRANCE, C. UND GOSDEN, R.G. (1990):
Morphological study of cultured preantral ovarian follicles of mice after transplantation under the kidney capsule.
J.Reprod.Fert. **89**, 565-571.
- THOMAS, E.D. UND STORB, R. (1970):
Technique for human marrow grafting.
Blood **36**, 507-515.
- THOREK, M. (1930):
The practicability of ovarian (auto-,homo- and hetero-) transplantation (with histologic proof).
Endocrinology **14**, 265-281.
- TORREY, T.W. (1950):
Intraocular grafts of embryonic gonads of the rat.
J.Exp.Zool. **115**, 37-58.
- UILENBROEK, J.T.J.; TILLER, R.; DE JONG, F.H. UND VELLS, F. (1978):
Specific suppression of follicle-stimulating hormone secretion in gonadectomized male and female rats with intrasplenic ovarian transplants.
J.Endocr. **78**, 399-406.
- VAN DER SCHOOT, P. (1973):
Cyclical activity of ovarian transplants in neonatally castrated male rats.
J.Reprod.Fertil. **35**, 581-582.

- VAN VLASSELAER, P. UND VANDEPUTTE, M. (1985):
Suppression of cellular immune reactions by rat ovarian cells.
Transplantation **39**, 541-547.
- VEPRINTSEV, B.N. UND ROTT, N. (1979):
Conserving genetic resources of animal species.
Nature **280**, 633-634.
- VON FELLEBERG, R. (1978):
Pareys Studentexte 20: Kompendium der allgemeinen Immunologie.
Verlag P. Parey, Berlin.
- VON THEOBALD, P.; ROFFE, J.L.; BERROCAL, J.; LE-PORRIER, M. UND MULLER, G. (1987):
Autotransplantation ovarienne heterotopique chez la femme.
Presse Med. **16**, 1239-1241.
- VORONOFF, S. (1925):
Organüberpflanzung und ihre praktische Verwertung beim Haustier.
Leipzig 1925.
- WAGEMAKER, G.; VRIESENDORP, H.M. UND VAN BEKKUM, D.W. (1981):
Successful bone marrow transplantation across major histocompatibility barriers in rhesus monkey.
Transplant.Proc. **13**, 875-880.
- WATANABE, G.; TAYA, K. UND SASAMOTO, S. (1985):
Induction of selective release of FSH in castrated male rats bearing an ovarian transplant by the administration of human chorionic gonadotrophin.
J.Endocr. **106**, 31-36.
- WEBER, F. (1927):
Ovarialtransplantation bei Ratten
Zeitsch.indu.Abst.Vererb.Lehre **43**, 390-391.
- WELLS, J.R.; SULLIVAN, A. UND CLINE, M.J. (1979):
A technique for separation and cryopreservation of myeloid stem cells from human bone marrow.
Cryobiology **16**, 201-210.
- WELSCHEN, R. (1970):
Compensatory ovarian growth and compensatory ovulation after unilateral ovariectomy in rats with an ovarian autograft in the region of the portal vein.
Acta Endocrinol. **65**, 509-516.
- WELSCHEN, R. (1971):
Corpora lutea atretica in ovarian grafts.
J.Endocr. **49**, 693-694.
- WIESNER, B.P. (1923):
Die Funktionsfähigkeit autophor transplantierter Ovarien bei Ratten.
Arch.mikrosk.Anat.und Entw.mech. **99**, 140-148.
- WILDT, D.E.; MONFORT, S.L.; DONOGHUE, A.M.; JOHNSTON, L.A. UND HOWARD, J. (1992):
Embryogenesis in conservation biology - or, how to make an endangered species embryo.
Theriogenology **37**, 161-183.
- WINSTON, R.M.L. UND McCLURE BROWNE, J.C. (1974):
Pregnancy following autograft transplantation of fallopian tube and ovary in the rabbit.
Lancet **2**, 494-495.

WJASOW, O.J. UND BARABANOW, W.M. (1978):

Grundlagen der Immunembryologie.

Gustav Fischer, Jena.

WOLFF, H. UND WINKLER, H. (1988):

Die Leber- und Leberteiltransplantation.

Wiss.Zschr. HUB, R. Medizin. **37**, 289-299.

WOOD-GUSH, D.G.M. UND GILBERT, A.B. (1970):

The nesting behaviour of hens with ovarian transplants.

Anim.Behav. **18**, 52-54.

ZANJANI, E.D.; LIM, G.; McGLAVE, P.B.; CLAPP, J.F.; MANN, L.I.; NORWOOD, T.H. UND STAMATOYANNOPOULOS, G. (1982):

Adult haematopoietic cells transplanted to sheep foetuses continue to produce adult globins.

Nature **295**, 244-246.

ZINDEL-GRUNDER, S. (1981):

Verhinderung von unerwünschten Kastrationsfolgen bei der Hündin durch Transplantation von autologem Ovargewebe.

Vet.-med. Diss. Gysin-Druck Zürich.

Danksagung

Für die Überlassung des interessanten Themas sowie die gewährte Unterstützung möchte ich mich sehr herzlich bei Prof. Dr. habil. R. Berg bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Prof. Dr. sc. Ch. Pitra, PD. Dr. habil. med. vet. D. Draehmpaehl und Herrn Dr. med vet. G. Kehnscherper für die umfangreiche Hilfe bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit sowie der Firma Arno Schnorrenberg und Frau Reinsch.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei OA Dr. sc. R. Bollmann und Herrn Facharzt A. Möckel für die intensive Unterstützung bei den sonographischen Untersuchungen.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. sc. H. Seifert und seinen Mitarbeitern für die Bereitstellung der Afrikanischen Zwergziegen, bei Prof. Dr. sc. G. Matthes für die großzügige Überlassung des Fibrinklebers, bei Frau Richter für die Anfertigung der Grafiken und bei Frau Schütz sowie Frau Kaminsky für die Herstellung der histologischen Präparate.

Abschließend möchte ich mich bei den Mitarbeitern aus der Experimentellen Chirurgie der Charité' ganz herzlich für die sehr intensive Unterstützung bei den Operationen bedanken.

Erklärung

Ich versichere, daß ich die vorgelegte Arbeit selbst und ohne fremde Hilfe verfaßt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Die vorgelegte Arbeit wird erstmalig und nur an der Freien Universität Berlin eingereicht.

Berlin, den

Thomas Hildebrandt