

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Makroskopische, lichtmikroskopische und ultrastrukturelle
Charakterisierung der Placenta fetalis des Asiatischen Elefanten
(*Elephas maximus*)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Shenja Loderstedt
aus Aschersleben

Leipzig, 2009

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies

Betreuer: Prof. Dr. Johannes Seeger

Gutachter: Prof. Dr. Johannes Seeger, Veterinär-Anatomisches Institut, Leipzig

Prof. Dr. Axel Sobiraj, Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik, Leipzig

Prof. Dr. Axel Wehrend, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie, Giessen

Tag der Verteidigung 07. April 2009

Gewidmet den Frauen meiner Familie.

1	Einleitung	- 1 -
2	Literaturübersicht	- 3 -
2.1	ALLGEMEINE PLAZENTAMORPHOLOGIE UND KLASSIFIZIERUNG.....	- 3 -
2.2	PLAZENTA DER ELEFANTEN.....	- 5 -
2.2.1	<i>Plazenta des Asiatischen und Afrikanischen Elefanten</i>	- 5 -
2.2.2	<i>Makroskopische Charakterisierung</i>	- 6 -
2.2.3	<i>Histologische Charakterisierung</i>	- 9 -
2.2.3.1	Trophoblast und Plazentalabyrinth.....	- 9 -
2.2.3.2	Paraplazentares Allantochorion	- 12 -
2.2.3.3	„Haemophagous Zone“	- 12 -
2.2.3.4	Pigment	- 13 -
2.2.4	<i>Ultrastrukturelle Charakterisierung</i>	- 13 -
2.2.4.1	Elektronenmikroskopie.....	- 13 -
2.2.5	<i>Histochemische und immunhistochemische Charakterisierung</i>	- 15 -
2.2.6	<i>Implantation und Plazentaentwicklung</i>	- 16 -
2.2.6.1	Anatomie des Uterus	- 16 -
2.2.6.2	Implantation	- 16 -
2.2.6.3	Entwicklung und weitere Differenzierung der Plazenta	- 18 -
2.3	VERWANDTSCHAFTLICHE BEZIEHUNGEN DER ELEFANTEN ZU ANDEREN SÄUGERN UND VERGLEICHENDE BETRACHTUNGEN DER ELEFANTENPLAZENTA ZU ANDEREN SÄUGERPLAZENTEN.....	- 20 -
2.4	HUMANES CHORION-GONADOTROPIN (HCG)	- 25 -
2.5	PLAZENTARE ALKALISCHE PHOSPHATASE (PLAP)	- 26 -
3	Tiere, Material und Methoden.....	- 27 -
3.1	TIERE UND MATERIAL	- 27 -
3.1.1	<i>Plazenten</i>	- 27 -
3.1.2	<i>Angaben zur Trächtigkeit, Geburt, Neugeborenen und Plazenta</i>	- 28 -
3.1.3	<i>Probenauswahl</i>	- 28 -
3.2	METHODEN	- 29 -
3.2.1	<i>Makroskopische Untersuchungen</i>	- 29 -
3.2.2	<i>Lichtmikroskopische Untersuchungen</i>	- 29 -
3.2.3	<i>Immunhistochemische Untersuchungen</i>	- 30 -
3.2.3.1	Auswertung der Immunhistochemie.....	- 31 -
3.2.4	<i>Elektronenmikroskopische Untersuchung</i>	- 32 -
3.2.4.1	Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	- 32 -
3.2.4.2	Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	- 33 -
4	Ergebnisse	- 34 -
4.1	ANGABEN ZUR GEBURT	- 34 -
4.2	ALLANTOIS	- 35 -
4.2.1	<i>Makroskopische Ergebnisse</i>	- 35 -
4.2.2	<i>Lichtmikroskopische Ergebnisse</i>	- 38 -
4.2.3	<i>Elektronenmikroskopische Ergebnisse</i>	- 42 -
4.2.4	<i>Zusammenfassung der Befunde</i>	- 49 -
4.3	AMNION.....	- 50 -
4.3.1	<i>Makroskopische Ergebnisse</i>	- 50 -
4.3.2	<i>Lichtmikroskopie</i>	- 50 -
4.3.3	<i>Elektronenmikroskopische Ergebnisse</i>	- 51 -
4.3.4	<i>Zusammenfassung der Befunde</i>	- 52 -
4.4	PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION	- 59 -
4.4.1	<i>Makroskopische Untersuchungen</i>	- 59 -
4.4.2	<i>Lichtmikroskopische Ergebnisse</i>	- 61 -
4.4.3	<i>Elektronenmikroskopische Ergebnisse</i>	- 71 -
4.4.4	<i>Zusammenfassung der Befunde</i>	- 72 -
4.5	PLAZENTARES ALLANTOCHORION (GÜRTEL)	- 75 -
4.5.1	<i>Makroskopische Ergebnisse</i>	- 75 -
4.5.2	<i>Lichtmikroskopischen Ergebnisse</i>	- 76 -
4.5.3	<i>Elektronenmikroskopische Ergebnisse</i>	- 81 -
4.5.4	<i>Zusammenfassung der Befunde</i>	- 87 -
4.6	EXTRAVASATZONE (EVZ)	- 88 -
4.6.1	<i>Makroskopische Ergebnisse</i>	- 88 -
4.6.2	<i>Lichtmikroskopische Ergebnisse</i>	- 89 -
4.6.3	<i>Elektronenmikroskopische Ergebnisse</i>	- 90 -
4.6.4	<i>Zusammenfassung der Befunde</i>	- 90 -

4.7	IMMUNHISTOCHEMISCHE ERGEBNISSE.....	- 94 -
5	Diskussion	- 103 -
5.1	ZIEL DER ARBEIT	- 103 -
5.2	KRITISCHE BEURTEILUNG DES PROBENMATERIALS UND DER METHODEN.....	- 103 -
5.3	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	- 105 -
5.3.1	<i>Makroskopische Beurteilung der Plazenta des Asiatischen Elefanten.....</i>	<i>- 105 -</i>
5.3.2	<i>Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung der inneren Fruchthüllen.....</i>	<i>- 108 -</i>
5.3.3	<i>Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung des paraplazentaren Allantochorions -</i>	<i>111</i>
	-	
5.3.4	<i>Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung des plazentaren Allantochorions</i>	<i>- 113 -</i>
5.3.5	<i>Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung der Extravasatzone (EVZ).....</i>	<i>- 116 -</i>
5.3.6	<i>Beurteilung der immunhistochemischen Ergebnisse</i>	<i>- 118 -</i>
6	Zusammenfassung	- 123 -
7	Summary	- 125 -

Bibliographie	I
Anhang	VIII
Abbildungsverzeichnis	XII
Tabellenverzeichnis	XVII

Liste der verwendeten Abkürzungen

A.	Arteria
Aa.	Arteriae
Ag	Antigen
AK	Antikörper
All	Allantois
All-Chr	Allantochorion
BG	Bindegewebe
Chr	Chorion
CP	Chorionpustel, chorionseitige granuläre bis plaqueartige Auflagerungen
CS	Chorionsepte
CZ	Chorionzotte
DIC	Differentieller Interferenzkontrast
EVZ	Extravasatzone
EZ	Endothelzelle
fBG	fetales Bindegewebe
fKap	fetale Kapillare
FZ	Fibrozyt
GA	Glutardialdehyd
hCG	humanes Choriongonadotropin
mG	maternales Gefäß
HE	Hämatoxylin - Eosin
mKap	maternale Kapillare
p.p.	Post partum
PAS	Periodic-Acid-Schiff-Reaction
PBS	Phosphate buffered saline; Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
PFA	Paraformaldehyd
PLAP	Plazentare alkalische Phosphatase
REM	Rasterelektronenmikroskopie
TB	Trophoblast
TBL	Trophoblastlamelle
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
V.	Vena
WWF	World Wide Fund For Nature

ZK Zellkern

1 Einleitung

Zur Ordnung der Proboscidae gehören der Asiatische Elefant (*Elephas maximus*) und der Afrikanische Elefant (*Loxodonta africana*). Die Weltnaturschutzunion (IUCN) klassifiziert den Afrikanischen Elefanten als gefährdet und schätzt die Zahl der in freier Wildbahn lebenden Tiere auf 400.000 bis 660.000. Der Wildbestand des Asiatischen Elefanten wird auf 25.000 bis 32.000 Tiere geschätzt und als stark gefährdet eingestuft (WWF FACHBEREICH BIODIVERSITÄT u. HOMES 2006).

Methoden zum organisierten Arterhalt gewinnen unter Betrachtung der Bestandszahlen zunehmend an Bedeutung. Erfolgreiche Reproduktionsmedizin kann nur auf Basis wissenschaftlich fundierter Kenntnisse über Physiologie und Pathophysiologie der Trächtigkeit erfolgen. Für die Beschreibung funktioneller Aspekte sind morphologisch-strukturelle Erkenntnisse grundlegend notwendig. Die Plazenta stellt ein hochkomplexes Organ des Stoffaustausches und Stoffwechsels zur Versorgung der Frucht dar. In der internationalen Fachliteratur sind gegenwärtig nur sehr wenige, vereinzelte Beschreibungen zur Plazenta des Elefanten zu finden. Ein Grund hierfür liegt in der schwierigen Bereitstellung des Untersuchungsmaterials. Ein Großteil der bisherigen Forschungsergebnisse beziehen sich auf den Afrikanischen Elefanten. Aufgrund von wissenschaftlich begründeten und gut organisierten „Culling programmes“ waren systematische Untersuchungen von Plazenten unterschiedlicher Entwicklungsstufen möglich (AMOROSO u. PERRY 1964, ALLEN et al. 2002, ALLEN et al. 2003b, ALLEN et al. 2005, WOODING et al. 2005). Im Rahmen der Programme wurden in afrikanischen Nationalparks ausgewählte Elefantenherden in ihrer Gesamtheit zum Zweck der wissenschaftlichen Bestandsregulierung getötet.

Eine licht- und ultrastrukturelle Untersuchung physiologisch ausgetragener Plazenten von gesunden, vitalen Elefantenkälbern liegt weder für den Afrikanischen, noch für den Asiatischen Elefanten vor. Detaillierte Beschreibungen der Feinstruktur und funktionellen Morphologie der Plazenta des Asiatischen Elefanten wurden bisher noch nicht publiziert.

Ziel dieser Dissertation war die erstmalige, systematisch vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung und Charakterisierung der unter physiologischen Bedingungen ausgetragenen Placenta fetalis gesunder Kälber des Asiatischen Elefanten (*Elephas maximus*). Die licht- und elektronenmikroskopische Charakterisierung der fetalen Fruchthüllen von vier Plazenten des Asiatischen Elefanten erfolgte von 2003 bis 2007.

Des Weiteren wurden immunhistochemische Analysen ausgewählter Anteile der fetalen Eihüllen des Asiatischen Elefanten durchgeführt.

Zielstellung der lichtmikroskopischen, ultrastrukturellen und immunhistochemischen Untersuchungen war:

Die makroskopische Beschreibung und Dokumentation der ausgetragenen Placenta fetalıs des Asiatischen Elefanten

Die vergleichende licht- und ultrastrukturelle Analyse der Morphologie des gesamten Chorions, unter besonderer Berücksichtigung funktioneller Aspekte

Die vergleichende licht- und ultrastrukturelle Analyse der inneren Fruchthüllen, Amnion und Allantois

Die immunhistologische Untersuchung von mit Formalin fixiertem Plazentagewebe und immunhistochemischer Nachweises von plazentarem Gonadotropin

2 Literaturübersicht

2.1 Allgemeine Plazentamorphologie und Klassifizierung

Mit dem Begriff „Placenta“ beschrieb erstmalig Realdus Columbus (1516-1559) (PSCHYREMBEL 1998) die menschliche Plazenta als kreisrundes, kuchenartiges Gebilde residualen Materials. Im Laufe der Jahrhunderte wurde der Begriff Plazenta auch in der Veterinärmedizin etabliert. Die Plazenta umfasst das Austauschorgan zwischen dem Embryo bzw. Fetus und dem maternalen Organismus, der Gebärmutter (Uterus).

MOSSMAN (1937) definierte die Plazenta als „jede Art der innigen Apposition oder Fusion von fetalem mit maternalem Gewebe zum Zwecke des physiologischen Stoffaustauschs“. Die Plazenta besteht somit aus einem fetalen Anteil (Placenta fetal) und einem maternalen Anteil (Placenta materna) (VON BAER 1828, MOSSMAN 1937, MOSSMANN 1987, FINN et al. 1994, SCHNORR u. KRESSIN 2006). Die Placenta materna geht aus dem, sich in der präimplantativen Phase proliferierenden, Mesoderm des Müller-Ganges abstammenden Endometrium hervor (WOODING u. FLINT 1994, SCHNORR u. KRESSIN 2006). Die Placenta fetal leitet sich dagegen vom ektodermalen Trophoblastepithel (primäres Chorion) ab, welches durch die Blastozyste gebildet wird (STARK 1965, FINN et al. 1994, SCHNORR u. KRESSIN 2006). Die frühe Bildung des Mesoderms, des Dottersackes und der Allantois führen zu einer Fusion des Ektoderms mit dem parietalen Blatt des lateralen Mesoderms (sekundäres Chorion) und der Allantois (tertiäres Chorion). Die Vereinigung des Chorions mit den Membranen des Dottersackes führt zur Bildung einer choriovitellinen Plazenta, die Vereinigung mit der Allantois zur chorioallantoiden Plazenta. An der Bildung des funktionsfähigen, tertiären Chorions sind somit Anteile aller drei Keimblätter beteiligt (FINN et al. 1994, SCHNORR u. KRESSIN 2006).

Aufgrund der großen Unterschiede der strukturellen und funktionellen Ausbildung der Plazenten der Ordnungen und Arten der Säugetiere sowie der Innigkeit der fetomaternalen Verbindung ist eine einheitliche Klassifikation der Plazenten nicht möglich.

Eine grundlegende Typisierung der Plazenten erfolgte anhand der beteiligten Embryonalhüllen. Die Plazenten wurden in Placenta chorioallantoica, Placenta choriovitellina, Placenta chorionica (AMOROSO 1952) und Placenta chorioamniotica (SCHNORR u. KRESSIN 2006) eingeteilt.

Die Placenta chorioallantoica (Allantoisplazenta) ist als „ein Teil des durch Allantoisgefäße vaskularisierten Chorions definiert, welches mit der Uterusschleimhaut eng verbunden oder

verwachsen ist und als Ort des physiologischen Stoffaustausches dient“ (FRANKLIN 1944, AMOROSO 1952, SCHNORR u. KRESSIN 2006).

Die Struktur der Chorionoberfläche der geburtsreifen Plazenta ist ein morphologisch-deskriptives Einteilungskriterium. So wird zwischen einer Placenta diffusa (completa/incompleta), Placenta multiplex s. cotyledonaria, Placenta zonaria und Placenta discoidalis (AMOROSO 1952, AMOROSO 1959, SCHNORR u. KRESSIN 2006) unterschieden. Funktionelle Aspekte werden hierbei nicht berücksichtigt (WISLOCKI 1929, MOSSMAN 1937, WOODING u. FLINT 1994). Verallgemeinerungen zur Plazentamorphologie der Ordnungen oder Familien können nur bedingt getroffen werden. So bilden Wiederkäuer in der Regel eine Placenta multiplex, Fleischfresser eine Placenta zonaria, Unpaarhufer eine Placenta diffusa aus (SCHNORR u. KRESSIN 2006). Dagegen besitzt der Braunbär eine Placenta discoidalis (STARK 1965, WOODING u. FLINT 1994), das Kamel eine Placenta diffusa (AMOROSO 1952) und der Elefant eine Placenta zonaria (ASSHETON u. STEVENS 1905, ASSHETON 1906, FINN et al. 1994).

Eine Hauptfunktion der Plazenta ist es, den Stoffaustausch zwischen fetalem und maternalem Blut zu gewährleisten. Über die Plazenta vollzieht sich aber auch der Gasaustausch. Sie ist befähigt, Hormone zu bilden und besitzt immunologische Funktionen (SCHNORR u. KRESSIN 2006). Eine Klassifizierung der Plazenta aus funktioneller Sicht, unter Berücksichtigung der Gewebeschichten zwischen den beiden Zirkulationssystemen, wurde erstmals von GROSSER (1909, 1927) beschrieben und von MOSSMAN (1937) und Enders (1965) modifiziert (vergleiche SCHNORR u. KRESSIN 2006). Die histologische Beschreibung von GROSSER (1927) bezieht sich auf den Kontakt der maternalen Grenzschicht (maternales Epithel, maternales Bindegewebe, maternales Endothel) mit dem fetalen Chorion (Trophoblast). Aus dieser histologischen Klassifizierung ergeben sich vier Kategorien: Placenta epitheliochorialis, Placenta syndesmochorialis, Placenta endotheliochorialis und Placenta haemochorialis (MICHEL 1986, FINN et al. 1994). Die Placenta syndesmochorialis, als Übergangsform zur deziduat Plazenta, wurde aufgrund lichtmikroskopischer Befunde in der Vergangenheit als Plazentaform von Schaf und Ziege klassifiziert. Elektronenmikroskopische Untersuchungen konnten jedoch eine Reorganisation und den vollständigen Funktionserhalt eines synzytialen Uterusepithels nachweisen. Die Placenta syndesmochorialis wird deshalb aus funktioneller Sicht heute als Placenta epitheliochorialis klassifiziert (MOSSMAN 1937, MOSSMANN 1987, SCHNORR u. KRESSIN 2006). Eine Placenta endothelioendothelialis und eine Placenta

haemoendothelialis, die durch Verlust des Chorions entstehen sollen, konnten durch elektronenmikroskopische Untersuchungen nicht bestäetigt werden (FINN et al. 1994).

STRAHL (1906) teilte die Säugerplazenten nach dem Verlust maternalen Gewebes während der Geburt in Halbplazenten (Semiplacenta) und in Vollplazenten (Placenta vera) ein.

Andere Einteilungen, basierend auf verschiedenen Einzelkriterien, haben sich in der Praxis als nicht hinreichend sinnvoll und wissenschaftlich korrekt erwiesen. Vielmehr werden aktuell verschiedene Klassifikationen parallel verwendet, um die Plazenten unter Einbeziehung verschiedener Kriterien genau beschreiben zu können.

Tab. 1 Klassifikationsmöglichkeiten der Plazenten (modifiziert nach AMOROSO 1952, FINN et al. 1994, SCHNORR u. KRESSIN 2006)

Äußere Form	Strahl (1906)	Verlust maternalen Gewebes unter der Geburt (Huxley's Klassifikation)	Histologische Strukturen zwischen maternalen und fetalen Gefäßen Grosser (1906, 1927)	Beispiele
Placenta diffusa (completa/incompleta)	Semiplacenta	Adeziduate Plazenta	Placenta epitheliochorialis	Perissodactyla (Unpaarhufer)
Placenta multiplex s. cotyledonaria	Semiplacenta	Transitionale Form	(Placenta syndesmochorialis)	Caprinae (Ziegenartige)
Placenta zonaria	Placenta vera	Deziduate Plazenta	Placenta endotheliochorialis	Carnivora
Placenta discoidalis	Placenta vera	Deziduate Plazenta	Placenta haemochorialis	Primates

2.2 Plazenta der Elefanten

2.2.1 Plazenta des Asiatischen und Afrikanischen Elefanten

Zur Plazenta des Asiatischen Elefanten (*Elephas maximus*) wurde nur sehr wenig publiziert. Die Charakterisierung von zwei ausgetragenen, vollständigen Plazenten des Asiatischen Elefanten wurde bisher nur durch COOPER et al. (1964) durchgeführt. Weitere Aussagen zur Morphologie der Elefantenplazenta beziehen sich fast ausschließlich auf den Afrikanischen Elefanten (*Loxodonta africana*).

BENIRSCHKE (2008) betont die große Ähnlichkeit der Plazenten beider Spezies und stellt die in der Literatur beschriebenen Unterschiede in Frage. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse von *Loxodonta africana* auf *Elephas maximus* ist bisher nicht sicher nachgewiesen. Eine vergleichende Studie der Plazenten beider Spezies erarbeiteten DAVIS und BENIRSCHKE (1991).

AMOROSO und PERRY (1964) untersuchten acht Plazenten unterschiedlicher Entwicklungsstadien von getöteten afrikanischen Elefantenkühen im Rahmen eines „Culling-programme“. PERRY (1974) beschrieb an neun Proben die Implantation und die frühe plazentare Entwicklung des Afrikanischen Elefanten. Frühere Veröffentlichungen sind in den

histologischen und anatomischen Beschreibungen nicht vollständig, beziehen sich auf Plazenten ungleichen Entwicklungsstandes, auf unvollständige Plazenten oder lediglich auf Plazentateile. Die Art der Elefanten wird in den Veröffentlichungen häufig nicht ausreichend beschrieben (OWEN 1857, CHAPMAN 1880, ASSHETON u. STEVENS 1905).

MOSSMAN (1937) beschrieb die Plazenta des Indischen Elefanten als „Gürtelplazenta mit Zottenbüscheln an beiden Enden des Chorionsackes“. Die Plazentation des Afrikanischen Elefanten wurde sehr ausführlich durch ALLEN et al. (2002, 2003b) untersucht. Dabei analysierten die Autoren speziell endokrinologische Aspekte sowie die morphologischen Veränderungen im Uterus und der Plazenta während der Trächtigkeit. Ultrastrukturelle sowie funktionelle Aspekte der Plazenta von *Loxodonta africanus* wurden von WOODING et al. (2005) dargestellt.

2.2.2 Makroskopische Charakterisierung

Wird im weiteren Text nicht ausdrücklich auf den Asiatischen oder den Afrikanischen Elefanten verwiesen, sind die Literaturangaben für beide Arten zutreffend.

Die Plazenta des Elefanten wird als groß, schwer und massig mit einem Gewicht von 8,3 kg bis 22,2 kg beschrieben (COOPER et al. 1964, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991, FLUEGGER et al. 2001). Die durchschnittliche Länge der Nabelschnur variiert beim Afrikanischen Elefanten zwischen 65 cm (DAVIS u. BENIRSCHKE 1991) und 170 cm (SOMA u. KAWAKAMI 1991). Mossman (1987) beschrieb eine kurze Nabelschnur beim Elefanten ohne eine Länge anzugeben. BENIRSCHKE (2008) konnte diese Befunde nicht bestätigen. Der Nabelstrang schließt auf der fetalen Seite zwei Arterien, eine Vene und den Allantoisstiel ein. Jedes Gefäß hat einen Durchmesser von ca. 1 cm. Die Gefäßwände werden im Gegensatz zu Umbilikalgefäßen anderer Spezies durch zahlreiche Vasa vasorum durchzogen, ähnlich denen der Delphine (BENIRSCHKE 2008). Die Gefäße verzweigen sich in vier arteriovenöse Paare, von denen zwei Paare im Randbereichen und zwei Paare im Zentrum des Gürtels inserieren (COOPER et al. 1964, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991).

AMOROSO u. PERRY (1964) fanden beim Afrikanischen Elefanten vier Nabelstranggefäße (zwei Arterien und zwei Venen), ohne den genauen Ort der Probenentnahme zu dokumentieren. Bei der physiologischen Geburt reißt die Nabelschnur spontan und der Abgang der Plazenta findet bis zu 10 Stunden später statt (FLUEGGER et al. 2001, BENIRSCHKE 2008).

Der Elefant bildet eine Placenta zonaria et endotheliochorialis mit braungrün gefärbtem Randsaum aus (AMOROSO u. PERRY 1964, COOPER et al. 1964, LUDWIG u. BAUR 1967, PERRY 1974, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991, ALLEN et al. 2003a, ALLEN et al.

2003b). Morphologische Beschreibungen von Elefantenplazenten mit haemochorialer Struktur (MOSSMAN 1937, RAMSEY 1975) wurden von den meisten Autoren kontrovers diskutiert (COOPER et al. 1964, ALLEN et al. 2003a, ALLEN et al. 2003b, BENIRSCHKE 2008). Der Plazentagürtel der geburtsreifen Plazenta ist in seiner Ausprägung nicht regelmäßig und kann unvollständig, mehrfach gelappt oder vollständig ausgebildet sein (ASSHETON u. STEVENS 1905, AMOROSO u. PERRY 1964, COOPER et al. 1964, SOMA u. KAWAKAMI 1991). Dies resultiert aus einer vollständigen oder teilweisen Verschmelzung der drei primär vorhandenen Kontaktstellen zwischen Endometrium und Trophoblast. Das Vorkommen zottiger chorio-maternaler Kontaktstellen an den Chorionsackenden wurde erstmals durch OWEN (1857) für den Asiatischen Elefanten beschrieben. Seine Ergebnisse wurden mehrfach bestätigt (TURNER 1876, CHAPMAN 1880, ASSHETON u. STEVENS 1905, MOSSMAN 1937, MOSSMANN 1987). Die Theorie eines gemeinsamen Auftretens von Placenta zonaria und Placenta diffusa (ASSHETON u. STEVENS 1905) sowie das Vorkommen entsprechender Bereiche beim Afrikanischen Elefanten wurden nicht bestätigt (AMOROSO 1959, AMOROSO u. PERRY 1964, MOSSMANN 1987).

Die Allantois der Elefantenplazenta bildet vier miteinander kommunizierende Hohlräume und umschließt die Frucht vollständig. Die vier Gefäßpaare des Nabelstranges teilen durch ihren divergierenden Verlauf die Allantoisblase in vier ungleich große Kammern. Die eingestülpte Allantoismembran legt sich um die Abzweige des Nabelstranges und beide Membrananteile fusionieren miteinander. Diese komplexe Struktur wird beim Afrikanischen Elefanten bereits im zweiten bis dritten Trächtigkeitmonat ausgebildet (OWEN 1857, AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991, ALLEN et al. 2002, ALLEN et al. 2003b).

Die beiden größeren Allantoiskammern liegen dem Chorionäquator an und erstrecken sich über die laterale Oberfläche des Amnions. Die kraniale und kaudale Amnionoberfläche wird durch die zwei kleineren Allantoiskammern bedeckt, die sich in die jeweiligen Enden des Chorionsackes stülpen (AMOROSO u. PERRY 1964). An ihren Kontaktstellen mit dem Chorion kommt es zu einer intensiven Verschmelzung beider Anteile und zur Ausbildung der stark vaskularisierten Allantochorion-Membran. Auch in den Bereichen, an denen Amnion und Allantois in Kontakt treten, verbinden sich deren mesodermale Anteile miteinander und bilden das Allantoamnion, das im Vergleich mit dem Allantochorion wesentlich geringer vaskularisiert ist (AMOROSO u. PERRY 1964). Abweichende Angaben finden sich bei

KAWAKAMI 1991) beschrieben. Die Allantoisbildungen sind vor allem unterhalb des Plazentagürtels und entlang der Gefäße am Allantochorion zu finden. Sie bestehen zum größten Teil aus feinen Fasern (TURNER 1876). Beim Afrikanischen Elefanten treten verschieden große, pendelnde „Polypen“, mit einer Länge bis zu 27 cm auf (SOMA u. KAWAKAMI 1991). Für die Entstehung der Allantoismodifikationen geben AMOROSO u. PERRY (1964) zwei Erklärungsmöglichkeiten. Zum einen gehen sie von einer Spezialisierung der Adventitia der plazentaren Gefäße aus, zum anderen gleichen sich die Fibrozyten der „allantoic bodies“ mit denen des mesodermalen Bindegewebes und können so aus diesem hervorgegangen sein. Die Allantoisbildungen besitzen ein kubisches Epithel. Blutgefäße finden sich nur im basalen Bereich (AMOROSO u. PERRY 1964). TURNER (1876) verglich die Strukturen in der Allantois mit jenen bei der Stute, die sich zu Hippomanes entwickeln. ASSHETON (1905) zweifelt diese Analogie an. Für die Seekuh (Florida manatee) wurden ähnliche Allantoisbildungen beschrieben (WISLOCKI 1935). Ihre Funktion ist bis heute ungeklärt.

Die Rückbildung des Dottersackes beginnt beim Elefanten sehr früh mit der Ausbildung des Mesoderms. Bei einem Fetalgewicht von zwei Gramm, das entspricht einem fetalen Alter von ca. ein bis zwei Monaten (CRAIG 1984, HILDEBRANDT et al. 2007), liegt er geschrumpft zwischen den benachbarten Allantoiskompartimenten. Bereits in diesem Entwicklungsstadium ist keine Verbindung mit dem Chorion mehr nachweisbar (AMOROSO u. PERRY 1964). Morphologisch veränderte entodermale Zellen in einem Teilbereich der Dottersackwand lassen jedoch auf einen choriovittelin Kontakt zu einem früheren Zeitpunkt, vor Ausbildung des extraembryonalen Coeloms, schließen. Der Dottersack ist im dritten Trächtigkeitsmonat (Fetalgewicht von 10 g) oder mit Beginn der Proliferation des Allantochorions vollständig obliteriert (PERRY 1974, MOSSMANN 1987, SOMA u. KAWAKAMI 1991). Ein bis zur Geburtsreife persistierender Dottersack wurde ebenfalls beschrieben (COOPER et al. 1964, BENIRSCHKE 2008)).

2.2.3 Histologische Charakterisierung

2.2.3.1 Trophoblast und Plazentalabyrinth

Zur histologischen Struktur des Trophoblasten wurden sehr unterschiedliche Ergebnisse publiziert. Die jüngsten Befunde von ALLEN et al. (2003b) und Wooding et al. (2005) für den Afrikanischen Elefanten zeigten, dass der Trophoblast während der gesamten Entwicklung vollständig und immer ganzheitlich als Zytotrophoblast ausgebildet wird. Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen belegen eine epitheliale Anordnung

des Zytotrophoblasten. Dieser grenzt an die maternalen Blutsinus. (SOMA u. KAWAKAMI 1991). Während der Trächtigkeit entstehen durch endometriale Proliferation Lamellen oder Plazentarfalten. Maternale Gefäße werden von Zytotrophoblastzellen mit unterliegendem fetalem Gefäßnetz umschlossen. Diese funktionellen Einheiten bilden die Plazentarlamellen. Im Verlauf der Trächtigkeit verliert der Zytotrophoblast an Höhe. Die fetalen Kapillaren drängen sich während der weiteren Entwicklung immer dichter an den Zytotrophoblasten, wobei der bindegewebige Lamellenstock zwischen dem Chorionepithel stark reduziert wird. Diese Entwicklung reduziert den Abstand zwischen maternalen und fetalen Kapillaren. Die Anzahl der an der Plazentaschranke beteiligten Membranen bleibt jedoch unverändert (WOODING et al. 2005).

Für den Asiatischen Elefanten beschreiben COOPER et al. (1964) ein einschichtiges, hochprismatisches Epithel. Alle weiteren Veröffentlichungen zur Elefantenplazenta berichten von einem in weiten Bereichen ausgebildeten Synzytiotrophoblasten (ASSHETON u. STEVENS 1905, ASSHETON 1906, AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974). ASSHETON u. STEVENS (1905), sowie AMOROSO u. PERRY (1964) gliedern den Plazentagürtel in drei Regionen bzw. Zonen.

Histologische Charakterisierung des Plazentagürtels in Regionen nach ASSHETON u. STEVENS (1905)

Region A: Diese ist der Allantois zugewandt und besteht aus amorphfibrösem Bindegewebe, in das Blutgefäße eingelagert sind. Die Gefäßwände sind durch eingelagerte Muskelfasern stark verbreitert. Vom fibrösen Bindegewebe der Region A gehen Faserstränge ab, die in Richtung der fetomaternalen Kontaktzone verlaufen. Einige dieser Lamellen sind von feiner, flacher Form, enden in Region B und schließen ein zartes kapilläres Netzwerk ein. Andere verlaufen bis in die Region C und besitzen dicke, plumpe Enden mit größeren Gefäßen.

Region B: Die Lamellen werden hier von einer synzytialen Gewebsschicht überzogen und grenzen an maternale Blutsinus. Diese verlaufen in Schleifen zwischen den Lamellen. Die Wände der maternalen Blutsinus entsprechen in ihrer Stärke einem Drittel des Erythrozytendurchmessers und färben sich homogen eosinophil. Die kräftig angefärbten Kerne an der Innenseite der Sinuswände ähneln in ihrem Erscheinungsbild abgeflachten, sich gegen die Gefäßwand schmiegenden Leukozyten.

Region C: Diese beschreibt den Bereich der früheren Kontaktstelle zwischen Plazenta und Uterus. Hier sind keine maternalen Blutsinus vorhanden. Die Lamellenenden mit ihrem verstärkten Bindegewebsstock erscheinen im Vergleich zu denen der Region B dick und

plump. Die größeren Gefäße liegen zentral im Bindegewebe. Das Epithel iso- bis hochprismatisch und durch deutliche Zellgrenzen charakterisiert.

Histologische Charakterisierung des Plazentagürtels in Zonen nach AMOROSO u. PERRY (1964)

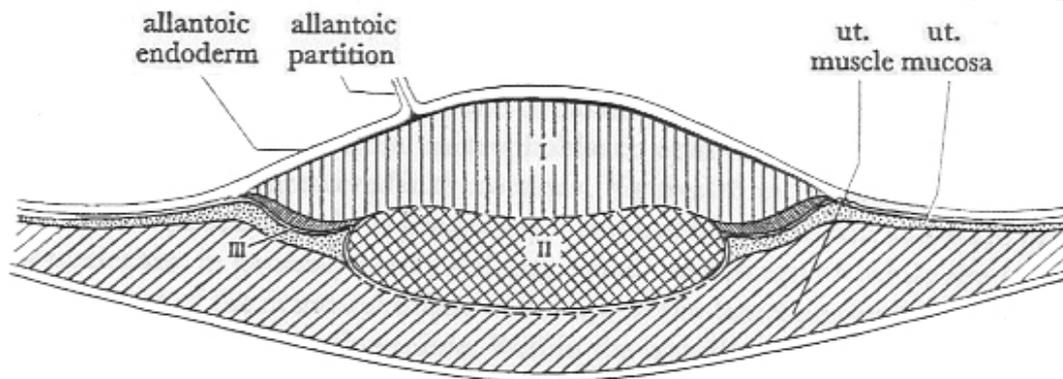


FIGURE 1. Diagrammatic transect of placental band.

Abb. 2 Zonen des Plazentagürtels (nach AMOROSO u. PERRY 1964)

Zone I: Die Synzytiotrophoblastzone erstreckt sich über die gesamte allantoisseitige Breite der Gürtelplazenta und macht den größten Anteil des Plazentarlabrynth aus. Sie besteht aus Lamellen mit einem synzytialen Trophoblast, der übergangslos in die zellulären Zonen II und III übergeht. Die Lamellen umschließen gewundene maternale Kapillaren. An die Zone I angrenzend, dem Uterus zugewandt befindet sich der basale Zytotrophoblast, die Zone II.

Zone II: Die Trophoblastzellen in der Zone II, basale Zytotrophoblastzone, sind phagozytotisch aktiv und besitzen eine variable Morphologie. Sie befinden sich an den proliferativen Spitzen der synzytialen Lamellen. Tiefer in der dem Endometrium zugewandten Zone, „junctional s. necrotic zone“, besitzen die Lamellen einen stumpfen, blätterförmigen Charakter mit einem kräftigen, stark vaskularisierten Bindegewebsstock.

Zone III: Die Zone des Grenzzytotrophoblasten erstreckt sich vom Rand des Gürtels unterschiedlich weit zentral unter Zone I. Der Zytotrophoblast geht wie in der Zone II kontinuierlich in den Synzytiotrophoblast der Zone I über. Auf der maternalen Seite umschließt er Lakunen, die mit mütterlichem Blut gefüllt sind und der histiotrophen Ernährung des Fetus dienen.

Die synzytialen Lamellen der Elefantenplazenta verlaufen zum Zeitpunkt der Mitte der Trächtigkeit zum größten Teil parallel zueinander und senkrecht zur Chorionplatte. Sie bilden Anastomosen und verzweigen sich so stark, dass unabhängig von der Schnittebene ein vergleichbares histologisches Bild entsteht (ASSHETON u. STEVENS 1905). Die fetalen Kapillaren liegen längsorientiert in den Lamellen und unterscheiden sich durch das

Vorhandensein kernhaltiger roter Blutzellen von maternalen Gefäßen. In den Gefäßwänden der Chorionplatte und in den Zottenstämmen sind elastische Fasern zu finden, die in den Abzweigungen der Lamellen auslaufen (HOFMAN 1967). Die mit Blut gefüllten maternalen Gefäße schließen häufig eine große Anzahl Leukozyten ein. Die Schichten der maternalen Gefäßwände werden durch den Trophoblasten bis zur Basalmembran abgebaut. Der prominenten Basalmembran liegen abgeflachte Endothelzellen an. Die verdickte Basalmembran besitzt luminal eine glatte Oberfläche. Ihre dem Trophoblastepithel zugewandten Seite zeigt eine raue Oberfläche. Diese Unregelmäßigkeiten in der Oberflächenstruktur entstehen aufgrund des ständigen Abbaus durch den Trophoblasten und durch den Aufbau von neuen Basalmembrankollagenen durch das Endothel (AMOROSO u. PERRY 1964, COOPER et al. 1964).

2.2.3.2 Paraplazentares Allantochorion

Das Allantochorion außerhalb des Plazentargürtels ist nicht fest mit der Uteruswand verbunden. Die Chorionepithelzellen besitzen eine polymorphe Gestalt. Es gibt polygonale, hochprismatische bis abgeflachte Zellmorphologien, die zum Teil auch Vakuolen enthalten können. Beim Afrikanischen Elefanten finden sich außerhalb des Choriongürtels keinerlei Hinweise für eine Zottenproliferation (AMOROSO u. PERRY 1964). Dagegen wurden für den Asiatischen Elefanten Zottenbüschel an den Chorionsackenden beschrieben (OWEN 1857, CHAPMAN 1880, ASSHETON u. STEVENS 1905). Bis auf die Untersuchungen der bereits beschriebenen Allantoisbildungen, die von einem kubischen Epithel überzogen werden, war die Allantois bisher nicht Gegenstand histologischer Untersuchungen.

2.2.3.3 „Haemophagous Zone“

Im Verlauf der Plazentaentwicklung kommt es trotz eines beachtlichen lateralen Wachstums des Plazentagürtels zu keiner wesentlichen Verbreiterung des maternalen Plazentahilus, nachdem der Fetus ein Gewicht von ca. 5 - 10 kg erreicht hat. Die Labyrinthlamellen an den beiden Seitenbereichen des Gürtels beginnen sich dadurch lateral zu biegen und legen sich über die luminale Oberfläche der Uteruswand. Hierbei entsteht ein blindsackartiges Kavernensystem zwischen Endometrium und Plazentaoberfläche. In diesen lateralen Kavernen sammelt sich freies, maternales Blut. Die Epithelzellen des Endometriums sowie des Trophoblasten nehmen eine hochprismatische Form an. Die Trophoblastzellen haben ein vakuolisiertes Zytoplasma und nehmen aktiv rote Blutzellen auf. Der Austritt maternalen Blutes und die Phagozytose durch den Trophoblasten bleiben mit fortschreitender Trächtigkeit bestehen (PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b). Es kann als bewiesen angesehen

werden, dass die Einblutungen aus maternalen Plazentargefäßen stammen. Blutungen aus erodierten bzw. zerrissenen uterinen Gefäßen (wie bei den Carnivoren) können ausgeschlossen werden, da das extraplazentare Uterusepithel beim Elefanten während der gesamten Trächtigkeit intakt bleibt (AMOROSO u. PERRY 1964, ALLEN et al. 2003b). Maternale Kapillaren konnten innerhalb der Labyrinthlamellen bis zu den Lakunen verfolgt werden, mit denen sie offen in Verbindung treten. Die Blutansammlungen und deren Phagozytose durch den Trophoblasten tragen zur histiotrophen Ernährung des Fetus bei (AMOROSO u. PERRY 1964). Zum Ende der Trächtigkeit verschließen sich die maternalen Gefäße im Labyrinth, wodurch der Blutfluss in die Lakunen verringert wird. In vielen Bereichen enthalten diese zur Geburtsreife keine Blutzellen mehr (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974).

2.2.3.4 Pigment

Pigmentansammlungen sind vor allem im zentralen Bereich der Plazenta (Region B nach ASSHETON u. STEVENS 1905) lokalisiert. Diese braungelben Einschlüsse finden sich im Bindegewebe der Lamellen, in den Leukozyten und den Trophoblastzellen. Das Pigment soll eisenfrei sein (ASSHETON u. STEVENS 1905) bzw. der Eisennachweis war nur lokal positiv (BENIRSCHKE 2008). Dagegen zeigten COOPER et al (1964) beim Asiatischen Elefanten, dass der Eisennachweis in den Randbereichen der Plazenta mit der Berliner-Blau-Färbung (Prussian blue) positiv ausfällt. Ähnliche Befunde publizierten auch Wooding et al. (2005) für den Afrikanischen Elefanten. Die „Pearls Prussian Blue“ Reaktion zeigte Präzipitate in der Basalmembran des Trophoblasten in der hämophagozytären Randzone der Plazenta. Diese Ergebnisse wurden transmissionselektronenmikroskopisch gesichert. MOSSMAN (1987) vertritt die Meinung, dass die Färbung des Gewebes durch abgelagertes Biliverdin verursacht wird. Auch ASSHETON u. STEVENS (1905) verwiesen auf die Möglichkeit der Existenz eines exkretorischen Produktes als Quelle für das Pigment. In seiner Theorie spielen die Leukozyten eine vorrangige Rolle. Sie sollen das Pigment vom Synzytiotrophoblasten bzw. aus dem Lamellenstroma in die maternalen Gefäße transportieren und dort in das maternale Blut abgeben.

2.2.4 Ultrastrukturelle Charakterisierung

2.2.4.1 Elektronenmikroskopie

Die in der Literatur beschriebenen TEM - Untersuchungen wurden bisher ausschließlich an der Plazenta des Afrikanischen Elefanten durchgeführt. Befunde

rasterelektronenmikroskopischer (REM) Untersuchungen wurden bisher weder für Plazenten des Afrikanischen noch des Asiatischen Elefanten publiziert.

Der Trophoblast ist während der gesamten Trächtigkeit als Zytotrophoblast ausgebildet. Die Trophoblastzellen sind im frühen Trächtigkeitsstadium hochprismatisch und werden im Verlauf der Entwicklung in ihrer Zellhöhe unregelmäßig. In der frühen Trächtigkeit schieben sich die Zytotrophoblastzellen unter das luminale Uterusepithel und unter das Uterusdrüsenepithel. Der Zytotrophoblast phagozytiert die kondensierten, fragmentierten maternalen Epithelzellen. Der Trophoblast ersetzt so nach und nach das Uterusdrüsenepithel in entgegengesetzter Polarität. Im apikalen Zytoplasma liegen zahlreiche Mitochondrien. Im basalen Bereich dominiert das raue endoplasmatische Retikulum, das mit fortschreitender Trächtigkeit eine verstärkte Ausbildung erfährt (WOODING et al. 2005). Im Trophoblasten finden sich Phagolysosomen und Fetteinschlüsse. Zwischen den Zellwänden der Trophoblastzellen waren im apikalen Bereich zahlreiche Zell-Zell-Kontakte ausgebildet. Pseudopodien an der apikalen Zelloberfläche penetrieren mit fortschreitender Gestation die epitheliale Basallamina und dringen in das Uterusstroma vor. Im ersten Drittel der Trächtigkeit wurden maternale Kapillaren und deren Perizyten von einem lockeren Verband von Basalmembranmaterial und kollagenen Fasern umgeben. Im Verlauf der Trächtigkeit wird dieses zu einem kohärenten Verband amorphen Materials umgeformt, das fetales und maternales Gewebe innerhalb des Plazentarlabyrinths trennt (WOODING et al. 2005). Dieser Verband amorphen Materials um mütterliche Gefäßendothelien wird von anderen Autoren als stark verbreiterte Basalmembran angesprochen (WISLOCKI u. AMOROSO 1956, AMOROSO u. PERRY 1964). Schmale Trophoblastzellfortsätze penetrieren in regelmäßigen Abständen die verbreiterten Basalmembranen, ohne dass besondere Kontaktstrukturen zwischen den Trophoblastzellfortsätzen und mütterlichen Endothelien entstanden. Die Diffusionsstrecke zwischen fetalen und maternalen Kapillaren war in vielen Bereichen auf weniger als 3µm reduziert. Während der gesamten Trächtigkeit bleibt jedoch eine endotheliomonozytochoriale Grenzschicht zwischen mütterlichem und fetalem Kreislaufsystem erhalten (SOMA u. KAWAKAMI 1991, ALLEN et al. 2003b, JONES et al. 2004, WOODING et al. 2005).

Die Trophoblastzellen im Bereich der Randzone des Plazentargürtels zeigten die Fähigkeit der Erythrophagozytose. Im Bereich der Basalmembran konnten in diesen Bereichen elektronendichte Strukturen nachgewiesen werden (WOODING et al. 2005).

2.2.5 Histochemische und immunhistochemische Charakterisierung

Die ersten Angaben zu histochemischen Untersuchungen der Plazenta des Asiatischen Elefanten finden sich bei COOPER (1964). Die Autoren beschreiben das positive Färbeverhalten der Trophoblastzellen im Labyrinthbereich für alkalische Phosphatase, Adenosintriphosphatase und Succinyldehydrogenase. Die Trophoblastzellen der Randbereiche reagieren positiv auf Nachweise von saurer Phosphatase, Fetten und Eisen. Immunhistochemische Untersuchungen der Labyrinthepithelien auf humanes Choriongonadotropin (hCG) und saure Phosphatase waren beim Afrikanischen Elefanten negativ (SOMA u. KAWAKAMI 1991).

ALLEN et al. (2002) veröffentlichten eine umfangreiche Studie zum endokrinologischen Verhalten der Plazenta des Afrikanischen Elefanten. In Gefrierschnitten konnten vier Enzyme der Steroidbiosynthese immunhistochemisch nicht nachgewiesen werden. In wässrigen Homogenisaten von Plazentaprobe konnten ALLEN et al. (2002) in drei verschiedenen Testverfahren kein Gonadotropin detektieren. Ein Nachweisverfahren für das equine Choriongonadotropin (eCG) war das „amplified enzyme-linked immunoassay“ (AELIA) (URWIN u. ALLEN 1982). ALLEN et al. (2002) beschreiben eine endokrinologisch inaktive Gürtelplazenta beim Afrikanischen Elefanten.

Die funktionellen Zusammenhänge zwischen der Struktur der Fruchthüllen und ihren Transport- und Austauschprozessen in der Plazenta des Afrikanischen Elefanten wurden in der Arbeit von WOODING et al. (2005) erstmalig umfassend analysiert. Die Autoren untersuchten mit immunhistochemischen Verfahren das Vorkommen und die Verteilung des Glukose-Transporter-Proteins GLUT-1 und GLUT-3 sowie des Kalzium-Bindungs-Proteins. GLUT-1 zeigte eine apikale Verteilung in den Trophoblastzellen der Gürtelplazenta und im extraplazentaren Chorion. Mit fortschreitender Trächtigkeit zeigte sich auch eine basale Markierung. In den zur Erythrophagozytose befähigten Trophoblastzellen der lateralen Randbereiche des Plazentagürtels, sowie in Zellen endometrialen Ursprungs konnten keine GLUT-1 Proteine nachgewiesen werden. An der apikalen Oberfläche von Trophoblastzellen, die mit maternalen Basalmembranen in Kontakt stehen, war GLUT-3 nachweisbar. Der Nachweis des Kalzium-Bindungs-Proteins (9 kDa) konnte in allen Anteilen der Plazenta nicht erbracht werden. Der Einfluss von Wachstumsfaktoren (Epidermal growth factor und Insulin-like growth factor II) auf das Wachstumsverhalten der Plazenta des Afrikanischen Elefanten wurde an Proben verschiedener Entwicklungsstadien mit Hilfe der In-situ-Hybridisierung untersucht.

2.2.6 Implantation und Plazentaentwicklung

2.2.6.1 Anatomie des Uterus

Die Anatomie des weiblichen Genitaltraktes des Afrikanischen Elefanten ist mit der des Asiatischen Elefanten vergleichbar (BALKE et al. 1988). Die Elefantenkuh besitzt einen Uterus bicornis. Der Verlauf der Cornua uteri ist vergleichbar mit dem der Stute. Die Uterushörner sind ähnlich denen des Rindes über ein Ligamentum intercornuale miteinander verbunden (PERRY 1953, CRAIG 1984, ALLEN et al. 2003b).

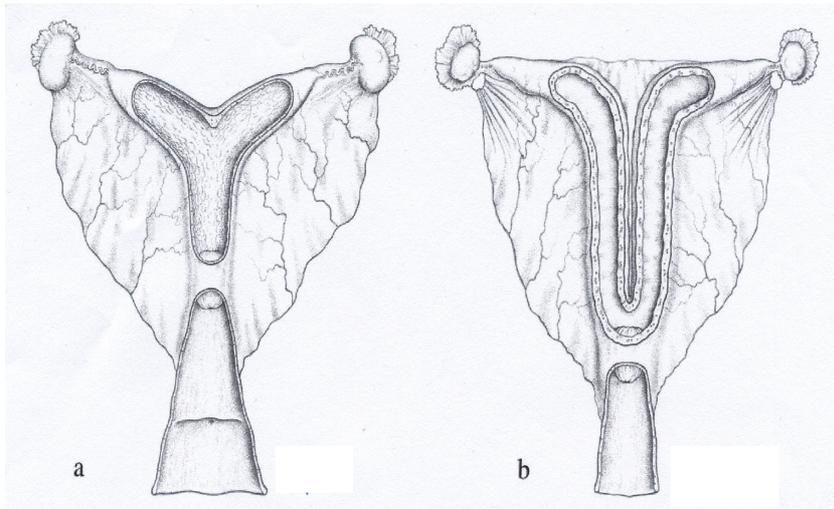


Abb. 3 Schematische Darstellung des Genitaltrakts von a) Pferd und b) Elefant (nach ALLEN et al. 2003b)

Die Längsfalten des Endometriums ziehen vom Uteruskörper in die Uterushörner (BALKE et al. 1988). Der nichttrüchtige Uterus ist von sehr derber Konsistenz mit einem hohen myometrialen Tonus. Der hohe Uterustonius führt zu einem sternförmig verschlossenen Uteruslumen. Es ist dem der Karnivoren ähnlicher als dem Uteruslumen der Huftiere (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1964). Das Uterusepithel in den „Sternstrahlen“ liegt sehr eng aufeinander. Diese spezifische Architektur entspricht dem histologischen Befund des Hasenuteruses (MOSSMANN 1987, ALLEN et al. 2003b).

2.2.6.2 Implantation

Der Embryo des Elefanten wird zentral im Uterus implantiert (MOSSMANN 1987, BENIRSCHKE 2008). Per definitionem handelt es sich bei der zentralen Implantation um die Einnistung im Zentrum des Uteruslumens (SCHNORR u. KRESSIN 2006). Die Blastozyste nimmt vor der Implantation stark an Umfang zu und vergrößert so die Kontaktfläche zur Uteruswand (FINN et al. 1994). Die Blastozyste des Elefanten gelangt über das zentrale Uteruslumen zur Implantationsstelle, die meist am Scheitelpunkt beider Uterushörner liegt (PERRY 1964, PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b). Es wurde beschrieben, dass die

Blastozyste sich in eine der drei Seitenfalten des Uterus einnistet (PERRY 1974). ALLEN et al. (2003b) erklärten die Lokalisation der Blastozyste in einer der drei lateralen Schleimhautfalten mit ihrer wachstumsbedingten Ausbreitung. Der Embryonalknoten ist zum Grund der Schleimhautseitenfalte gerichtet. Der abembryonale Pol der Blastocyste ist dem Zentrum des Uteruslumens zugewandt (PERRY 1974).

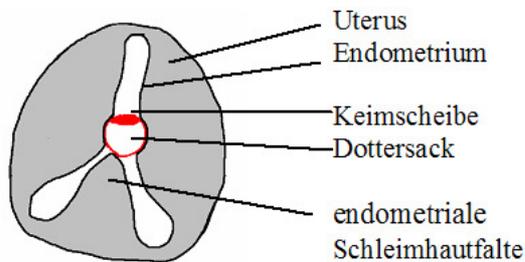


Abb. 4 Der Querschnitt durch den trächtigen Uterus (grau) zeigt die räumliche Orientierung der Blastozyste (rot) während der zentralen Implantation. Die Keimscheibe ist der Schleimhautseitenfalte zugewandt.

Die Orientierung der Keimscheibe ist verantwortlich für die Position des späteren Plazentargürtels (PERRY 1964, ALLEN et al. 2003b). Für die Positionierung der primär mit dem Endometrium in Kontakt tretenden Trophoblastzellen diskutieren ALLEN et al. (2003b) zwei Theorien.

I: Es kommt zur Differenzierung der inneren Membranen im Zusammenhang mit uterinem Wachstum, unabhängig vom äußeren Druck.

II: Die Position der Keimscheibe wird bereits durch den intrauterinen Druck determiniert.

Die Uteruswand erfährt keine regionale Spezialisierung. Es kommt lediglich zu einer lokalen Schwellung der Schleimhaut durch eine einfache Verlängerung und Streckung der Uterindrüsen in unmittelbarer Nachbarschaft zur Blastozyste. Zu diesem Zeitpunkt ist noch keine strukturelle Verbindung zwischen Trophoblast und Endometrium ausgebildet. Im Bereich der Öffnungen der Uterindrüsen kommt es zum ersten engeren Kontakt zwischen Schleimhautepithel und der sonst frei aufliegenden embryonalen Membran (PERRY 1974). Die lokale Schwellung ist auch von außen am sezierten Uterus als ovale Umfangsvermehrung sichtbar. Diese wird im weiteren Verlauf melonenförmig und füllt das gesamte tragende Uterushorn aus, wobei das nicht gravide Horn und der Uteruskörper stets frei bleiben (ALLEN et al. 2003b).

Kurz vor der Entwicklung des lateralen Mesoderms, kommt es zu einem Erosionsprozess des Uterusepithels der gesamten Kontaktregion mit dem Trophoblasten. PERRY (1974) beschrieb eine Auffaserung der Basalmembran des Uterusepithels. Die Epithelzellen disorganisieren, lösen sich ab, schwellen an und degenerieren. Die Trophoblastzellen nehmen apikal eine gelappte Struktur an, was wahrscheinlich der Absorption des Materials dient. Auf

ultrastruktureller Ebene wurde dokumentiert, dass Trophoblastzellen aktiv das Uterusepithel sowie das Epithel der Uterindrüsen unterwandern, um die Epithelzellen von ihrer Basalmembran zu lösen. Es kommt zur Phagozytose durch den Trophoblasten und zur Verbindung mit der maternalen Basallamina in umgekehrter Polarität der Zellen (WOODING et al. 2005). Diese Entwicklung führt zu einer immer engeren Verbindung des Trophoblasten mit dem mütterlichen Gewebe in einem breiten bandförmigen Bereich, der sich gürtelförmig um den gesamten Konzeptus erstreckt. Außerhalb dieses sich innig verbindenden Bereiches bleibt das Uterusepithel intakt (ALLEN et al. 2003b, WOODING et al. 2005, ALLEN 2006).

2.2.6.3 Entwicklung und weitere Differenzierung der Plazenta

Während der gesamten Trächtigkeit und der fortschreitenden Entwicklung des Plazentargürtels bleibt der maternale Plazentahilus mit ca. 4 cm Breite in seiner Größe nahezu konstant. Ein signifikantes Wachstum des Plazentahilus wird nur bis zu einem fetalen Gewicht von 5 - 10 kg verzeichnet. Der Gürtel nimmt dagegen bis zur Geburt an Größe zu. Der Hilus, der durch zottenförmige Auswüchse des endometrialen Bindegewebes entsteht, bildet die eigentliche Kontaktstelle zwischen Plazenta und Uterus. Er schließt eine stetig wachsende Anzahl von sich vergrößernden uterinen Gefäßen ein. Diese Struktur wurde mit dem Plexus pampiniformis zur Versorgung der Hoden verglichen (ALLEN et al. 2003b).

In einem frühen Entwicklungsstadium, in dem der Embryo ca. 15 Somiten und eine Scheitel-Steiß-Länge von 5 mm aufweist, sind verschiedene feto-maternale Verbindungen ausgebildet. So können bilaminare und trilaminare Dottersackbereiche und ein vollständig ausgebildetes Allantochorion gleichzeitig auftreten. In einigen Bereichen der choriovitellinen Plazenta liegen die kubischen Trophoblastzellen dem endometrialen Epithel eng an und beginnen in Form stumpfer Vorwölbungen sich zwischen dieses zu schieben. Dieses Stadium wurde mit Beginn des Auswachsens des extraembryonalen Mesoderms zwischen Trophoblast und Dottersackentoderm beschrieben (PERRY 1974). In anderen Bereichen der Dottersackplazenta waren die Vorwölbungen zu fingerförmigen Auswüchsen differenziert, die sich unter das Epithel schoben und dieses von der Basalmembran abheben. Das Uterusepithel wird vollständig durch den Trophoblasten ersetzt. An anderen Stellen wächst der Trophoblast in die verlängerten, leicht verzweigten und erweiterten Uterindrüsen ein und löst auch hier das Epithel von der Basallamina. Uterusseitig kommt es zu bindegewebigen Auswüchsen, die Gefäße führen und sich in die embryonalen Vorwölbungen einstülpen. Erstere sind die Ursprünge des späteren „pampiniformen“ Stranges des Plazentahilus (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b). Nur in der sehr frühen Trächtigkeit dringen Trophoblastzellen in die apikalen Uterindrüsen vor und penetrieren den

epithelialen Zellverbund im Bereich des späteren Plazentahilus. Vermutlich führt dies zu einem Verschluss der Uterindrüsen zur Sicherstellung einer unbeeinträchtigten Proliferation der maternalen Gefäße im Plazentahilus. Die Regulation dieser Proliferationsprozesse ist noch nicht vollständig geklärt. Ein Zusammenspiel verschiedener Wachstumsfaktoren (Insulin-like growth factor-II, Transforming growth factor- β 1) wird angenommen (WOODING et al. 2005).

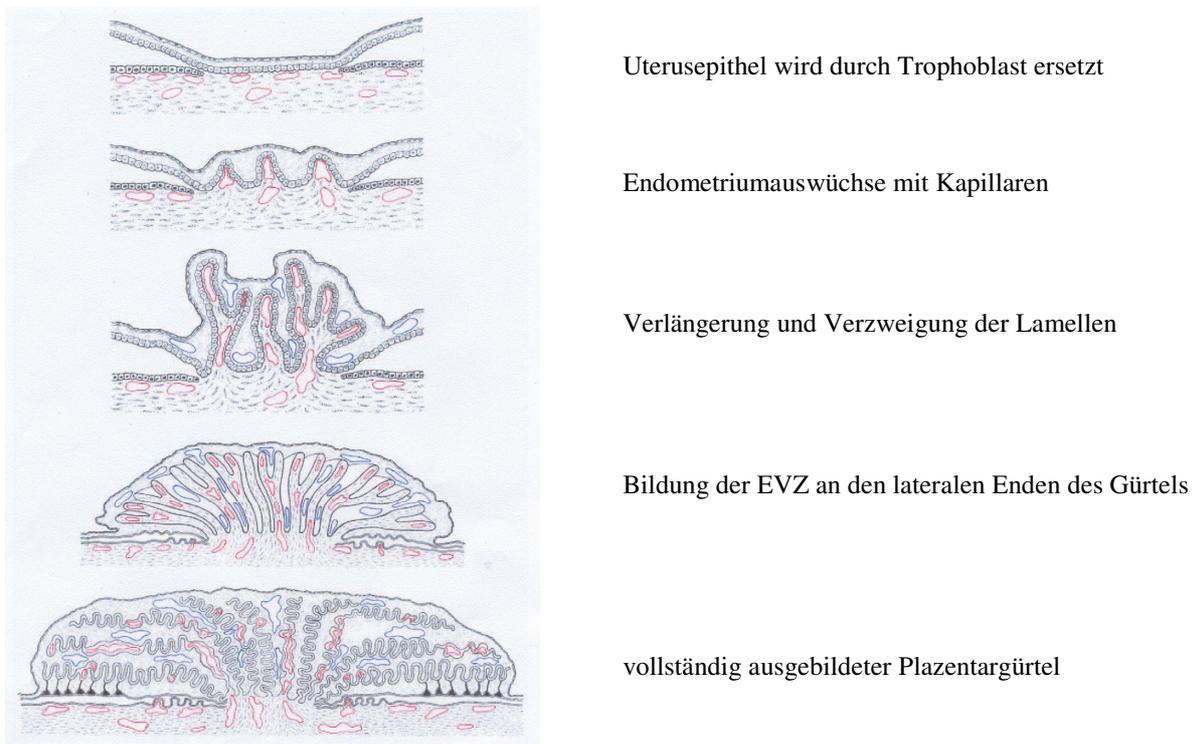


Abb. 5 Schematische Darstellung der morphologischen Veränderungen während der Bildung der Gürtelplazenta beim Elefanten (nach ALLEN et al. 2003b)

Im Gegensatz zu ASSHETON et al. (1905), die größere Ansammlungen von Leukozyten innerhalb der Plazenta fanden, wiesen ALLEN et al. (2003b) explizit darauf hin, dass weder zu einem frühen, noch zu einem späteren Zeitpunkt eine maternale zelluläre Immunreaktionen auf den Trophoblasten stattfinden.

Die Y-artig angeordneten Schleimhautfalten im Inneren des Uterus und die Entwicklung der Keimblase zwischen diesen, bedingen die Entwicklung von drei räumlich voneinander getrennten Kontaktstellen zwischen Uterusschleimhaut und Trophoblast. Sie sind äquatorial um die Keimblase angeordnet, so dass sich das proliferierende Plazentaband transversal zur Uterusachse entwickelt. Die Kontaktbereiche nehmen im Verlauf der Trächtigkeit an Umfang zu und verschmelzen mehr oder weniger vollständig miteinander. Die oft beschriebenen Unterbrechungen des Gürtels korrespondieren mit großer Wahrscheinlichkeit mit der Position der endometrialen Falten. Mit fortschreitender Trächtigkeit reduziert sich trotz stetigen

Wachstums die Breite des Plazentagürtels relativ zum sich ebenfalls vergrößernden Chorionsack (PERRY 1974). Das Flächenverhältnis von Plazentagürtel und Chorionsack verkleinert sich somit kontinuierlich.

Im Alter von ca. vier Monaten beträgt die Gürtelbreite 3 cm. Die einfachen wedelartigen Vorwölbungen des endometrialen Stromas werden von Trophoblastzellen überzogen und beginnen sich an den Spitzen zu verzweigen. Auf beiden Seiten des Gürtels legen sich die lateralen Stromalamellen um. Es entstehen blind endende Kavernen. In diese Kavernen kommt es zum Austritt maternalen Blutes. Die Blutbestandteile werden durch differenzierte, hochprismatische, vakuoläre Trophoblastzellen phagozytiert (WOODING et al. 2005). Die Uterindrüsen im subplazentaren Gewebe sind in der Mitte der Trächtigkeit gering entwickelt und spielen in der weiteren Entwicklung der Plazenta eine untergeordnete Rolle. Somit hat die histiotrophe Ernährung über die Uterindrüsen keine wesentliche Bedeutung als Versorgungsquelle des Fetus mehr (AMOROSO u. PERRY 1964).

Mit fortschreitender Gravidität nehmen die Stromalamellen in ihrer Länge, Verzweigung und Komplexität zu. Durch ihre starke Schlingelung wird eine maximale Oberflächenvergrößerung von Trophoblast und maternalen Kapillaren erreicht. Dabei erfährt das endometriale Lamellenstroma eine starke Reduzierung, sodass der Zytotrophoblast in direkten Kontakt mit den maternalen Kapillaren treten kann (ALLEN et al. 2003b).

2.3 Verwandtschaftliche Beziehungen der Elefanten zu anderen Säugern und vergleichende Betrachtungen der Elefantenplazenta zu anderen Säugerplazenten

Die Ordnung der Proboscidea (Elefanten) gehört zur Überordnung der Afrotheria, die mit Hilfe von DNA Sequenzanalysen klassifiziert und eingehend untersucht worden ist (CARTER 2001, MURPHY et al. 2001, WADDELL et al. 2001, DOUADY et al. 2002, ARCHIBALD 2003, CARTER et al. 2004b). Neben der Ordnung der Proboscidea werden fünf weitere Ordnungen von Säugetieren unter den Afrotheria eingeordnet: Hyracoidea (Schliefer), Sirenia (Seekühe), Tubulidentata (Erdferkel), Macroscelidea (Elefantenspitzmäuse) sowie die Ordnung Afrosoricida oder Tenrecomorpha (Familie Chrysochloridae: Goldmulle, Familie Tenrecidae: Tenreks) (ENDERS u. CARTER 2004, CARTER u. ENDERS 2004, CARTER et al. 2004a, CARTER et al. 2004b).

Tab. 2 Eigenschaften der Plazentation der Überordnung der Afrotheria (nach CARTER et al. 2004b)

Taxon	Arten	Plazentaform	Plazentarschranke	Extravasatzone
Ordn. Proboscidea	Elephas, Loxodonta	Gürtelförmig	Endotheliochorial	Lateraler Bereich des Gürtels
Ordn. Hyracoidea	Procavia, Heterohyrax	Gürtelförmig	Hämochorial	Keine
Ordn. Sirenia	Trichechus	Gürtelförmig	Endotheliochorial?	Labyrinthoberfläche
Ordn. Tubulidentata	Orycteropus	Gürtelförmig	Endotheliochorial	Lateraler Bereich des Gürtels
Ordn. Macroscelidea,	Rhynchocyon, Petrodromus, Macroscelides, Elephantulus	Diskoidal mit sekundärer Gürtelbildung	Hämochorial	Keine
Ordn. Tenrecomorpha				
Familie Chrysochloridae	Chrysochloris, Eremitalpa	Diskoidal	Hämochorial	Keine
Familie Tenrecidae	Tenrec, Hemicentetes, Setifer, Echinops, Potamogale, Micropotamogale	Diskoidal mit sekundärer Gürtelbildung	Hämochorial	Zentral (zentral im Labyrinth bei Otterspitzmaus)

Verwandtschaftliche Beziehungen zwischen den Ordnungen der Schliefer, der Seekühe und der Elefanten wurden am häufigsten diskutiert, ebenso wie vergleichende Betrachtungen der Morphologie und der Entwicklung der Plazenta zwischen Carnivora (Fleischfresser) und Proboscidea (ASSHETON u. STEVENS 1905, WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN 1940, AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b).

Anhand der Ergebnisse von CHAPMAN (1880), ASSHETON et al. (1905) und BÖKER (1907) postulierten WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN (1940), dass die Ordnungen der Schliefer, Seekühe und Elefanten in Hinblick auf ihre Plazentation zu einer eng verwandten Gruppe gehören. Als weitere Gemeinsamkeit betonten sie den vermeintlich hämochorialen Charakter der Elefantenplazenta mit der Plazenta der Seekühe und der Schliefer (siehe Tab. 2).

Dagegen beschrieben AMOROSO u. PERRY (1964) die Plazenta des Afrikanischen Elefanten als Plazenta endothelio- oder vasochorialen Typs, vergleichbar mit der der Carnivora. Einen Überblick über die Variationen des Trophoblastepithels in Bezug zur maternalen Plazenta und den Vergleich der Ordnungen der Afrotheria geben die Arbeiten von CARTER u. ENDERS (2004) und CARTER et al. (2004b) (siehe Tab.3).

Tab. 3 Variationen des Trophoblasten im Bereich der Plazentarschranke der choroallantoiden Plazenta (nach CARTER u. ENDERS 2004)

Plazenta Typ	Trophoblast Bestandteile	Beispiele
Hämomonochorial	Synzytialer Trophoblast, Zotten	Armadillo; höher Primaten
	Synzytialer Trophoblast, Labyrinth	Meisten hystricomorphen Nager (z.B. Meerschwein), sciurormorphe Nager (z.B. Eichhörnchen)
	Zellulärer Trophoblast	Hyrax; Tenreks; Bulldoggfledermäuse; einige myomorphe Nager (Mäuseverwandte)
Hämochorial	Synzytialer (maternal gerichtet) und zellulärer Trophoblast	Lagomorphas (Hasenartige), Glattnasenfledermäuse
Hämotrichorial	Zellulärer Trophoblast (maternal gerichtet) und zwei Schichten synzytialen Trophoblasten	Meisten myomorphe Nager (Mausartige)
Endotheliochorial	Synzytialer Trophoblast (fenestriert)	Faultier, Spitzmaus
	Trophoblast (nicht fenestriert) Zellulärer Trophoblast	Carnivoren, Robben Elephanten; einige sciurormorphe Nager (Hörnchenverwandte), einige Fledermäuse (Saccopteryx)
Epitheliochorial	Zellulärer Trophoblast	Niedere Primaten; einige Artiodactyla (z.B. Schwein)
	Zellulärer Trophoblast mit trophoblastischen Gürtelzellen	Einige Perissodactyla (Equiden, z.B. Pferd)
Synepitheliochorial	Zellulärer Trophoblast; Fusion von binucleären Trophoblastzellen mit Uterusepithel	Einige Artiodactyla (Wiederkäuer, z.B. Schaf, Kuh)

Der Schliefer besitzt, wie auch der Elefant, eine Gürtelplazenta und eine vierfach gekammerte Allantois, auf der es nicht zur Ausbildung von Allantoispusteln kommt. Nach einer zentralen Implantation spielen auch beim Klippschliefer die Uterindrüsen keine wesentliche Rolle in der fetalen Versorgung (WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN 1940, AMOROSO u. PERRY 1964). Im Gegensatz zum Elefanten zeigen die Uterindrüsen weder eine Tendenz zur Hypertrophie, noch bieten sie dem Trophoblasten eine Leitschiene für sein Wachstum (PERRY 1964). Das Uterusepithel wird beim Schliefer hingegen nicht durch Zottenproliferation abgebaut, sondern durch gleichmäßige Dickenzunahme des Trophoblasten, was zu sphärischen Trophoblastkissen führt. Zu Beginn der Entwicklung bilden sich auf dem gesamten Chorion Zotten aus, die sich über den polaren Choriongebieten wieder zurückbilden, was zur Bildung der Gürtelplazenta führt (AMOROSO u. PERRY 1964)

Auch die Seekuh besitzt eine hämochoriale Gürtelplazenta. Die Bildung des Plazentabandes ähnelt den Vorgängen beim Schliefer. Als Fragmente dieser Entwicklung lassen sich kleine Plazentaareale mit einem Durchmesser von ca. 4 mm feststellen. Auch bei der Seekuh spielen die Uterindrüsen eine untergeordnete Rolle in der Plazentaentwicklung (PERRY 1974). Im Hinblick auf die Anordnung der Labyrinthlamellen ähneln sich die Plazenten der Elefanten und der Seekühe (WISLOCKI 1935). Diese besitzt auch eine durch Nabelgefäße gekammerte Allantoisblase. Auf der Allantoismembran sind kleine Allantoispusteln vorhanden. WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN (1940) beschrieben das Auftreten großer Allantoispusteln bei der Größten und ein Fehlen bei der Kleinsten der verwandten Spezies.

Eine Funktion bleibt aber vollständig unbewiesen und unbekannt (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974). Das freie Austreten von maternalem Blut aus Gefäßen, die das Plazentalabyrinth durchzogen haben, führt zur der Entstehung von Randhämatomen, die beim Elefanten einzigartig sind. Auch bei der Seekuh entstehen maternale Einblutungen aus labyrinthartig, sich kreuzenden Gefäßen in der Plazenta. Diese von WISLOCKI (1935) beschriebenen mit maternalem Blut gefüllten „sonderbaren Trophoblastarkaden“ sind jedoch an der fetalen Grenze der Labyrinthlamellen lokalisiert. Eine zum Elefanten korrespondierende marginale Region ist bei der Seekuh nicht vorhanden (AMOROSO u. PERRY 1964). Der plazentare Trophoblast kann auch bei der Seekuh in drei unterschiedliche Regionen eingeteilt werden. So ist auf der Wachstumsseite der Plazenta ein Zytotrophoblast ausgebildet. Auf der fetalen Seite des Labyrinths ist ein Synzytiotrophoblast entwickelt. Die Arkaden, die das freie maternale Blut umschließen, sind ebenfalls von einem Synzytiotrophoblast bekleidet (WISLOCKI 1935, PERRY 1974).

Die am stärksten herausragende Gemeinsamkeit zwischen der Plazenta der Carnivoren und der Elefanten, abgesehen von der hämochorialen Plazenta der Hyäne (AMOROSO 1959), ist die Ausbildung einer endotheliochorialen Gürtelplazenta mit ausgeprägtem Randhämatom. Beim Fleischfresser kommt es ebenfalls zur zentralen Implantation der Blastozyste. Die Positionen der Blastozysten werden über den Prozess der intrauterinen Migration symmetrisch in beiden Uterushörnern verteilt (PERRY 1974, LEISER 1979a, LEISER 1979b). Wie bei den Fleischfressern wird auch beim Elefanten das Amnion durch Abfaltungsprozesse gebildet. Die Aus- und Rückbildung des Dottersackes sowie das Fehlen eines Sinus terminalis, wie er für das Pferd beschrieben ist, sind weitere Gemeinsamkeiten. Bei der Katze führt die Invasion des Trophoblasten während der Implantation bzw. Plazentation zur Fusion und Degeneration der luminalen sowie glandulären Epithelzellen (LEISER 1979a) und zur Formung des „Symplasma“ (AMOROSO 1952). Die Basalmembran wird durchbrochen und der synzytiale Trophoblast dringt mit fortschreitender Trächtigkeit tiefer in Uterindrüsen und Uterusstroma vor (WOODING u. FLINT 1994). Beim Elefanten wurde eine geringere Invasivität des Trophoblasten beschrieben. Ursächlich könnte das mit dem Zusammenhalt der Zellen sowie einem Enzym- und Rezeptormangel erklärt werden (ALLEN et al. 2003b). Weiterhin ist die unterschiedliche Expression von Wachstumsfaktoren und/oder deren Rezeptoren als mögliche Ursache denkbar (WOODING et al. 2005). Die bei den meisten Carnivoren und der Familie der Elephantidae auftretenden Randhämatome unterliegen jeweils einer unterschiedlichen Genese. Während es beim Elefanten zur Zerreißen intraplazentarer mütterlicher Kapillaren kommt (ALLEN et al. 2003b,

WOODING et al. 2005), entstehen die Einblutungen beim Fleischfresser durch Erosion der mütterlichen Endothelien und bedingt durch das vorübergehende Einreißen der Gefäße im paraplazentaren Bereich (LEISER u. ENDERS 1980a, LEISER u. ENDERS 1980b, WOODING u. FLINT 1994).

AMOROSO u. PERRY (1964) verwiesen auf einen weiteren Unterschied zwischen Carnivora und Proboscidea. Die durch eine Dickenzunahme verbreiterte Basalmembran der mütterlichen Plazentargefäße wird als amorph erscheinende, interstitielle Membran beschrieben („interstitial membrane“) (WOODING u. FLINT 1994). Sie ist nicht nur für die Carnivorenplazenta (ANDERSON 1969), sondern auch bei der Seekuh und beim Schliefer (WISLOCKI 1935, WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN 1940) beschrieben worden.

Der Stoffaustausch zwischen mütterlichen und fetalen Gefäßen stellt einen weiteren, noch ungeklärten Aspekt beim Vergleich der Placentae zonariae verschiedener Spezies dar. Beim Elefanten ziehen die großen maternalen Hilusarterien durch das gesamte Plazentalabyrinth, um sich dann in ein reich verzweigtes Kapillarnetz aufzuzweigen. Sie vereinigen sich zu Venen und verlaufen zurück zum Hilus. Der Verlauf der fetalen Plazentargefäße ist wahrscheinlich der Gleiche nur mit umgekehrter Blutflußrichtung (ALLEN et al. 2003b), dem sogenannten „counter-current flow“ Prinzip. Für die endotheliochoriale Plazenta der Katze wurde dagegen in einer rasterelektronenmikroskopischen Studie das „cross-current flow“ Prinzip nachgewiesen (LEISER u. KOHLER 1983, LEISER u. KOHLER 1984, WOODING u. FLINT 1994). Zur Analyse des Blutflussmusters in der Elefantenplazenta schlagen ALLEN et al. (2003b) eine „corrosion-cast“ Studie der Plazentargefäße vor (LEISER et al. 1997).

Weitere vergleichende Betrachtungen der Plazenta des Elefanten mit anderen Spezies sind bekannt. So besitzen die Erdferkel (*Orycteropus afer*, Ordnung der Röhrenzähler) eine endotheliochoriale Gürtelplazenta mit Randhämatomen und eine quadrilobuläre Allantoisblase (MOSSMAN 1957, PERRY 1974, WOODING u. FLINT 1994). Letztere findet sich auch bei den Lemuren (HILL u. BURNE 1922, HILL 1932). WISLOCKI u. VAN DER WESTHUYSEN (1940) weisen aber darauf hin, dass die umbilikale Anordnung keine phylogenetische Signifikanz oder evolutionäre Tendenz besitzt (AMOROSO u. PERRY 1964).

Die Proliferation der lamellenartigen Vorwölbungen des Endometriums im Bereich des späteren Gürtels und deren beginnende Verzweigung in der frühen Fetalentwicklung (Fetalgewicht ca. 2 g) des Elefanten erinnert an die Mikrokotyledonenbildung bei der Stute. Auch die Destruktion der luminalen und glandulären Epithelien ist mit den Vorgängen beim Pferd (Ausbildung der „endometrial Cups“) zu vergleichen. Im Gegensatz zum Elefanten

kommt es bei der Stute zu einer tiefen Invasion von zweikernigen Gürtelzellen ins endometriale Stroma und zur Proliferation der „endometrial cups“ (ALLEN u. MOOR 1972, ALLEN et al. 1973, ALLEN et al. 2003b).

2.4 Humanes Chorion-Gonadotropin (hCG)

Das Vorkommen eines gonadotropen Hormons im Blutserum und Harn von schwangeren Frauen wurde von Aschheim und Zondek (1928) beschrieben. Zwei Jahre später entdeckten Wissenschaftler des Departments of Animal Science, University of California Choriongonadotropin auch im Serum von Pferdestuten. Endokrinologen versuchten in den darauf folgenden Jahren eine Gonadotropinaktivität im Blut anderer Spezies (Rind, Schwein, Hund oder Katze) nachzuweisen. Diese Versuche blieben ohne Erfolg. (ROSER 1999)

Das humane Choriongonadotropin (human Chorionic Gonadotropin, hCG) ist ein Glykoproteinormon. Es gehört zu einer Gruppe von vier homologen Glykoproteinen, die aus je zwei nicht identischen Untereinheiten bestehen. Die α -Untereinheit besteht aus 92 Aminosäuren und wird von einem einzelnen Genlocus auf Chromosom sechs kodiert. Die β -Untereinheit der Hormone unterscheidet sich in Struktur und Aminosäuresequenz. Die Anzahl der Aminosäuren variiert zwischen ca. 102 und 145 (hCG). Die β -Untereinheiten von hCG und dem humanen luteinisierenden Hormon (hLH) werden von derselben Lokalisation auf Chromosom 19 kodiert, unterscheiden sich jedoch durch das Fehlen von 34 Aminosäuren bei hLH am C-Terminus. Die vier Hormone der Gruppe sind das hCG, das hLH, das humane follikelstimulierende Hormon (hFSH) und das humane schilddrüsenstimulierende Hormon (hTSH). Das hCG und hLH können von dem gleichen Rezeptor im Ovar und Testis gebunden werden. Die Funktion von hCG ist die Stimulation des Corpus luteum zur Produktion von Steroidhormonen zum Erhalt der Schwangerschaft. Eine Bindung von hCG an den Rezeptor mit nachfolgender Signaltransduktion ist möglich, solange die α - und β -Untereinheiten zusammengehalten werden, auch wenn das Glykoprotein schon in Primär- und Tertiärstruktur geschädigt worden ist (BIRKEN et al. 1999). Die Halbwertszeit der Hormone im Serum wird durch die Zuckerreste an den Kettenenden bestimmt. Unter den vier Hormonen besitzt hCG mit 29 bis 30 h die längste Halbwertszeit (biologische Halbwertszeit 8 h) (PSCHYREMBEL 1998, BIRKEN et al. 1999). Im Serum nicht schwangerer Menschen konnte ebenfalls hCG nachgewiesen werden. Der Bildungsort dieser kleinen Mengen an hCG ist die Hypophyse. Weitere Formen von hCG werden in verschiedenen Tumoren der Gonaden, aber auch des nicht reproduktiven Gewebes gefunden.

Untersuchungen zum Nachweis von Gonadotropinen in der Plazenta des Elefanten verliefen bisher erfolglos (SOMA u. KAWAKAMI 1991, ALLEN et al. 2002). Der Nachweis von

gonadotropen Substanzen im Urin oder Serum trächtiger Elefantenkühe wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Im Urin von trächtigen Elefantenkühen konnten mit Hilfe des Latex-Agglutinationstest zum Nachweis von hCG kreuzreagierende Substanzen nachgewiesen werden (FUJIMOTO et al. 1970, KOCH et al. 1988).

2.5 Plazentare Alkalische Phosphatase (PLAP)

Die Phosphatasen gehören zur Gruppe der Esterasen. Sie hydrolysieren organische Phosphorsäureester und bilden als Reaktionsprodukt anorganisches Phosphat. Phosphatasen setzen sich aus zahlreichen Isoenzymen zusammen. In der klinischen Diagnostik unterscheidet man zwei Gruppen: die alkalischen Phosphatasen (AP) mit einem pH-Optimum von acht bis zehn, und die sauren Phosphatasen mit einem Reaktionsoptimum bei pH fünf (PSCHYREMBEL 1998, KRAFT u. DÜRR 1999).

Die alkalische Phosphatase besitzt als Bestandteil und Cofaktor das Element Zink (LÖFFLER u. PETRIDES P.E. 1997). Alkalische Phosphatasen sind in fast allen Geweben des Organismus in unterschiedlicher Aktivität membrangebunden zu finden. (KRAFT u. DÜRR 1999).

Das in der Plazenta gebildete Isoenzym, die plazentare alkalische Phosphatase (PLAP), kann am Bürstensaum sowie am basalen Plasmalemm des menschlichen Syncytiotrophoblasten, am marginalen Chorion und am freien Amnion der humanen Plazenta nachgewiesen werden. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase nimmt mit fortschreitender Schwangerschaft zu und verläuft parallel mit einer Zunahme im mütterlichen Plasma. Die Funktionen der alkalischen Phosphatase (Substratphosphorylierung bei Resorption und Exkretion, die Katalysation der Spaltung energiereicher Phosphatverbindungen) lassen eine Beziehung zwischen Phosphatasegehalt und aktiven Stofftransport der Plazenta erkennen. Ein höherer Phosphatasegehalt der geburtsreifen Plazenta im Vergleich zur entwickelnden Plazenta entspricht dem gestiegenen Stoffaustausch am Ende der Schwangerschaft (HEMPEL u. GEYER 1969).

Der histochemische Nachweis von alkalischer Phosphatase sowie auch saurer Phosphatase in der Plazenta des Asiatischen Elefanten ist in der Literatur bisher erst einmal beschrieben worden (COOPER et al. 1964). SOMA u. KAWAKAMI (1991) konnten keine saure Phosphatase in den Labyrinthrophoblastzellen nachweisen.

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Tiere und Material

3.1.1 Plazenten

Für die Untersuchungen standen vier geburtsreife und ausgetragene Plazenten des Asiatischen Elefanten (*Elephas maximus*) zur Verfügung. Die Nachgeburten stammten aus dem Tierpark Hagenbeck in Hamburg, Gemeinnützige Gesellschaft mbH, sowie dem Zoo Leipzig, GmbH. Die Plazenta des Leipziger Elefanten (E1) wurde am 05.04.2002 ca. fünf Stunden p.p. vollständig aufgefunden und in das Veterinär-Anatomische Institut der Universität Leipzig transportiert. Repräsentative Anteile der fetalen Fruchthüllen wurden entnommen und in 4 % igem Paraformaldehyd (PFA) sowie 2 % igem Glutardialdehyd (GA) in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) für zwei Stunden und anschließend in 4 % igem PFA in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) immersionsfixiert. Die übrigen Plazentaanteile wurden in 4 % igem neutral gepufferten Formalin fixiert.

Aus dem Tierpark Hagenbeck stammten drei Nachgeburten.

Die Plazenta eines Hagenbecker Elefanten (E2) wurde am 14.05.2003 gegen 08:30 Uhr, ca. 90 min p.p. vollständig aufgefunden. Die Entnahme repräsentativer Plazentaprobe erfolgte durch den Zootierarzt Dr. Flügger. Die gewonnenen Proben wurden zeitnah in eine 4 % ige Formalinlösung überführt und bei 6 °C gelagert. Am 16.05.2003 wurden die Proben für zwei Stunden in 4 % igem PFA und 2 % igem GA in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) und anschließend in 4 % igem PFA in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) immersionsfixiert. Die übrigen Plazentaanteile wurden in 4 % igem neutral gepufferten Formalin fixiert. Der Transport in das Veterinär-Anatomische Institut der Universität Leipzig erfolgte am 16.05.2003.

Die Proben der dritten Plazenta (E3, Tierpark Hagenbeck) wurden direkt vor Ort p.p. aus repräsentativen und vergleichbaren Arealen entnommen und in 4 % iger Formalinlösung fixiert. Im fixierten Zustand wurden die Teilstücke dem Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Leipzig zur Verfügung gestellt. Aus diesen Plazentaanteilen wurden Proben zur weiteren Einbettung gewonnen und in 4 % igem neutral gepufferten PFA (pH 7,4) nachfixiert. Die Proben für die elektronmikroskopischen Untersuchungen wurden in 2,5 % igem Glutardialdehyd (GA) in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) für zwei Stunden immersionsfixiert und anschließend in 4 % igem Paraformaldehyd in 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) verbracht.

Die vierte Plazenta (E4) stammt ebenfalls aus dem Tierpark Hagenbeck. Sie wurde vollständig aufgefunden, in 4 % iger Formalinlösung immersionsfixiert und in das Veterinär-Anatomische Institut der Universität Leipzig transportiert. Die Fruchthüllen waren zum

Zeitpunkt des Eintreffens im Veterinär-Anatomischen Institut in ihrem makroskopisch strukturellen Erhalt geschädigt. Hier erfolgte die Probenentnahme und Nachfixierung in 4 % igem neutral gepufferten PFA (pH 7,4). Die Fixation und Nachbehandlung für die elektronenmikroskopische Aufarbeitung der Proben erfolgte entsprechend dem Protokoll für die Proben E1 - E3.

Die Lagerung der immersionsfixierten Proben erfolgte bei 6 °C.

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurde humanes Plazentagewebe als Positivkontrolle benötigt. Das Material wurde von einer freiwilligen Spenderin nach der Geburt ihres Kindes zur Verfügung gestellt. Die Plazenta wurde ca. 15 min nach Entwicklung der Nachgeburt in 4 % igem neutralgepufferten PFA (pH 7,4) immersionsfixiert. Die Probenentnahme erfolgte 120 min p.p. Es wurden zwei 1 x 1 x 1 cm große Gewebestücke aus dem Bereich des plazentaren Allantochorions entnommen. Das Probenmaterial wurde in 4 % igem neutral gepufferten PFA (pH 7,4) gelagert.

3.1.2 Angaben zur Trächtigkeit, Geburt, Neugeborenen und Plazenta

Bei den Plazenten handelt es sich um physiologisch ausgetragene Nachgeburten. Die Trächtigkeit der Mutterkühe sowie die Geburtsvorgänge verliefen nach Auskunft der Tierärzte jeweils komplikationslos. Die Aufzucht der Kälber verläuft erfolgreich.

Die Plazenten E2, E3 und E4 wurden nach einer Gruppengeburt entwickelt. Die Hagenbecker Mutterkuh hatte bereits drei erfolgreiche Nachzuchten. Die Geburt im Jahre 2003 (E2) war für sie jedoch die erste Gruppengeburt. Hierunter versteht man ein Ereignis, bei dem die Geburt in einer Gruppe aus mehreren Elefantenkühen ähnlich den natürlichen Gegebenheiten erfolgt. Für die Leipziger Mutterkuh war es die erste Geburt.

Die Daten wurden mit Hilfe eines Anamnesebogens erhoben und dokumentiert (siehe Anhang VIII).

3.1.3 Probenauswahl

Für die Auswahl der Proben aus den Plazenten waren morphologisch und funktionell unterschiedliche Lokalisationen entscheidend. Für die verschiedenen mikroskopischen Techniken wurden Proben in direkter Nachbarschaft zueinander oder zu korrespondierenden Probenlokalisationen entnommen. Aus einer funktionell einheitlichen Struktur wurden bei unterschiedlicher Morphologie mehrere Proben entnommen. Die Auswahl der Probenlokalisationen war für die Plazenten E1, E2 und E4 identisch.

Die Probennahme der dritten Plazenta (E3) erfolgte unmittelbar nach der Geburt im Tierpark Hagenbeck. Tierarzt Dr. Flügger orientierte sich bei der Entnahme der Proben an den

beschriebenen Probelokalisationen der ersten zwei Plazenten. Die Proben wurden in das Veterinär-Anatomische Institut der Universität Leipzig überstellt. Die restlichen Plazentateile verblieben vor Ort.

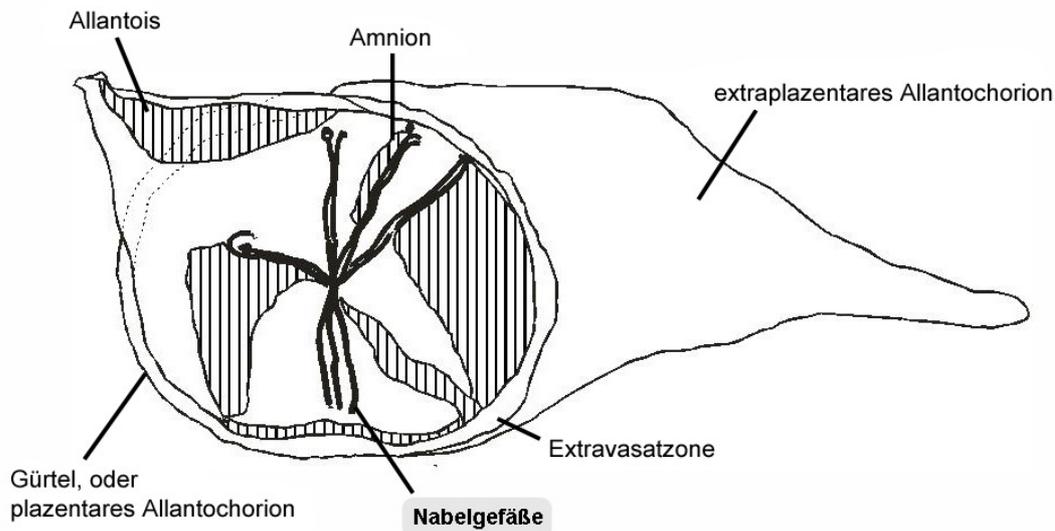


Abb. 6 Schematische Darstellung der Gürtelplazenta des Elefanten mit einer Übersicht zur Darstellung der Stellen der Probenentnahme. Vergleiche auch Abb. 8. Die makroskopische Photographie entspricht der schematischen Darstellung der Zirkumferenz des Plazentagürtels.

3.2 Methoden

3.2.1 Makroskopische Untersuchungen

Bei der makroskopischen Untersuchung wurden die Fruchthüllen unter Kunstlicht inspiziert. Die Fotodokumentation erfolgte mit einer Spiegelreflexkamera (50 mm Objektiv) und einer Fotolichtanlage zur optimalen Ausleuchtung relevanter Strukturen.

3.2.2 Lichtmikroskopische Untersuchungen

Die Proben wurden aus dem in 4 % igem neutral gepufferten Formalin immersionsfixierten Material entnommen. Die Paraffineinbettung der Proben E1 und E2 erfolgte nach einem Standardprotokoll. Die Proben E3 und E4 wurden in Kunststoff (Technovit, Fa. Aeraeus Kulzer GmbH, Wehrheim) nach einem Standardprotokoll eingebettet. Mit einem Rotationsmikrotom (Fa. Leica Instruments GmbH, Nussloch) wurden von den in Paraffin eingebetteten Proben 5 µm starke Schnitte angefertigt und auf Eiweiß - Glycerin beschichtete Objektträger aufgezogen. Von den Proben der Kunststoffeinbettung wurden 2 bis 3 µm starke Schnitte angefertigt und auf handelsübliche, unbeschichtete Objektträger aufgezogen.

Die Probe der humanen Plazenta wurde entsprechend den Proben der Elefantenplazenten ebenfalls mit neutral gepuffertem 4 % igem Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und 5 µm starke Schnitte hergestellt.

Als Übersichtsfärbung wurde die HE – Färbung durchgeführt. Zur detaillierten histologischen Charakterisierung des Gewebes wurden eine Trichromfärbung nach Goldner, Resorcinfuchsin Färbung nach Weigert sowie eine PAS - Färbung nach McManus durchgeführt. Die lichtmikroskopische Vorauswahl der zu dokumentierenden Schnitte erfolgte mit einem Olympus CH2 Standardmikroskop. Die Bilddokumentation wurde unter Verwendung des Hellfeldverfahrens und der Differentiellen Interferenzkontrastmethode (DIC) an einem Axiophot (Fa. Zeiss, Jena) mit fest montierter Digitalkamera (4.3 Shot Color, Fa. Diagnostic Imaging Inc.) durchgeführt. Die Bilder wurden mit der Software Spot Insight 4.0 (Fa. Diagnostic Imaging Inc) aufgenommen und im Bitmap-Format für die spätere digitale Bearbeitung gespeichert.

Bei der Differentiellen Interferenzkontrastmethode werden die Differenzen in der optischen Wellenlänge, die zwischen Präparat und Einschlussmedium bestehen, in einen Reliefkontrast umgesetzt. Der Aufbau des Interferenzkontrastmikroskopes entsprach dem Aufbau nach Nomarsky.

3.2.3 Immunhistochemische Untersuchungen

Die Anfertigung der 5 µm starker Paraffinschnitte erfolgte wie unter 3.2.2 beschrieben. Drei Schnitte wurden auf silanisierte Objektträger aufgezogen und bei 40°C über Nacht im Thermoschrank getrocknet.

Mit Hilfe der Avidin-Biotin-Komplexmethode (ABC) wurde die Expression der β -Kette von humanem Choriongonadotropin (β -hCG) und alkalischer Phosphatase (PLAP) in der Plazenta des Asiatischen Elefanten untersucht. Bei der ABC-Methode werden biotinylierte Sekundärantikörper eingesetzt, an die präinkubierte Avidin-Peroxidase-Komplexe binden können. Die gebundene Peroxidase oxidiert unter Zugabe von Wasserstoffperoxid ein zur Visualisierung der Antigen-Antikörper-Komplexe verwendetes Chromogen (DAB).

Die eingesetzten Antikörper, ihre Konzentrationen und das Reaktionsprotokoll der ABC – Methode sind im Anhang aufgeführt (IX - XI).

Pro Objektträger wurden je zwei Schnitte der entsprechenden Plazentaprobe (Test und Negativkontrolle) und ein dritter vom Chorion frondosum einer humanen Plazenta (Positivkontrolle) aufgezogen.

3 Schnitte pro Objektträger



T = Testpräparat

- = Negativkontrolle

+ = Positivkontrolle

Abb. 7 Darstellung des Probenbesatzes der Objektträger

Die Negativkontrollen wurden nach dem gleichen Verfahren wie die untersuchten Präparate behandelt, jedoch ohne den Einsatz der gegen die zu untersuchende Proteinstruktur gerichteten spezifischen Antikörper. Positivkontrollen entstammten Gewebeproben, die mit Sicherheit das zu untersuchende Antigen enthalten und wurden ebenfalls nach dem gleichen Verfahren wie die Präparate aus den Elefantenplazenten behandelt.

In Vorversuchen wurde die geeignete AK-Konzentration für den Nachweis der Antigene bestimmt. Die Immunkompetenz des Gewebes wurde mit Hilfe von Aktin-Antikörpern geprüft. Dabei zeigte sich eine spezifische Markierung in den Gefäßwänden von Arteriolen. Die Spezifität der AK für die zu untersuchenden Proteinstrukturen wurde an Gewebeschnitten aus Lunge, Darm und Muskel des Schafes durchgeführt.

Das Untersuchungsmaterial und die Positivkontrollen wurden mit der ausgetesteten AK-Konzentration beschickt. Die Negativkontrollen wurden parallel mit 5 % Magermilch (5 g Magermilchpulver in 100 ml PBS Puffer, pH 7,4) inkubiert.

3.2.3.1 Auswertung der Immunhistochemie

Als positiv wurden hell- bis dunkelbraune Reaktionsprodukte in der Schnittebene gewertet, die in den Negativkontrollschnitten nicht nachweisbar waren. Homogene beige Färbungen im Bereich der Plasmainsudationen und des Detritus, sowie pigmentartige Ablagerungen in Form von scholligen Strukturen, die sich auch in den Negativkontrollschnitten zeigten, wurden als negativ bewertet. Eine Übersicht der zu erwartenden Reaktionsmuster der verwendeten Antikörper ist in Tabelle 4 ausgewiesen.

Tab. 4 Zu erwartende Reaktionsmuster der verwendeten Antikörper (KRAFT u. DÜRR 1999)

Antikörper	Lokalisation in Trophoblastzellen
hCG	intrazytoplasmatisch
PLAP	membrangebunden

Die immunhistochemische Auswertung erfolgte mit einem CH2-Lichtmikroskop (Fa. Olympus). Für die Bilddokumentation wurde ein Axiophot (Fa. Zeiss, Jena) mit fest

montierter Digitalkamera (4.3 Shot Color, Fa. Diagnostic Imaging Inc.) verwendet. Die Bilder wurden mit der Software Spot Insight 4.0 (Fa. Diagnostic Imaging Inc) aufgenommen und im Bitmap-Format für die spätere digitale Bearbeitung gespeichert.

Ohne Berücksichtigung der Intensität der einzelnen AK-Nachweise wurde der Anteil der antigen- exprimierenden Zellen an der Gesamtzellpopulation der Trophoblastzellen geschätzt. Die Ermittlung der Zellzahlen erfolgte entsprechend der graduellen Einteilung nach MAAß (2003), siehe Tabelle 5.

Tab. 5 Graduelle Einteilung der quantitativen Schätzung der Antigen exprimierenden Zellen

(+)	vereinzelt Zellen, maximal 5 - 10% der Gesamtzellzahl
+	einzelne Zellen, maximal 20% der Gesamtzellzahl
+(+)	mehrere Zellen, maximal 40% der Gesamtzellzahl
++	viele Zellen, maximal 60% der Gesamtzellzahl
++(+)	sehr viele Zellen, maximal 80% der Gesamtzellzahl
+++	(fast) alle Zellen, 80 - 100% der Gesamtzellzahl

(+) sehr geringgradig; + geringgradig; +(+) gering- bis mittelgradig;

++ mittelgradig; ++(+)) mittel- bis hochgradig; +++ hochgradig

3.2.4 Elektronenmikroskopische Untersuchung

3.2.4.1 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Die in 4 % igem PFA und 2 % igem GA fixierten Proben wurden in 1 % igem Osmiumtetroxid in 0,1M Phosphatpuffer (Fa. Roth, Karlsruhe) nachfixiert und im Verlauf der Dehydrierung mit 1 % igem Uranylacetat (Fa. Serva, Heidelberg) in 70 % Ethanol nachkontrastiert. Die Einbettung wurde nach einem Standardverfahren im Kunststoff Durcupan (Fa. Fluka, Buchs, CH) vorgenommen. Von den bei 80 °C polymerisierten Blöcken wurden mit einem Ultramikrotom (Ultracut UCT, Fa. Leica Instruments GmbH, Nussloch) 800 nm starke Semidünnschnitte angefertigt, auf beschichtete Objektträger aufgezogen (Superfrost[®] Plus, Menzel Gläser, Deutschland) und mit 1 % igem Toluidin blau gefärbt. Zur Herstellung von 50 bis 60 nm starken Ultradünnschnitten wurden die Blöcke entsprechend den am Semidünnschnitt ausgewählten Bereichen erneut getrimmt (Ultratrimm, Fa. Leica Instruments GmbH, Nussloch). Die Ultradünnschnitte wurden auf 0,5 % ige Pioloform beschichtete (Fa. Mikrotechnik EM GmbH, München) (gelöst in Dichlorethan) Copper Slot Grids (Fa. Agar Scientific) (Griddurchmesser: 3,05 mm, Slot Größe: 2 mm x 1 mm) aufgezogen.

Die Auswertung und Dokumentation der Semidünnschnitte erfolgte mit einem Axiophot (Fa. Zeiss, Jena) mit fest installierter CCD-Kamera. Die Bilder wurden mit Hilfe der Bildanalysesoftware „analySIS Pro“ ausgewertet. Die Ultradünnschnitte wurden mit dem Transmissionselektronenmikroskop EM 900 (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen) bei 80 kV und 1.500 bis 20.000 facher Vergrößerung ausgewertet. Für die Dokumentation der Ergebnisse wurden Kodak Elektron Microscope Filme (Kodak co. 4489, Rochester, NY, USA) verwendet.

3.2.4.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Für die rasterelektronenmikroskopische Bearbeitung wurden die Proben über drei Tage in 4 % igem neutral gepuffertem PFA (pH 7,4) mit 30 % igem Saccharosezusatz (Gefrierschutz) verbracht. Zur weiteren Präparation wurde die Kryobruchmethode angewandt. Die Gewebeblöcke wurden in flüssigem Stickstoff (-176°C) gefroren, gebrochen und direkt mit 1 % igem Osmiumtetroxid in 0,1M Phosphatpuffer (Fa. Roth, Karlsruhe) 60 Minuten nachfixiert. Anschließend wurden die Proben dreimal, jeweils 10 min in 0,1M Phosphatpuffer gewaschen und über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert. Die Präparate wurden zur vollständigen Dehydrierung dem „Critical-Point-Drying“ Verfahren (CPD) unterzogen. Um jeglichen Luftkontakt auszuschließen, wurden die Proben in ein Zwischenmedium (Ethanol) überführt, und in den Präparatekorb des CPD-Gerätes (BAL-TEC CPD 030) verbracht. Der Ersatz des Zwischenmediums erfolgte durch mehrmaliges Zuführen von flüssigem CO₂ und Abführen des Ethanols unter nicht-atmosphärischen Druckverhältnissen. Die anschließende Trocknung der Präparate wurde durch den Übergang des CO₂ vom flüssigen in den gasförmigen Aggregatzustand gewährleistet (kritischer Punkt bei 73,8 bar und 31 °C). Die getrockneten Präparate wurden auf kohlenstoffbeschichtete Trägerelemente (Stubs) aufgebracht und mit Leitsilber umrandet, so dass eine gute Leitfähigkeit zwischen Präparat und Träger existiert. Die Oberfläche der Proben wurde dann mit einem Goldfilm beschichtet (BAL-TEC MED 020 Coating System) und in das Rasterelektronenmikroskop (LEO 1430 VP) eingesetzt. Die Bilderzeugung erfolgte mit der Software „LEO32“. Die Bilder wurden im JPEG-Format gespeichert.

4 Ergebnisse

4.1 Angaben zur Geburt

Die fetalen Plazenten stammen aus Nachzuchten von im Tierpark Hagenbeck in Hamburg, Gemeinnützige Gesellschaft mbH, und im Zoo Leipzig, GmbH, gehaltenen Elefantenkühen. Die Nachgeburten wurden unter physiologischen Bedingungen geboren und durch das tierpflegerische Personal geborgen. Nähere Angaben zur Geburt sind der Tabelle sechs zu entnehmen.

Die in dieser Arbeit erhobenen Befunde beziehen sich auf den fixierten Zustand des Gewebes.

Tab. 6 Angaben zur Geburt und zu den Plazenten

	E1	E2	E3	E4
Standort	Leipzig	Hamburg	Hamburg	Hamburg
Geburtsdatum	05.04.2002	14.05.2003	26.11.2004	11.04.2007
Geburtszeit	04:30 Uhr	05:53 Uhr	22:19 Uhr	06:10 Uhr
Geburtsverlauf	Normalgeburt	Normalgeburt	Normalgeburt	Normalgeburt
Gewicht der Plazenta	19 kg	20 kg	23,5 kg	13,6 kg
Wann aufgefunden?	5 h p.p.	2,5 h p.p.	unmittelbar p.p.	unmittelbar p.p.
Wie aufgefunden?	vollständig	vollständig	vollständig	vollständig
Name des Kalbes	Voi Nam	Kandy	Thai	Shila
Gewicht des Kalbes	120 kg	120 kg	140 kg	geschätzt 70 – 100 kg
Krankheiten des Kalbes p.p.	keine	keine	keine	keine
Allgemein- und Entwicklungszustand des Kalbes	gut	gut	gut	gut

4.2 Allantois

4.2.1 Makroskopische Ergebnisse

Die große, massige Fruchthülle der Asiatischen Elefantenkälber war auf der inneren, fetalen Seite vollständig von einer stark vaskularisierten, rot-grauen Allantoismembran ausgekleidet (Abb. 8, 10).

Der Nabelstrang enthielt drei Gefäße, zwei Aa. umbilicales und eine V. umbilicalis mit Durchmessern von 1 bis 1,5 cm und Wandstärken zwischen 2 und 5 mm (Abb. 8, 9). Die Nabelgefäße zweigten sich in der Plazenta auf. Vier Gefäßpaare zogen in divergierender Richtung in die Plazenta.

Die Allantoismembran überzog die Nabelgefäßpaare und vereinigte sich zu freien Allantoisdoppellamellen. Am Chorion trennten sich beide Allantoismembranen voneinander und vereinigten sich mit dem Chorion. Die Allantois und das Chorion waren in allen Bereichen fest miteinander verwachsen und bildeten das Allantoichorion (tertiäres Chorion). Die Doppellamellen unterteilten das Allantoislumen in vier Kompartimente. Die Dicke der Allantoislamellen war lokal unterschiedlich und konnte maximal eine Stärke von 1 cm erreichen. Aufgrund der Zerreißen während der Geburt war eine räumliche Rekonstruktion der Allantoisabteile nicht mehr möglich (Abb. 10, 11). Zentral bestand eine räumliche Verbindung zwischen den einzelnen Kompartimenten.

Unmittelbar unter der Allantois verliefen zahlreiche Gefäße mit einem Durchmesser bis zu 1,5 cm und weißgrauer Farbe, die sich in das Lumen der Allantoishöhle vorwölbten. Die zahlreichen kleineren Gefäße zeichneten sich deutlich am Allantoichorion sowie an den verwaschenen rotgrauen, freien Allantoismembranen als blaulila Gefäßstraßen ab. An der luminalen Oberfläche des Allantoichorions waren narbenzugähnliche Bildungen vorhanden. Sie waren diffus verteilt, oval geformt und besaßen eine unterschiedliche Größe. Ihre maximale Ausdehnung betrug 5 x 2 cm (Abb. 12). Die allantoisseitige Oberfläche war glatt und wölbte sich unterschiedlich stark ins Allantoislumen vor. Ihre Farbe war weiß bis perlmuttfarben, die Konsistenz derb-elastisch. Im Anschnitt erschien die Schnittfläche glatt und nicht erhaben.



Abb. 8 Die Nabelschnur (Pfeil) zweigt sich in vier Gefäßstränge (Sterne) auf und stülpt die Allantoismembran ein, wodurch sich vier Allantoiskammern formen, welchen geburtsbedingt nicht mehr intakt sind.



Abb. 9 Nabelgefäße des Nabelstranges. Die Vena umbilicalis (Pfeil) zweigt sich in das erste Venenpaar auf. Aa. umbilicales zeichnen sich durch eine stärkere Gefäßwand aus.

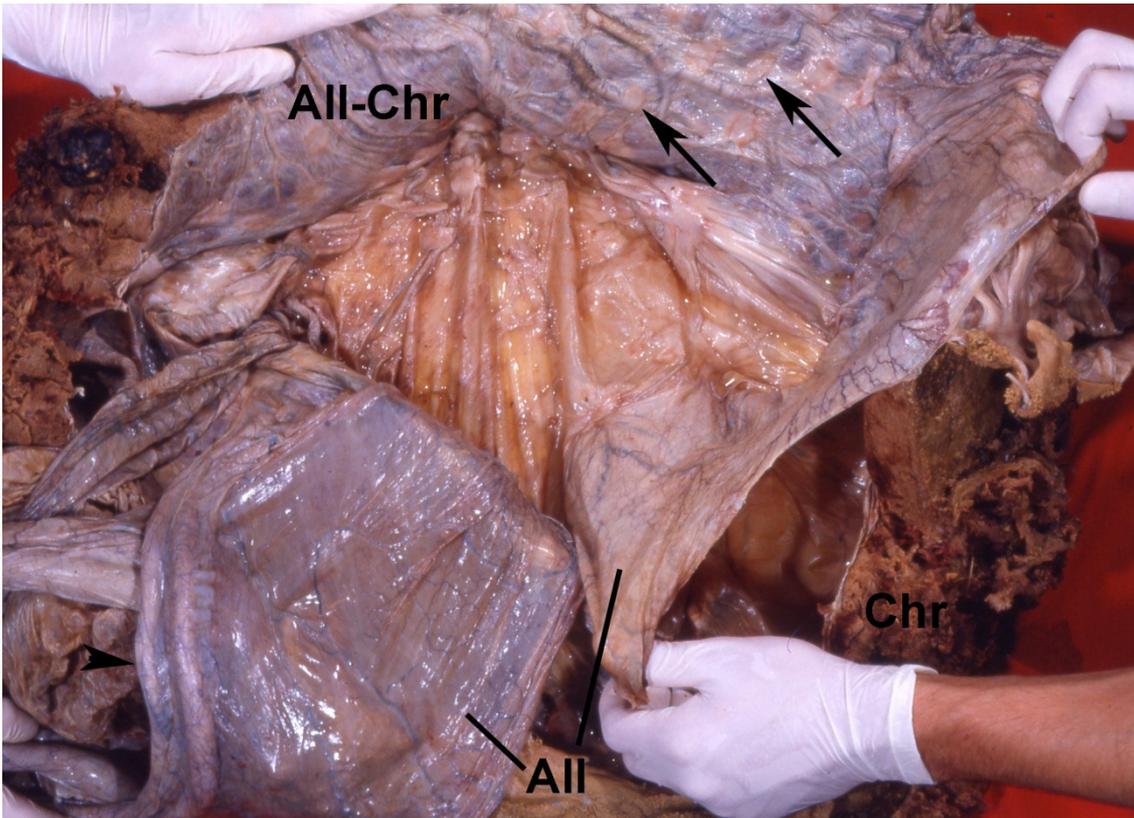


Abb. 10 Einblick in die eröffneten Fruchthüllen. Allantoismembranen (All) formen vier Allantoiskammern. Versuch der Rekonstruktion einer Allantoiskammer. Am Allantochochion (All-Chr) sind „narbenzugähnliche“ Bildungen deutlich zu erkennen (Pfeile).



Abb. 11 Rekonstruktionsversuch einer unter der Geburt zerrissenen Allantoiskammer. Gut sichtbar ist der hohe Grad an Vaskularisation der Allantoismembranen.



Abb. 12 Narbenzugähnliche Bildungen der Allantois auf der fetalen Seite des Allantochochions (Pfeile). Die Gefäße des Allantochochions haben eine bläulila Farbe und sind deutlich vom umliegenden Gewebe zu unterscheiden.

4.2.2 Lichtmikroskopische Ergebnisse

Die Allantois wurde von einem einschichtigen, in einigen Bereichen mehrreihig erscheinenden, iso- bis hochprismatischen Epithel bekleidet (Abb. 13, 14). Der Zellkern war rund bis ovoid und heterochromatinreich. Die Zellen hatten eine Breite von 3 bis 15 μm . Im Bereich der freien Allantoissepten waren die Epithelzellen zum größten Teil isoprismatisch und in ihrer Größe heterogen. Dagegen war das Allantochochion von einem vermehrt hochprismatischen Allantoisepithel mit Zellgrößen von ca. 5 x 5 x 15 μm bekleidet (Abb. 14). Die Oberfläche des Allantoisepithels erschien im lichtmikroskopischen Bild kopfsteinpflasterartig, wobei sich der apikale Bereich der Epithelzelle hervorwölbte und die Zellränder zur Basalmembran hin abfielen. Zelloberflächenmodifikationen in Form von Mikrovilli waren lichtmikroskopisch vereinzelt als Bürstensaum zu differenzieren (Abb. 17). Einige Epithelzellen zeigten apikale Zytoplasmaausstülpungen. Der Zellkern konnte sich in diesen Protrusionen befinden. In diesen Fällen waren die Zellausstülpungen nur noch durch unterschiedlich breite Zytoplasmastiele mit der Mutterzelle verbunden. Wenige Protrusionen schienen zwei Kerne zu enthalten. Auch waren Zellen und Zellreste zu finden, bei denen die Ausstülpungen mit oder ohne Nukleus am Stiel abgelöst worden sind (Abb.15). Vereinzelt konnten an der Allantois zottenartige Gebilde gefunden werden. Diese Strukturen bestanden zentral aus Bindegewebe, bedeckt mit Allantoisepithel. Das Epithel saß einer mit der PAS-

Färbung deutlich darstellbaren Basalmembran auf. Sie war bis auf wenige lokale Unterbrechungen durchgehend ausgebildet. Die Basallamina erschien bei höherer Vergrößerung zum subepithelialen Gewebe hin aufgefasert.

Die Lamina subepithelialis entsprach eine sehr schmale Gewebsschicht. Der feinfibrilläre Faseranteil war in diesem Bereich deutlicher ausgebildet als im darunter liegenden interlaminären Bindegewebe. Neben den zum größten Teil vorkommenden kollagenen Fasern waren mit Hilfe der Elastika-Färbung auch vereinzelte elastische Faseranteile nachweisbar. Der Anteil der Stromazellen stellte sich im subepithelialen Bereich deutlich höher dar als im Bindegewebsgrundstock zwischen beiden Epithellagen. Einige der zahlreichen Kapillaren reichten direkt an die Basalmembran. Die lokalen Unterbrechungen der Basalmembran ließen keinen Zusammenhang mit subepithelialen Gefäßen erkennen.

Im lockeren interlaminären Bindegewebe nahmen die elastischen Fasern einen höheren Anteil am Gesamtfasergehalt ein. Die Verteilung der elastischen Fibrillen erschien unsystematisch und ließ keinen Bezug zu anderen Strukturen erkennen. Vereinzelte Stromazellen hatten eine abgeflachte, spindelförmige Gestalt. Zentral im interlaminären Bindegewebe waren zahlreiche größere Gefäße lokalisiert, die eine durchgehende Gefäßschicht bildeten. Eine Differenzierung zwischen Arteriolen und Venolen war nicht möglich.

Die am Allantochorion beschriebenen „narbenzugähnlichen“ Bildungen waren mikroskopisch als kollagene „Bindegewebskissen“ zu charakterisieren. Muskelzellen konnten nicht nachgewiesen werden. Das Allantoisepithel und auch das Chorion zeigten in direkter Nachbarschaft zu diesen Verstärkungen die gleiche Morphologie wie in anderen Bereichen. Am Übergang zwischen regulär ausgebildeten Allantoisepithel und den Bindegewebskissen kam es zu einer Kontinuitätsunterbrechung des Epithels. Die bindegewebigen Zubildungen erschien in weiten Teilen nicht mit Epithel bedeckt (Abb. 16). Die Beständigkeit der Basalmembran war in diesen Bereichen unterbrochen. Chorionseitig waren viele Gefäße lokalisiert. In den Wänden der größeren Gefäße ließen sich elastische Fasern nachweisen.

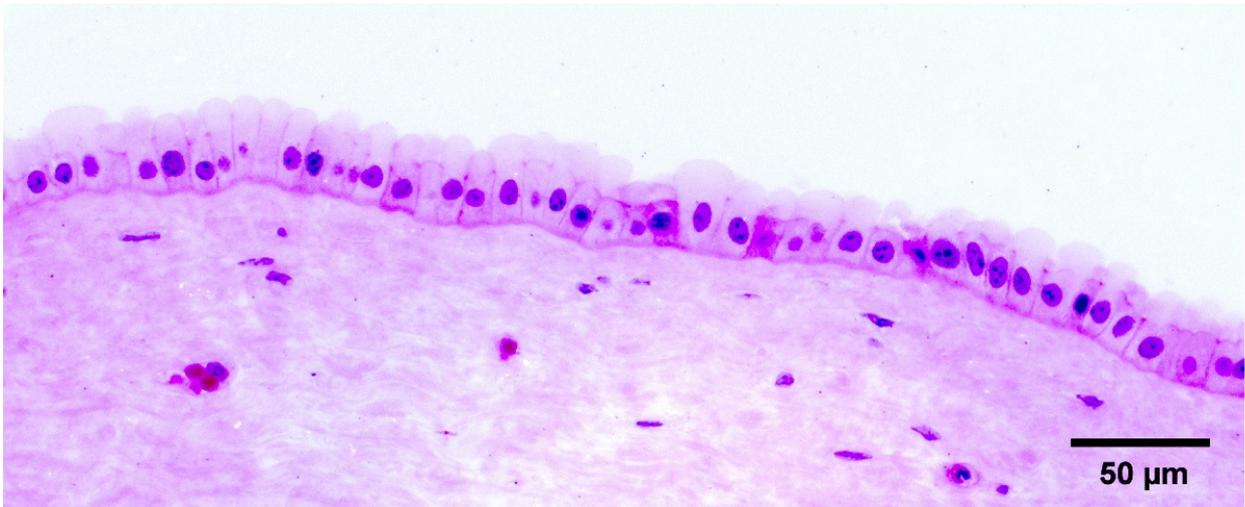


Abb. 13 Allantois mit hochprismatischem Epithel und Zellprotrusionen. Die Basalmembran ist deutlich dargestellt und grenzt das Epithel vom darunter liegenden kollagenen Bindegewebe ab. (E3 ,HE)

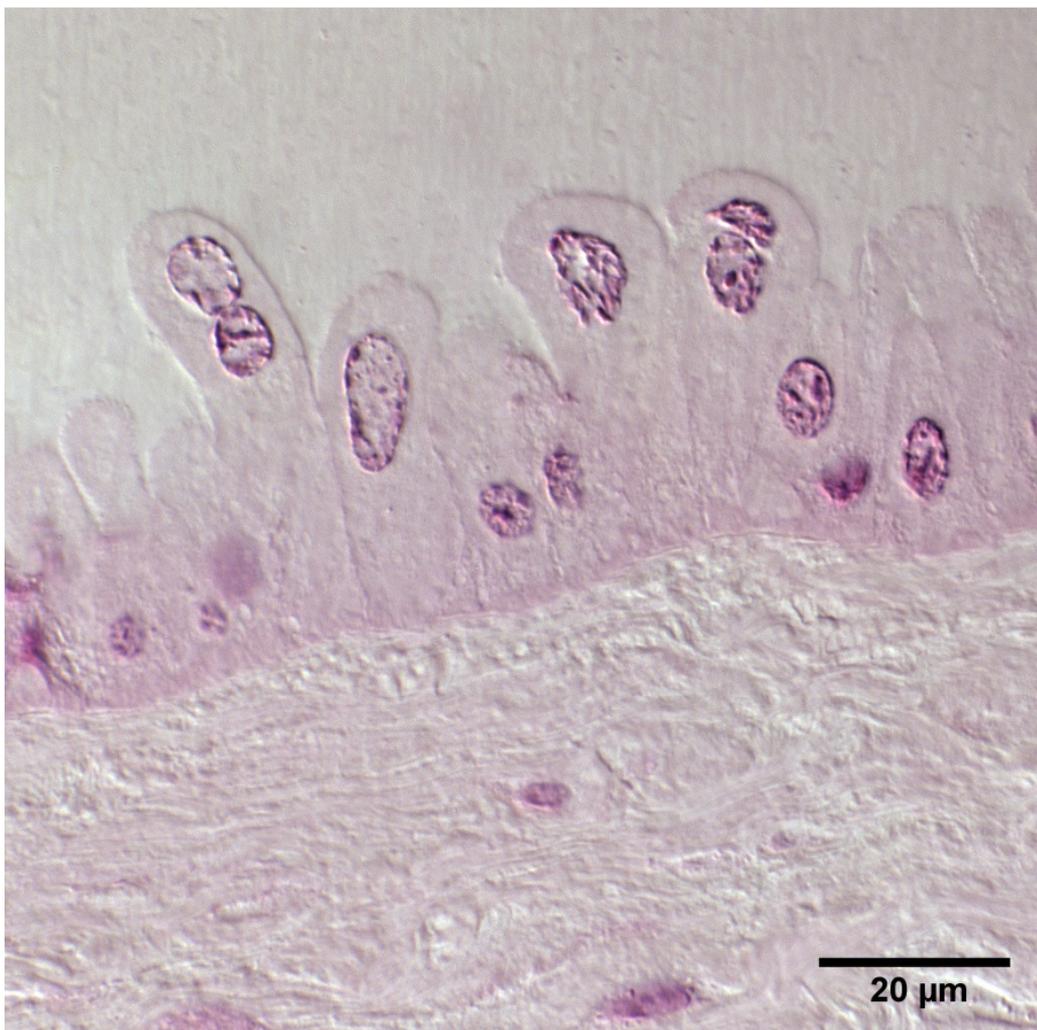


Abb. 14 Allantoisepithel mit hochprismatischem und in einigen Bereichen zweireihigem Erscheinungsbild. Zellprotrusionen mit apikal gelegenen Zellkernen (E4, HE, DIC)



Abb. 15 Gestielte Allantoisepithelzelle (Pfeil). Der Zellkern ist in die Protrusion einbezogen. Daneben sind Zellen mit abgelösten Protrusionen dargestellt. (E4, HE, DIC)

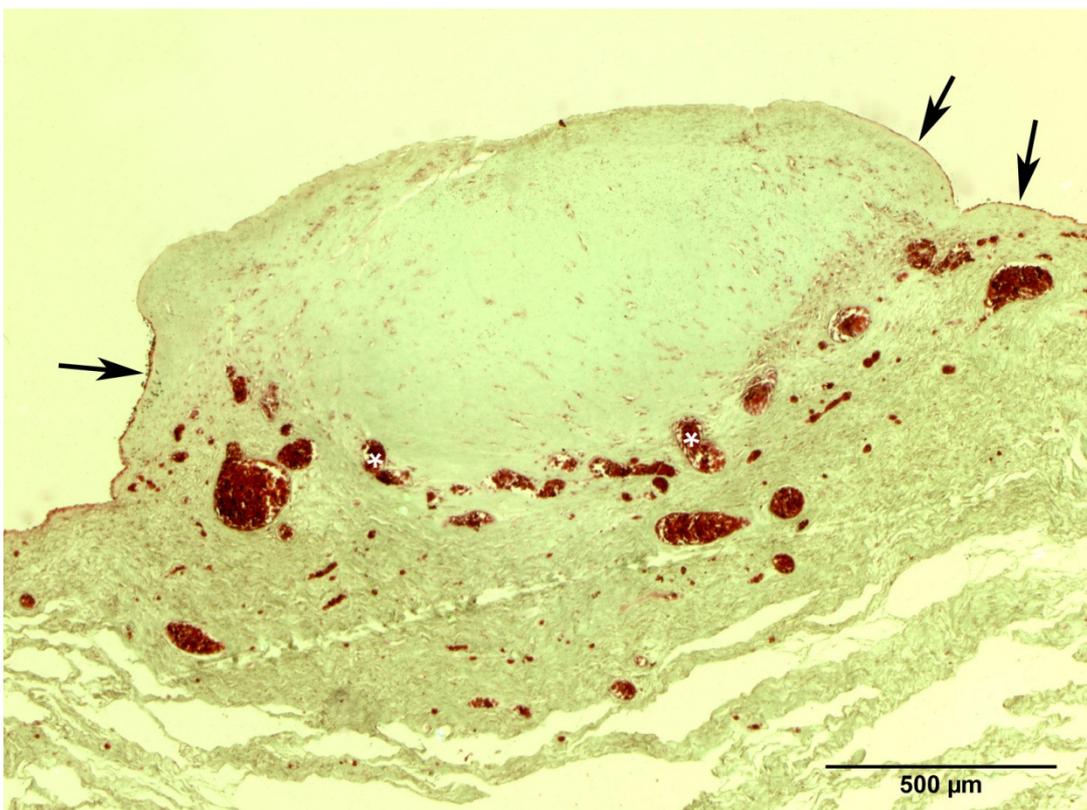


Abb. 16 Narbenzugähnliche Bindegewebsverdickung. Das Allantoisepithel ist unterbrochen (Pfeile). Kapillaren unterlagern das Bindegewebskissen (Sterne), (E1, Trichrom-Masson-Goldner-Färbung)

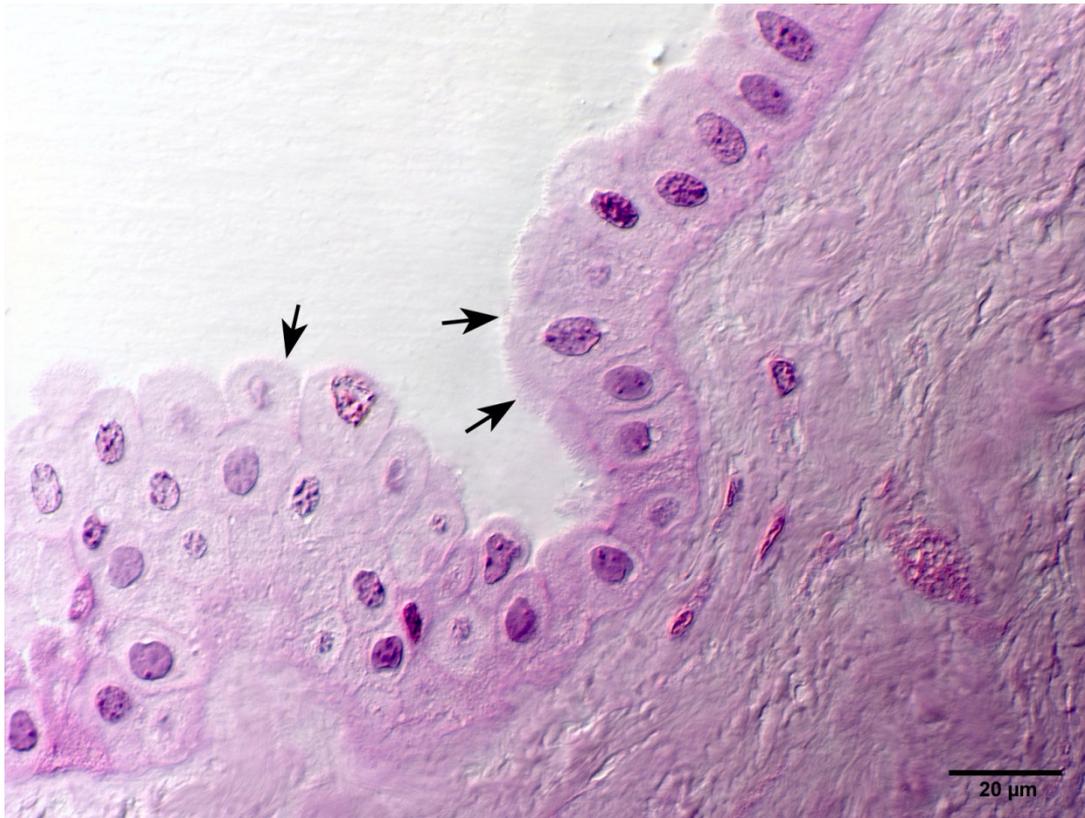


Abb. 17 Allantoisepithelzellen mit lichtmikroskopisch deutlich darstellbaren durch Mikrovilli gebildeten Bürstensaum (Pfeile). Das Epithel ist leicht horonzital angeschnitten, wodurch der falsche Eindruck einer Mehrschichtung des Epithels (linke Bildseite) und langer Mikrovilli (rechts unter den zwei Pfeilen) entsteht (E4, HE, DIC).

4.2.3 Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Die Epithelzellen besaßen eine strukturierte Oberfläche. Transmissionselektronenmikroskopisch konnten unregelmäßig verteilte Mikrovilli unterschiedlicher Länge nachgewiesen werden, welche im Inneren Actinfilamente aufwiesen. Rasterelektronenmikroskopisch waren neben Mikrovilli auch Mikroplicae nachweisbar (Abb. 23, 28). Die kopfsteinpflasterartige Epitheloberfläche sowie die polymorphe Gestalt der Zellen stellten sich rasterelektronenmikroskopisch deutlich dar. Die erwähnten Oberflächenmodifikationen erstreckten sich bis in die Tiefe der Interzellularräume. An den Kontaktstellen benachbarter Zellen waren die Zellgrenzen deutlich nachzuvollziehen. Beide Zellen bildeten entlang der Zellgrenze eine erhabene Zellmembranleiste, die zur Kontaktstelle der Zellmembranen hin abfiel. Die Kontaktstelle ließ sich als feine Linie im rasterelektronischen Bild nachvollziehen (Abb. 22, 23). Die auf lichtmikroskopischer Ebene beschriebenen Zellprotrusionen konnten ebenfalls rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesen werden. Die gesamte Zelloberfläche wurde von dicht gelagerten Mikrovilli und Mikroplicae bedeckt. Nach Ablösung der Zellprotrusionen aus dem Epithelverband entstand ein konvexes Zellfach, in dem in einigen beobachteten Fällen der verbliebene Stiel noch

erkennbar war. Die Oberfläche der lichtmikroskopisch gezeigten zottenartigen Strukturen war rasterelektronenmikroskopisch different. Sie erschien als Konglomerat mehrerer Epithelzellen (Abb. 21). Die beschriebenen Oberflächenmodifikationen waren in diesen Bereichen weniger stark ausgebildet oder fehlten vollständig. Auch waren die Zell-Zellgrenzen zum Teil nicht mehr nachvollziehbar. Diese Veränderungen konnten eine unterschiedliche Anzahl von Zellen betreffen und sich in unterschiedlichem Maße vom Epithelniveau hervorheben. Auf den Allantoisepithelzellen im Bereich des Allantochorions fanden sich die im weiteren Text für das Amnion beschriebenen blindsackartigen Protrusionen wieder (Abb. 27).

Im transmissionselektronenmikroskopischen Bild stellen sich die Oberflächenstrukturen meist als Mikrovilli dar. Auf der Zelloberfläche fanden sich auch elektronendichte Granula, die sich in unterschiedlichen Stadien des Membrandurchtritts befanden. Im Zytoplasma waren „dense“ und „multivesicular Bodies“ anzutreffen, die am wahrscheinlichsten als Pinozytosevesikel und Phagosomen anzusprechen sind. Die „dense Bodies“ waren elektronendicht, ovoid und von unterschiedlicher Größe (Abb. 24). Die „multivesicular Bodies“ ließen sich von der Zellmembran bis zur basalen Seite der Zelle verfolgen. In der Basalmembran waren zwar keine Einschlüsse aber hindurchtretende Vesikel nachweisbar. Im Zytoplasma kamen auch optisch leere Vakuolen vor. Zell-Zell-Kontakte waren überwiegend in Form von Zonulae adhaerentes ausgebildet. Des Weiteren fanden sich einige Desmosomen und „tight junctions“ (Abb. 25). Die Zellkerne hatten meist ein helleres euchromatinreiches Zentrum. Das elektronendichtere Heterochromatin lag in Form polymorpher Konglomerate an die unterbrochene Kernmembran gedrängt.

Im interlaminären Bindegewebe kamen Stromazellen mit zwei charakteristischen Zellformen vor. Zum einen faden sich dort fibrozytenähnliche, spindelförmige Zellen mit einer glatten Oberfläche, zum anderen kamen polymorphe Zellen mit pseudopodienartigen Zellausstülpungen vor. Die Oberfläche dieser Zellen erschien unregelmäßig. Der Zellkern passte sich den Verhältnissen der jeweiligen Zellform an. Die Bindegewebsmatrix schloss zwischen den locker angeordneten Fibrillen amorphes Material ein. Die Fasern ließen eine Querstreifung erkennen.

Das Endothel der Kapillaren erschien abgeflacht und es fanden sich Pinozytosebläschen im Zytoplasma. Die Zellen waren über Zonulae occludentes miteinander verbunden. Die Basalmembran der Gefäße war vollständig ausgebildet.



Abb. 18 Hochprismatisches Allantoisepithel. Korrespondenz zwischen licht- und elektronenmikroskopischen Befunden (E3, HE)

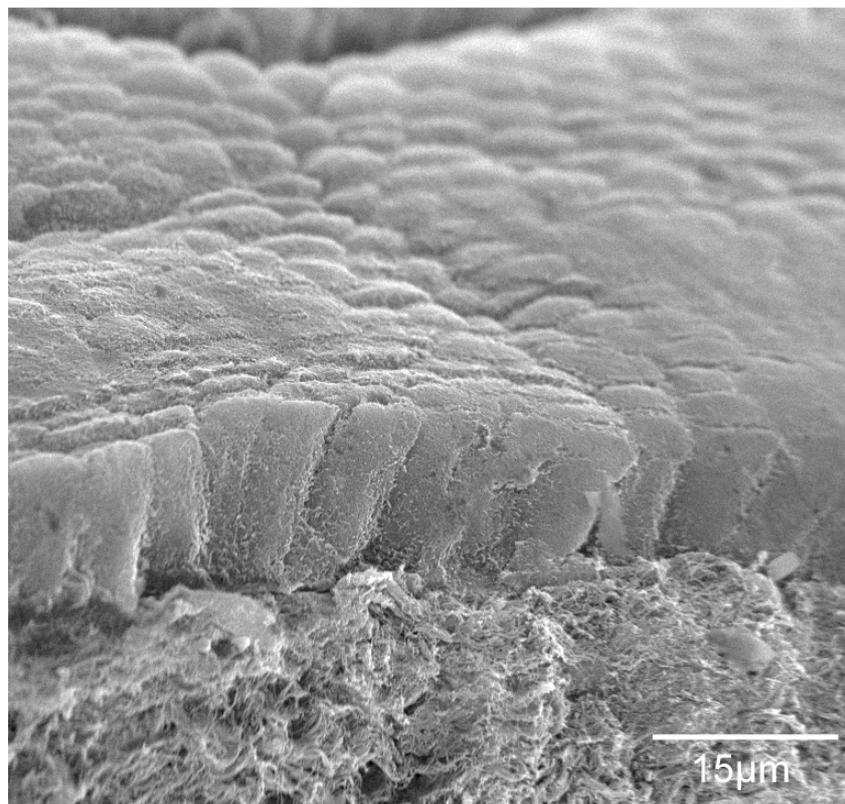


Abb. 19 Hochprismatisches Allantoisepithel mit subepithelialen Bindegewebsfasern. Aufsicht auf eine Gewebsbruchfläche (E2, REM)

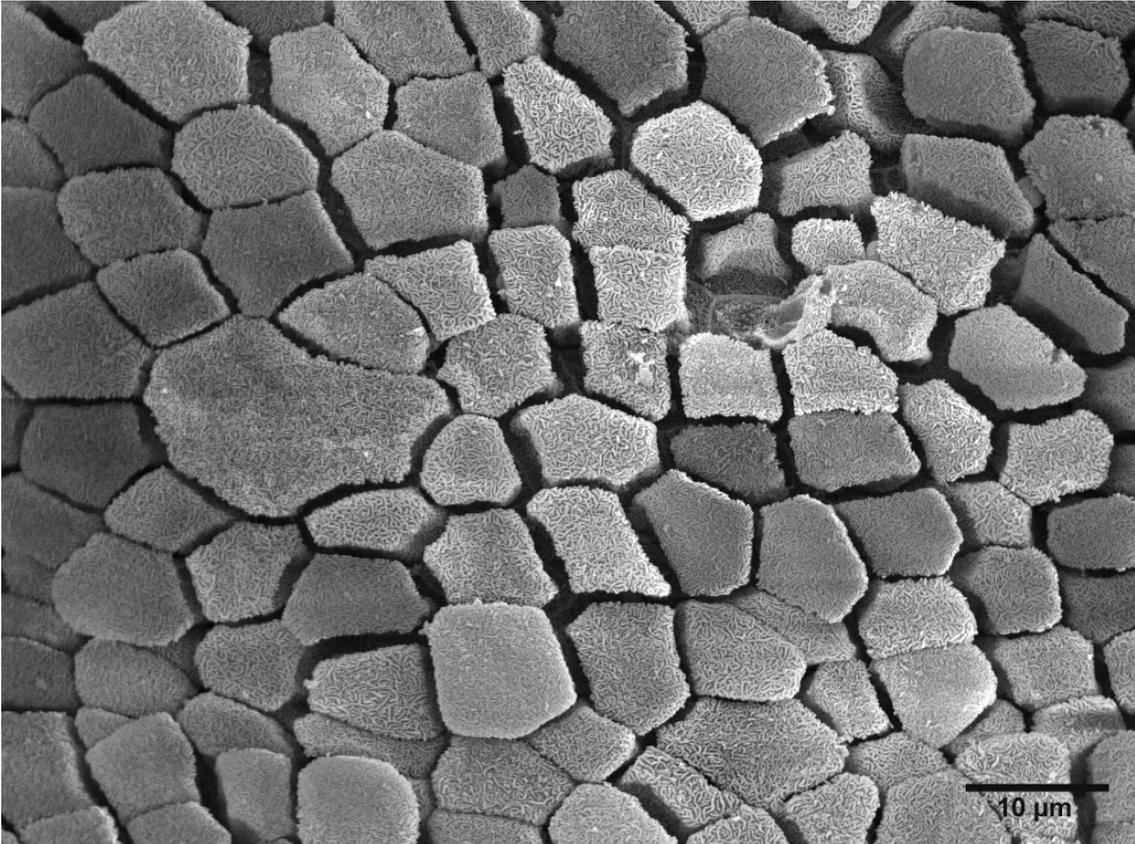


Abb. 20 Übersicht auf das Allantoisepithel. die kopfsteinpflasterartige Allantoisepitheloberfläche und Zelloberflächenmodifikationen. (E2, REM)

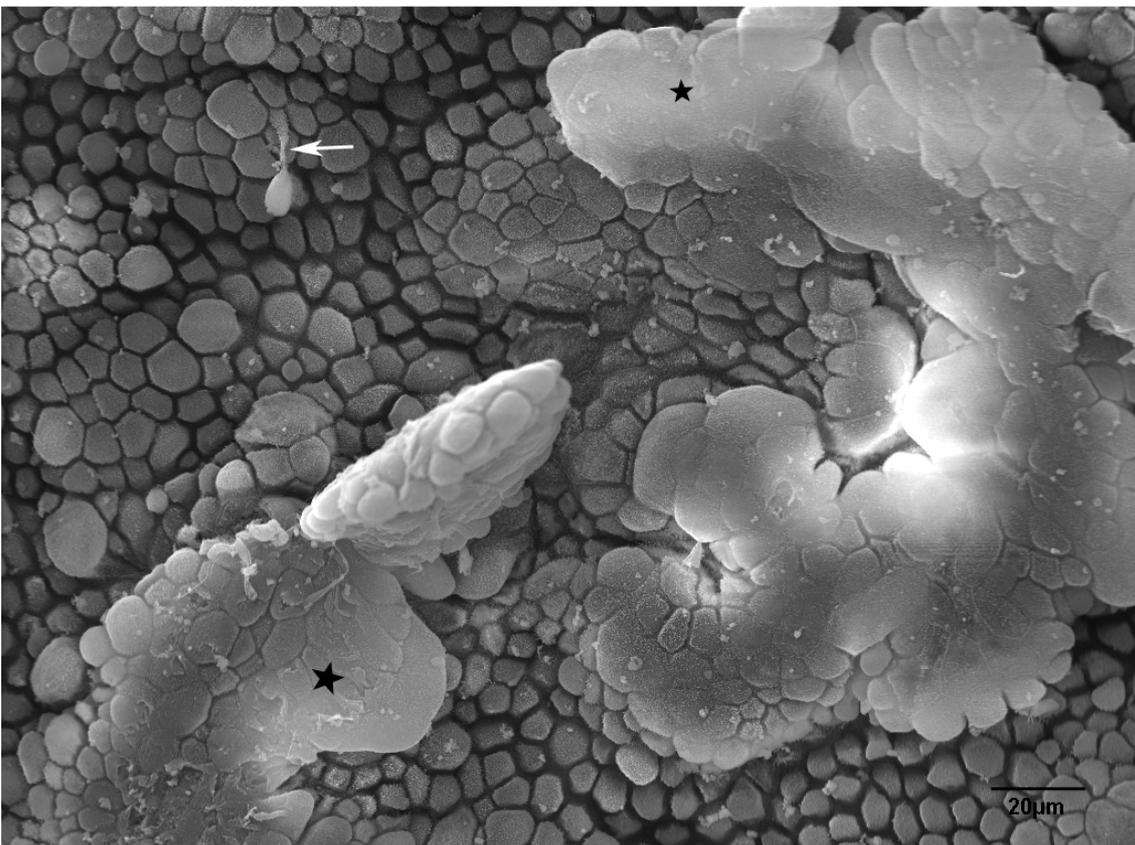


Abb. 21 Allantoiszotten mit verstrichenen Zell-Zell-Grenzen (Sterne). gestielte Epithelzelle (Pfeil) (E4, REM)

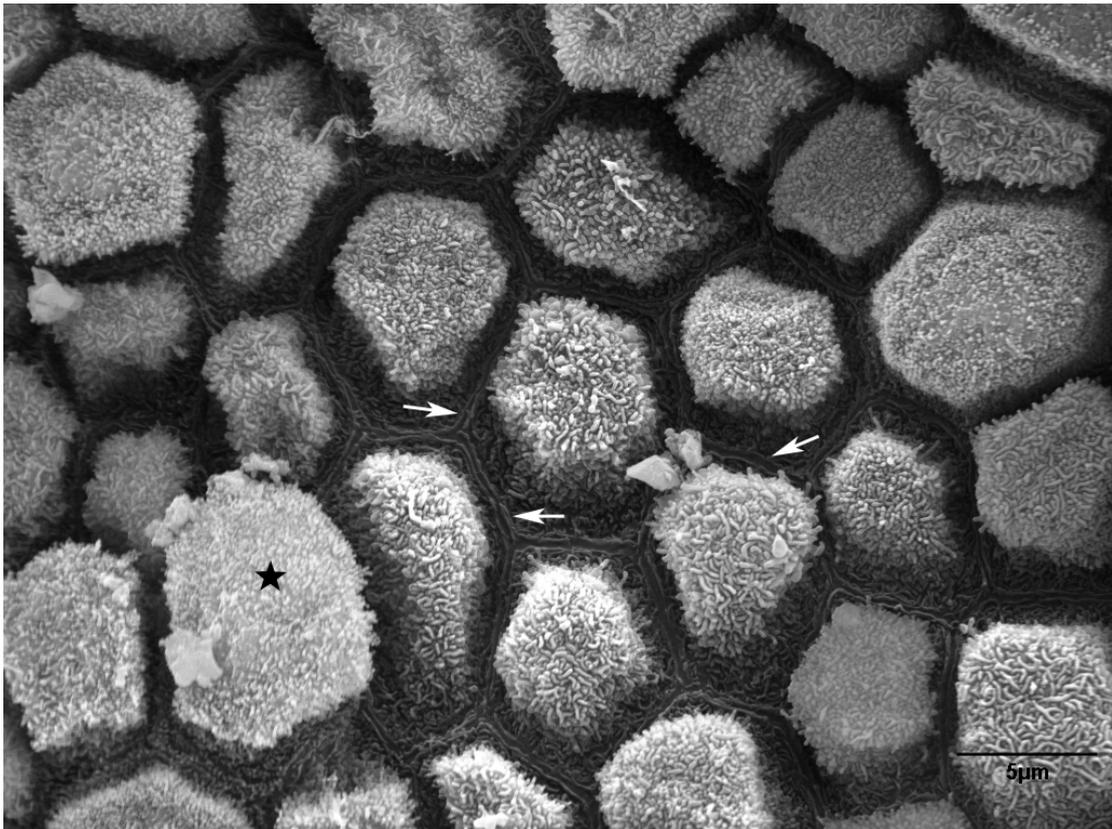


Abb. 22 Kopfsteinpflasterartige Epitheloberfläche mit unterschiedlich hohen Zytolasmaprotrusionen (Stern) und deutlichen Zell-Zell-Grenzen (Pfeile) (E3, REM)

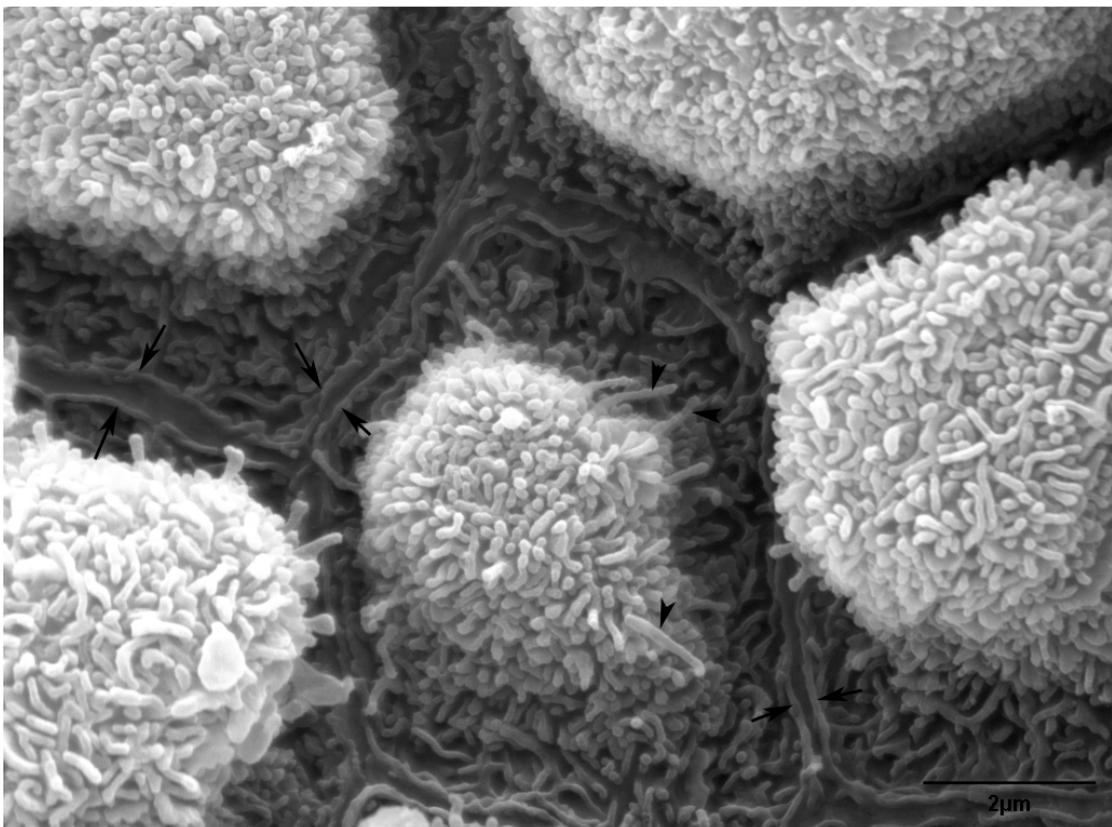


Abb. 23 Detail aus Abb. 22. Oberflächenmodifikationen sind bis in die Tiefe der Interzellularspalten zu verfolgen. An Kontaktstellen benachbarter Zellen sind Zellgrenzen (Pfeile), als Zelloberflächenmodifikationen sind Mikroplicae und Mikrovilli (Pfeilköpfe) deutlich nachzuvollziehen. (E3, REM)

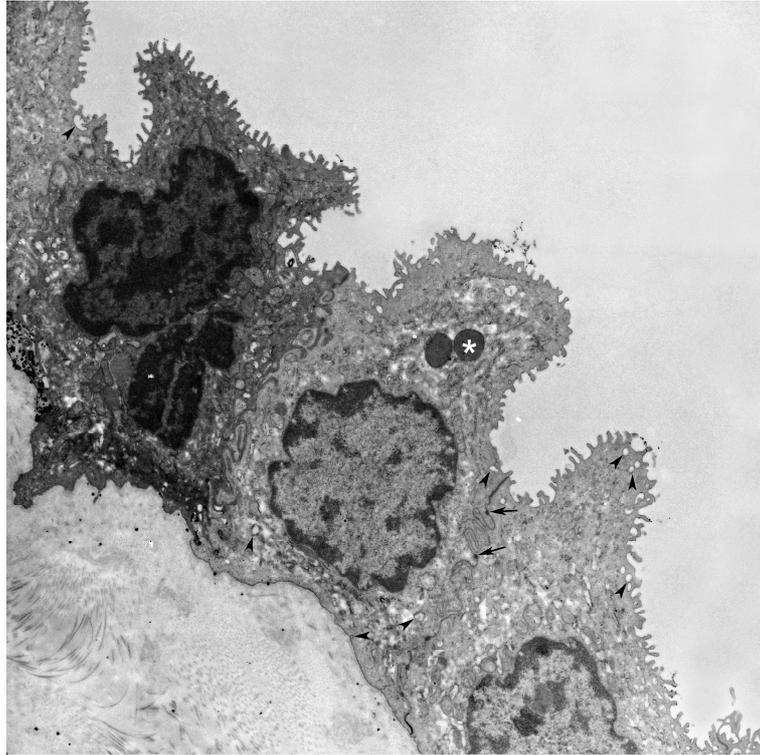


Abb. 24 Zell-Zell-Kontakte des Allantoisepithels sind in Form von Zonulae adhaerentes und vereinzelt Desmosomen (Pfeile) darstellbar. Im Zytoplasma sind multivesicular Bodies (Pfeilköpfe) von apikaler bis basaler Zellmembran sowie dense Bodies (Stern) nachvollziehbar. (E2, TEM, x1200)

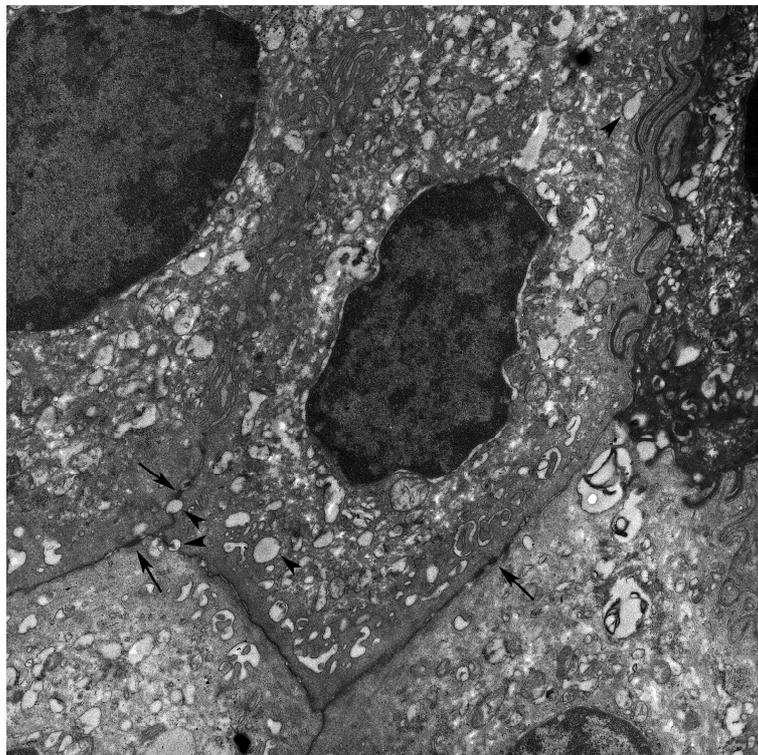


Abb. 25 Queranschnitt benachbarter Epithelzellen, Zell-Zell-Kontakte in Form von Desmosomen (Pfeile) und Zellmembraninvaginationen (rechts oben). Multivesicular Bodies sind im Zytoplasma sowie beim Zellmembrandurchtritt zu beobachten (Pfeilköpfe). (E2, TEM, x1600)



Abb. 26 Gestielte Allantoisepithelzelle, Korrespondenz zwischen licht- und elektronenmikroskopischen Befunden. Die Zellprotrusion enthält den Zellkern. (E4, HE, DIC)

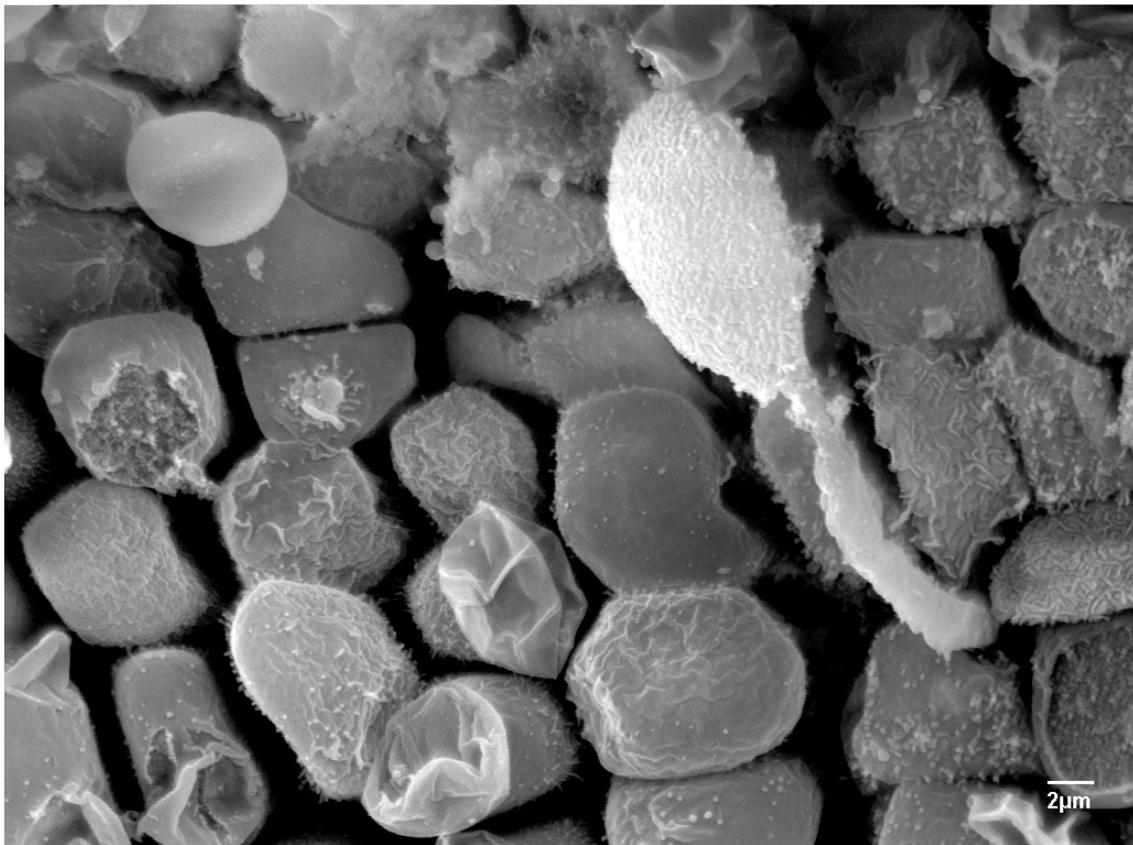


Abb. 27 Allantoisepithel des Allantochorions. Oberflächenmodifikationen (Mikroplacae und Mikrovilli) sind auf der gesamten gestielten Zellprotrusion nachvollziehbar. Verlust der Oberflächenmodifikationen sowie blindsackartige Zytoplasmaausstülpungen sind auf einigen Epithelzellen zu erkennen. (E4, REM)

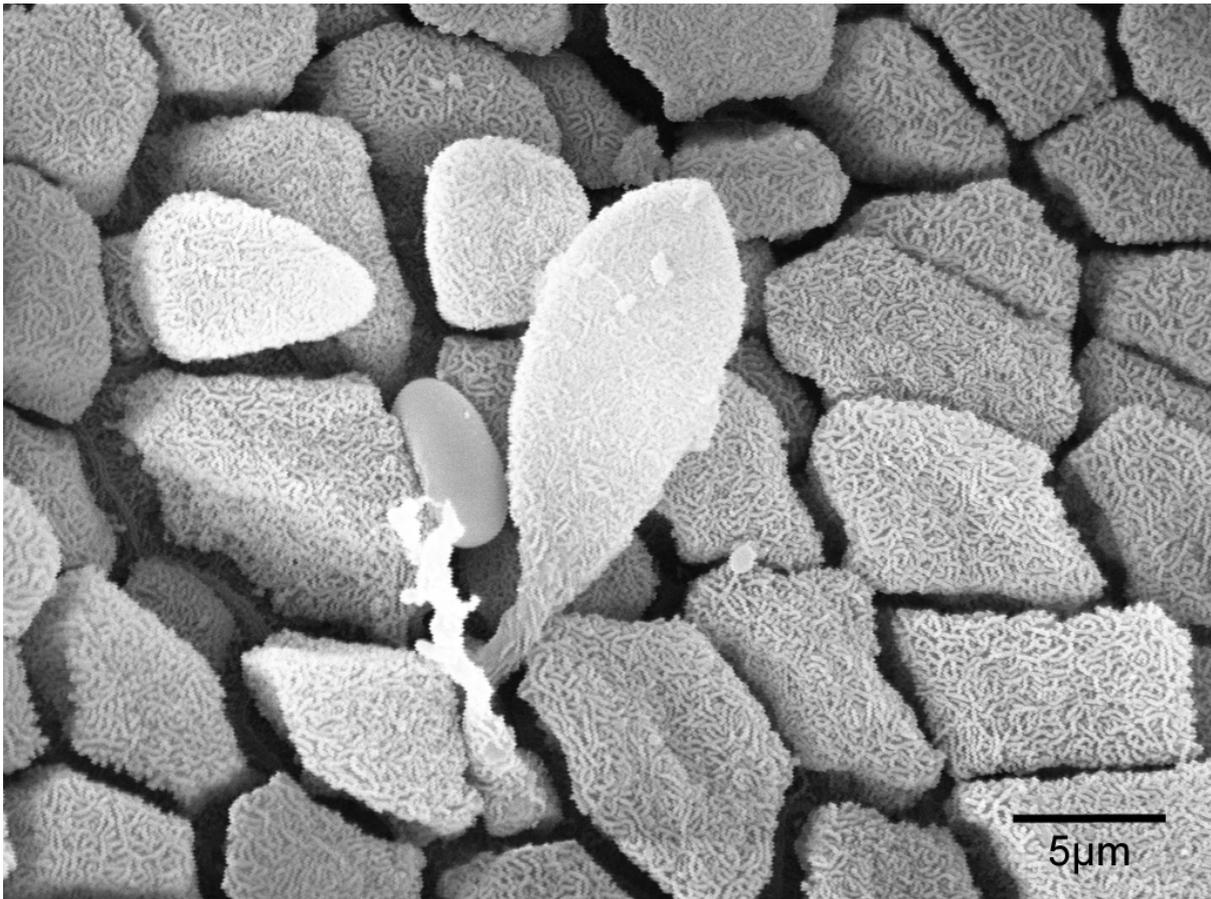


Abb. 28 Zellprotrusion und abgerissener Allantoisepithelzellstiel. Ein Erythrozyt liegt zwischen zwei benachbarten Epithelzellen. (E2, REM)

4.2.4 Zusammenfassung der Befunde

- Iso- bis hochprismatisches Allantoisepithel
- Vereinzelt zweireihige Epithelabschnitte
- Allantoiszotten und oberflächen erhabene, narbenzugähnliche Bildungen
- Polymorphe Epithelzellen
- Kopfsteinpflasterartige Epitheloberfläche
- Gestielte Zellausstülpungen, die kernhaltig sein können
- Intakte Basallamina
- Zelloberflächenmodifikationen in Form von Mikrovilli und Mikroplicae
- Desmosomen und Zytoplasmäeinschlüsse

4.3 Amnion

4.3.1 Makroskopische Ergebnisse

Auf der Innenseite der Plazenta des Asiatischen Elefanten konnten morphologisch zwei Membransysteme unterschieden werden. Zum einen wurden stark vaskularisierte, rotgraue Membranen gefunden, die als Allantoismembranen beschrieben wurden. Daneben waren pergamentartige, durchscheinende, dünne Membranen zu differenzieren, die im Weiteren als Amnion bezeichnet werden. Makroskopisch sichtbar waren in diesen Membranstrukturen keine, oder nur kapilläre Blutgefäße eingebettet. Die präpartalen räumlichen Verhältnisse der Membransysteme der Plazenta waren im fixierten, postpartalen Zustand nicht mehr nachvollziehbar. In einigen Bereichen war eine makroskopische Differenzierung zwischen Amnion und Allantois aufgrund der geburtsbedingten Zerreißungen nur schwer bis gar nicht möglich. Es ist davon auszugehen, dass ein Teil des Amnions im Rahmen der Geburt von der restlichen Nachgeburt getrennt wurde und deshalb nicht mehr vorhanden war.

4.3.2 Lichtmikroskopie

In der lichtmikroskopischen Untersuchung stellte sich das Amnion als bindegewebige Membran dar, die auf beiden Oberflächen von einer Lamina epithelialis bekleidet wurde. In das interlaminaire Bindegewebe waren Gefäße eingebettet (Abb. 29). Die Gefäße hatten unterschiedliche Lumina. Neben Kapillaren fanden sich auch kleine Arteriolen und Venolen. Im subepithelialen Gewebe erschienen die Bindegewebsfasern dichter angeordnet als im Zentrum der Amnionmembran. Zwischen beiden Epithellagen im zentralen Bereich fanden sich im Gegensatz zur Allantois keine größeren Gefäße. Das Epithel war als einschichtiges, iso- bis hochprismatisches Epithel ausgebildet (Abb. 30, 31). Die Zellen hatten eine Höhe von 10 bis 25 µm. Auf der apikalen Seite zeigten einige Epithelzellen Zytoplasmavorwölbungen. Dies konnte einzelne Zellen oder lokal einen Teil des Epithels betreffen (Abb. 31). Das lokale Verteilungsmuster der Zytoplasmaprotrusionen folgte keiner Systematik. Sie waren unterschiedlich stark ausgebildet. Die Höhe der Protrusionen konnte die der Zellkörper bis um das Zweifache überschreiten. In diesen Regionen erschienen die Zellkerne zum Teil undeutlich und nicht scharf vom umliegenden Zytoplasma abgegrenzt. Die Zellkerne waren von runder bis ovaler Form, vermehrt heterochromatinreich und lagen im basalen Drittel der Zelle.

4.3.3 Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Das Amnion wurde von einem einschichtigen Epithel bedeckt, dessen Oberfläche in der Rasterelektronenmikroskopie kopfsteinpflasterartig erschien. Auf den Epithelzellen waren Oberflächenmodifikationen in Form von Mikroplicae und Mikrovilli regellos angeordnet. Diese Oberflächenmodifikationen bedeckten dabei nicht nur die apikale freie Zelloberfläche, sondern konnten auch an den Zellwänden in den Interzellularspalten gesehen werden. Neben den Mikroplicae und Mikrovilli waren blindsackartige Zellmembranausstülpungen zu beschreiben. Sie wiesen eine eingefallene, an Backpflaumen erinnernde Oberfläche ohne Mikrovilli und Mikroplicae auf (Abb. 36, 37). Ohne ein bestimmtes Verteilungsmuster erkennen zu lassen, kamen sie auf einzelnen Zellen oder lokal auf Epithelzellverbänden vor. Diese Befunde korrelieren mit den in der Lichtmikroskopie dargestellten Zytoplasmavorwölbungen. Kam es zur Ablösung der Protrusionsmembran, blieben rundliche Areale auf den Epithelzellen zurück. Sie wurden von einer wallartigen Struktur eingegrenzt, die als Ansatzstellen der Protrusionsmembran angesehen werden konnten. In den umschriebenen Arealen waren Mikroplicae und Mikrovilli zu erkennen, die im Vergleich zu denen der restlichen Zelloberfläche kleiner erschienen (Abb. 33). In Regionen, die etwas tiefer zum allgemeinen Epithelniveau lagen, war eine dritte Form von Oberflächenmodifikationen darzustellen. Kleinere Vergrößerungen erweckten den Eindruck einer verschmutzten Epitheloberfläche. In höheren Vergrößerungen waren die Oberflächenveränderungen jedoch eindeutig als feinste filiforme Zytoplasmafortsätze zu charakterisieren. Diese villösen Strukturen konnten an ihrem Ende aufgetrieben sein. Diese Auftreibungen waren zum Teil abgelöst und lagen frei auf der Epitheloberfläche (Abb. 38, 39).

Das für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung angewandte Präparationsverfahren erzeugte Bruchkanten an den Amnionpräparaten. An diesen Bruchkanten konnte das Zellinnere dargestellt werden. Zwischen den Epithelzellen waren deutliche Zell-Zellgrenzen erkennbar. Spezielle Zell-Zellkontakte waren auf REM-Ebene nicht eindeutig zu differenzieren. Das Zytoplasma erschien dicht granulär und hatte ein heterogenes Erscheinungsbild. Die granuläre Grundsubstanz wurde von Löchern und tubulären Strukturen durchsetzt. Im Zytoplasma fanden sich des Weiteren sphärische Impressionen, deren Inhalt präparationsbedingt verloren ging. Sie stammten am wahrscheinlichsten von herausgelösten Zellorganellen, wie Mitochondrien oder Ribosomen (Abb. 35, 40, 41). Das Innere der Zellkerne erschien homogen granulär. In einigen aufgebrochenen Kernen ließen sich homogen glatte Kernkörperchen darstellen. In anderen Zellen waren die Nuclei

herausgebrochen und hinterließen größere sphärische Impressionen. In den Wänden der kuppelartigen Vertiefungen ließen sich rinnenförmige Eindrücke darstellen, die als tubuläre Strukturen in die Tiefe der Zelle zogen. Die Impressionen waren am wahrscheinlichsten dem Endoplasmatischen Retikulum zuzuordnen (Abb. 40).

Unterhalb des Epithels stellte sich das Bindegewebe als ein ungeordnetes, fibrilläres Netzwerk dar. Das Bindegewebe schloss Erythrozyten enthaltende Gefäße ein. Vergleichend mit den lichtmikroskopischen Untersuchungen erschienen die subepithelialen Bindegewebsfibrillen dichter als im weiter zentral gelegenen Bindegewebe.

4.3.4 Zusammenfassung der Befunde

- Die Differenzierung zwischen Amnion und Allantois ist in vielen Bereichen der ausgetragenen Plazenta nur schwer möglich.
- Einschichtiges, iso- bis hochprismatisches Amnionepithel
- Kopfsteinpflasterartige Epitheloberfläche
- Epithelzellen tragen Mikrovilli und Mikroplicae
- Backpflaumenartige Zytoplasmaprotrusionen

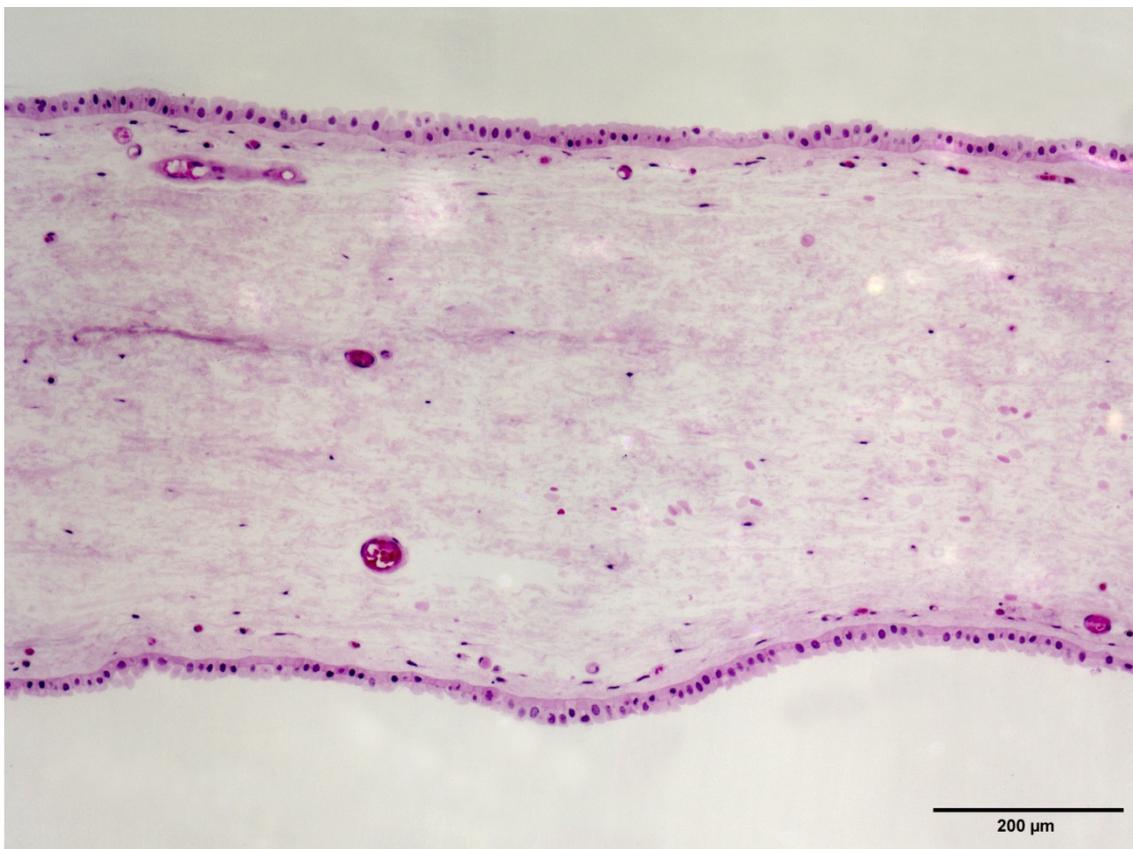


Abb. 29 Amnionmembran. Das ungeordnete Bindegewebe schließt größere Gefäße ein und ist beiderseits mit einem einschichtigen, iso- bis hochprimatischen Epithel bekleidet. (E4, HE)

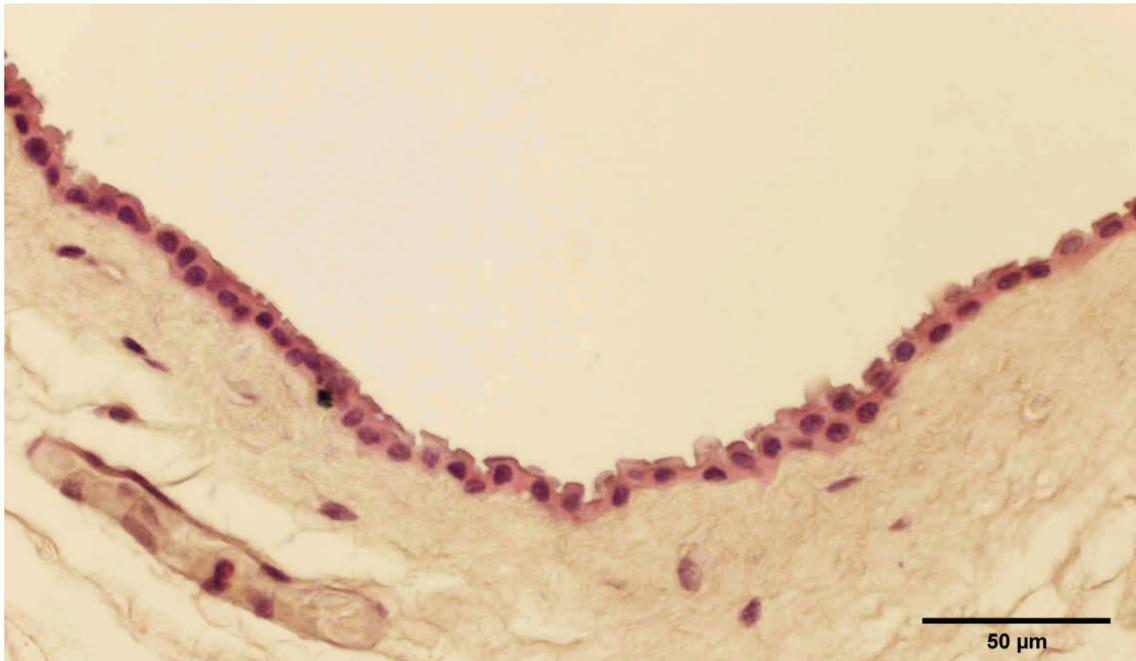


Abb. 30 Isoprismatisches Amnionepithel. Die Oberfläche erscheint kopfsteinpflasterartig. Unter dem Epithel liegt ungeordnetes kollagenes Bindegewebe mit Kapillaren und Fibroblasten. (E2, HE)

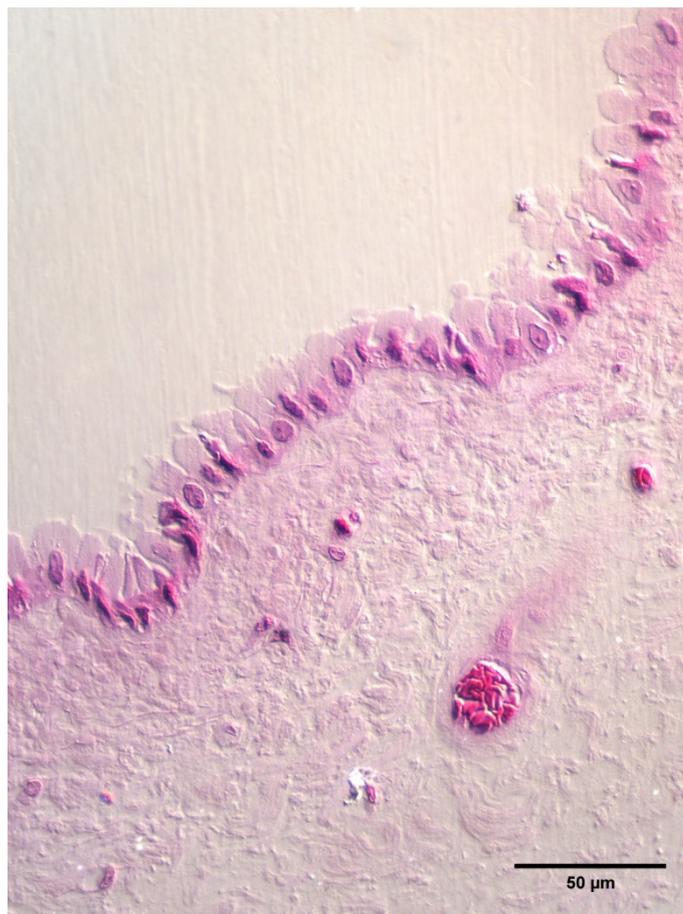


Abb. 31 Amnionepithel mit apikalen Zytoplasmaprotrusionen (E3, HE, DIC)

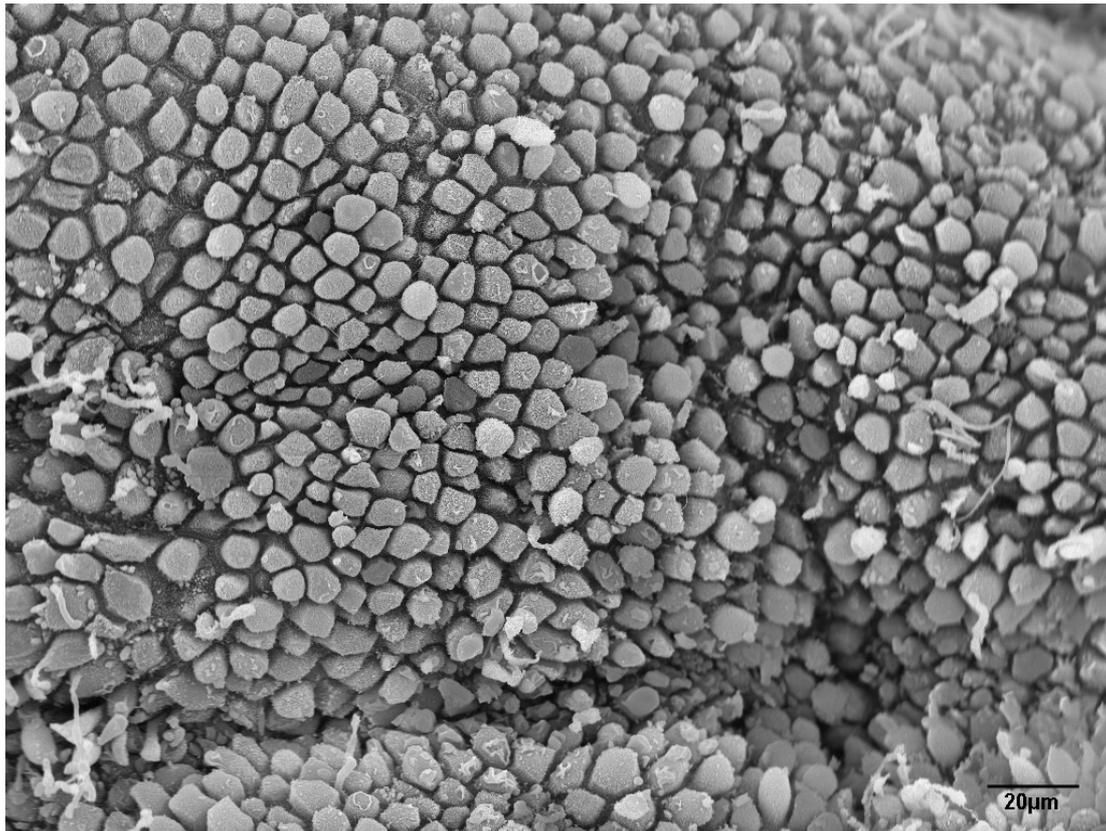


Abb. 32 Kopfsteinpflasterartige Epitheloberfläche. Interzellularspalten sind sehr weit. Vereinzelt liegt nicht zum Epithel gehöriges Material auf der Oberfläche. (E3, REM)

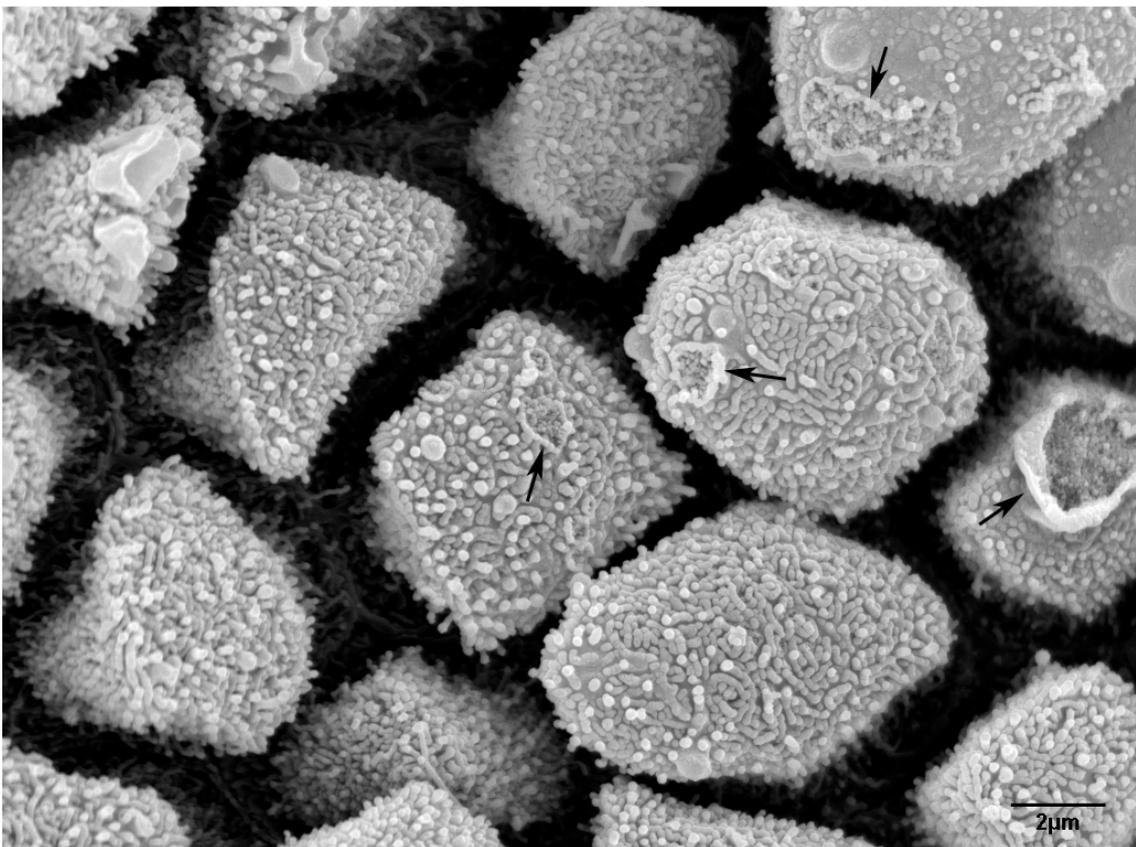


Abb. 33 Oberflächenmodifikationen – Mikroplicae, Zytoplasmaprotrusionen, abgelöste, wallförmige Protrusionsmembran (Pfeile) (E3, REM)

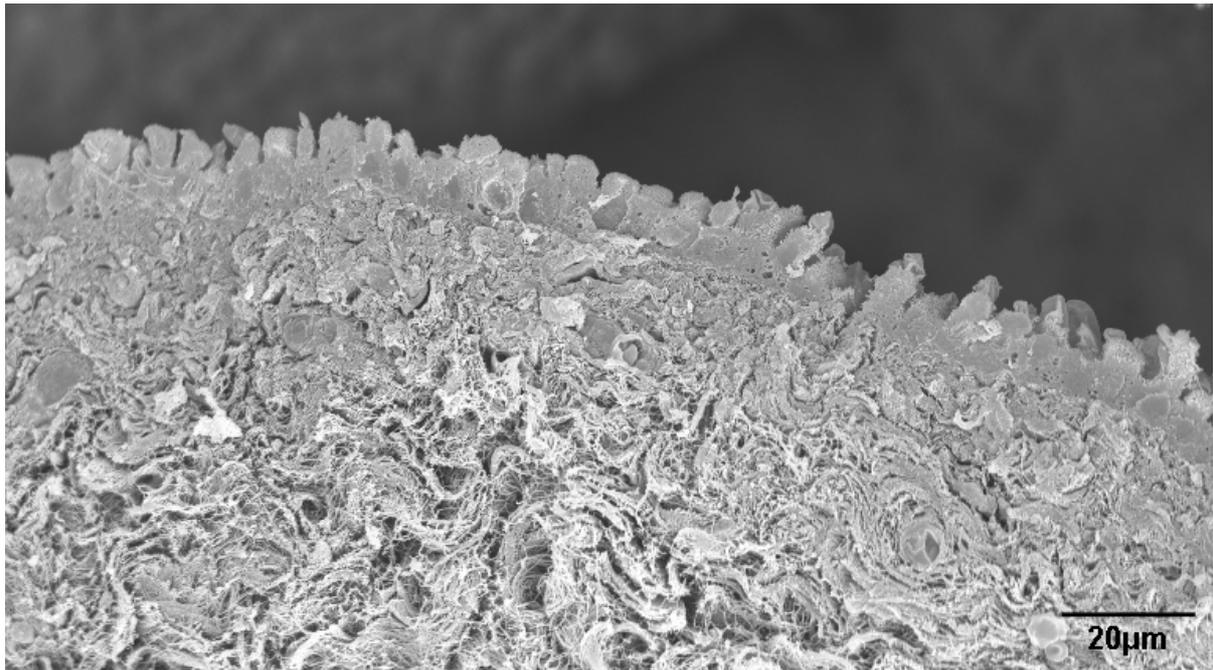


Abb. 34 Übersichtsaufnahme der Amnionmembran. Isoprismatisches Epithel mit Zytoplasmaprotrusionen sitzt kollagenem Bindegewebe auf. (E3, REM)



Abb. 35 Detail aus Abb. 34. Relief einer aufgebrochene Amnionepithelzelle, mit freiliegendem Nukleus und zytoplasmatischen Eindrücken von Zellorganellen. (E3, REM)

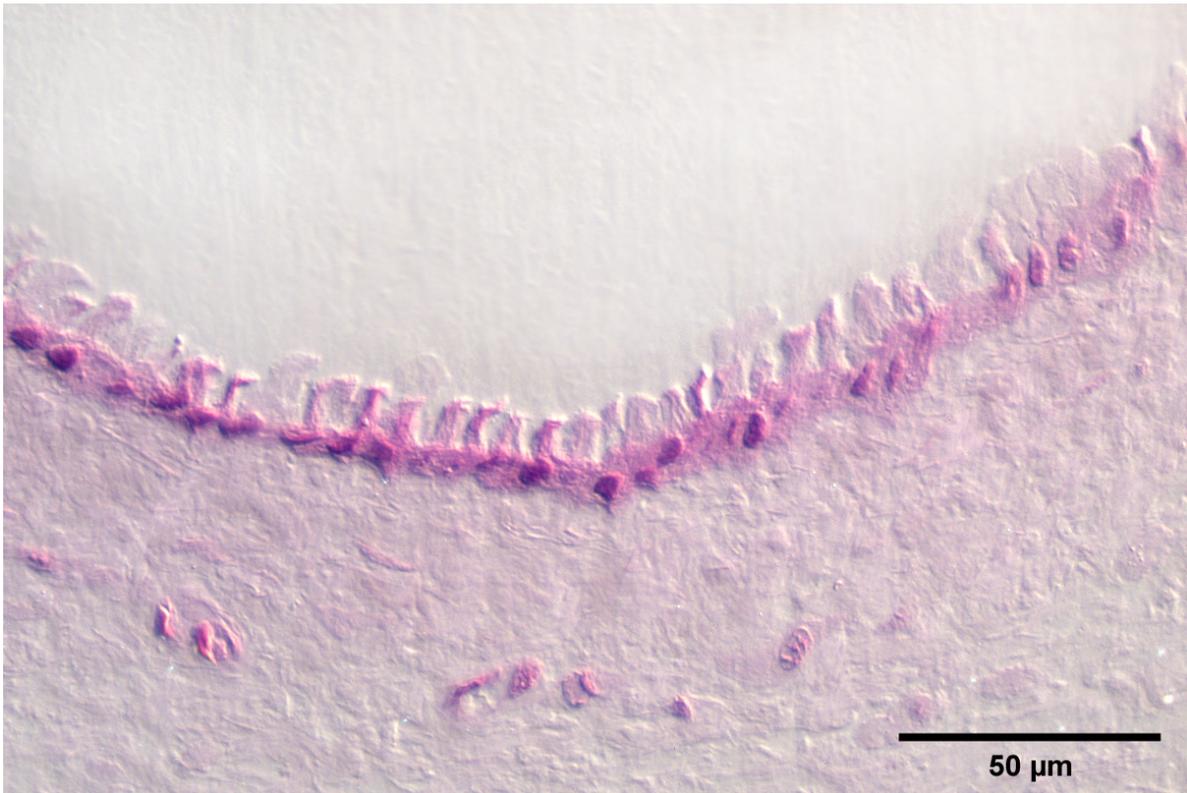


Abb. 36 Lichtmikroskopische Darstellung von Zytoplasmaprotrusionen am Amnionepithel, korrespondierend zu Abb. 38 (E3, HE, DIC)

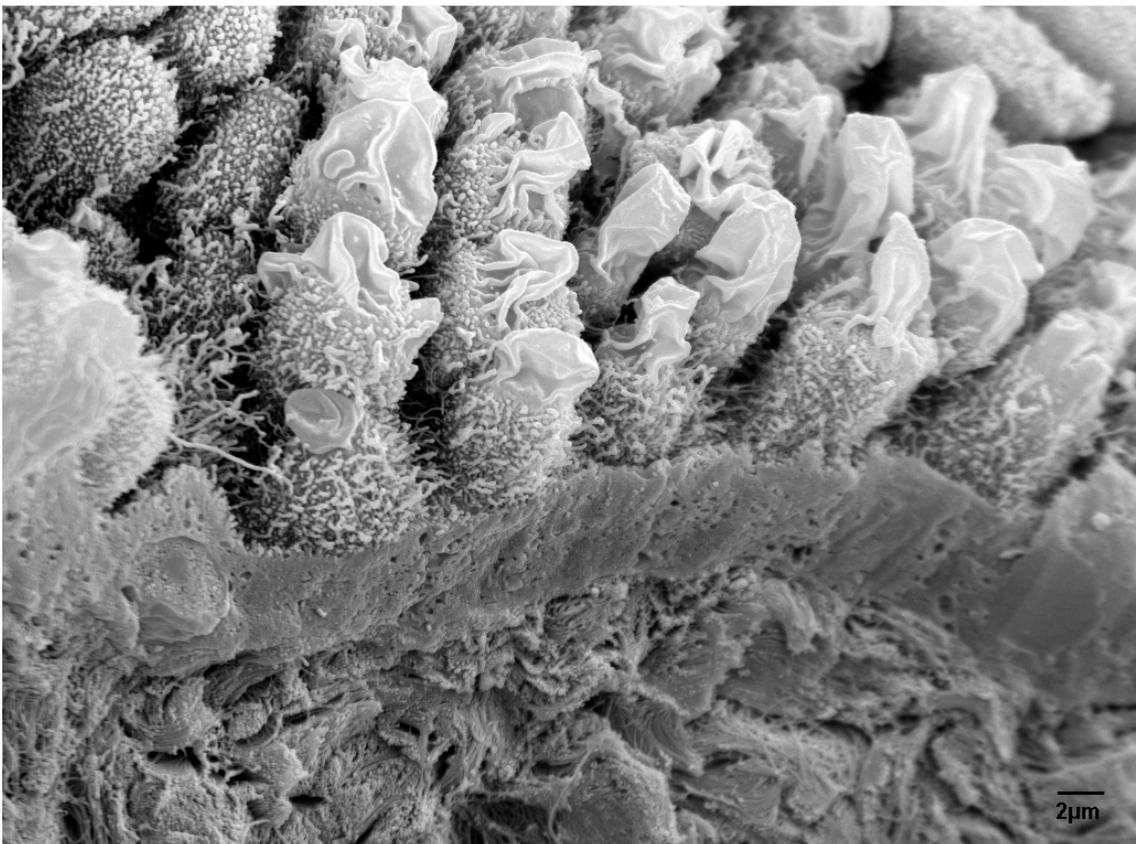


Abb. 37 Backpflaumenartige Zytoplasmaprotrusionen ohne Oberflächenmodifikationen. An der Bruchkante links im Bild ist eine aufgebrochene Epithelzelle mit dargestelltem Nukleus, Nukleolus sowie Zellorganellen zu erkennen. (Detail siehe Abb. 41) (E3, REM)

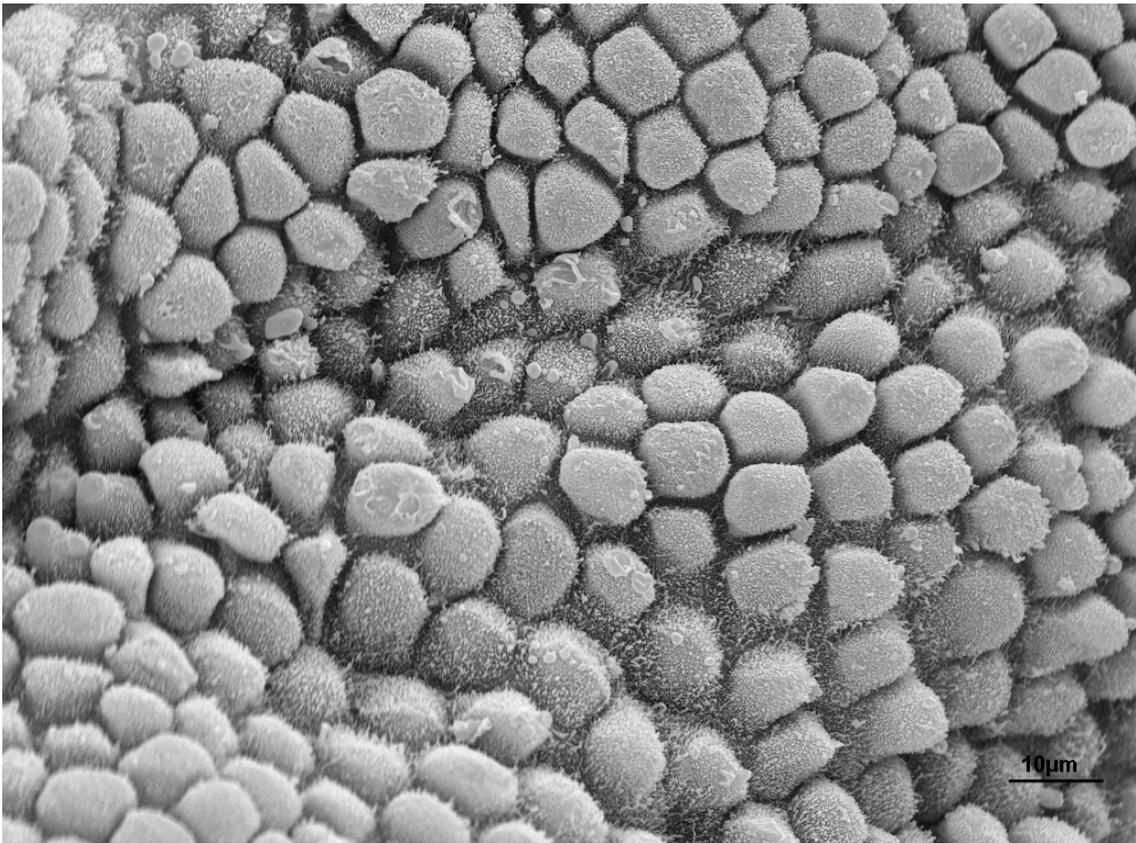


Abb. 38 Epitheloberfläche mit eingesenkter Epithelregion. Zellen unterhalb des normalen Epithelniveaus zeigen deutlich mehr supraepitheliale Strukturen. (E3, REM)

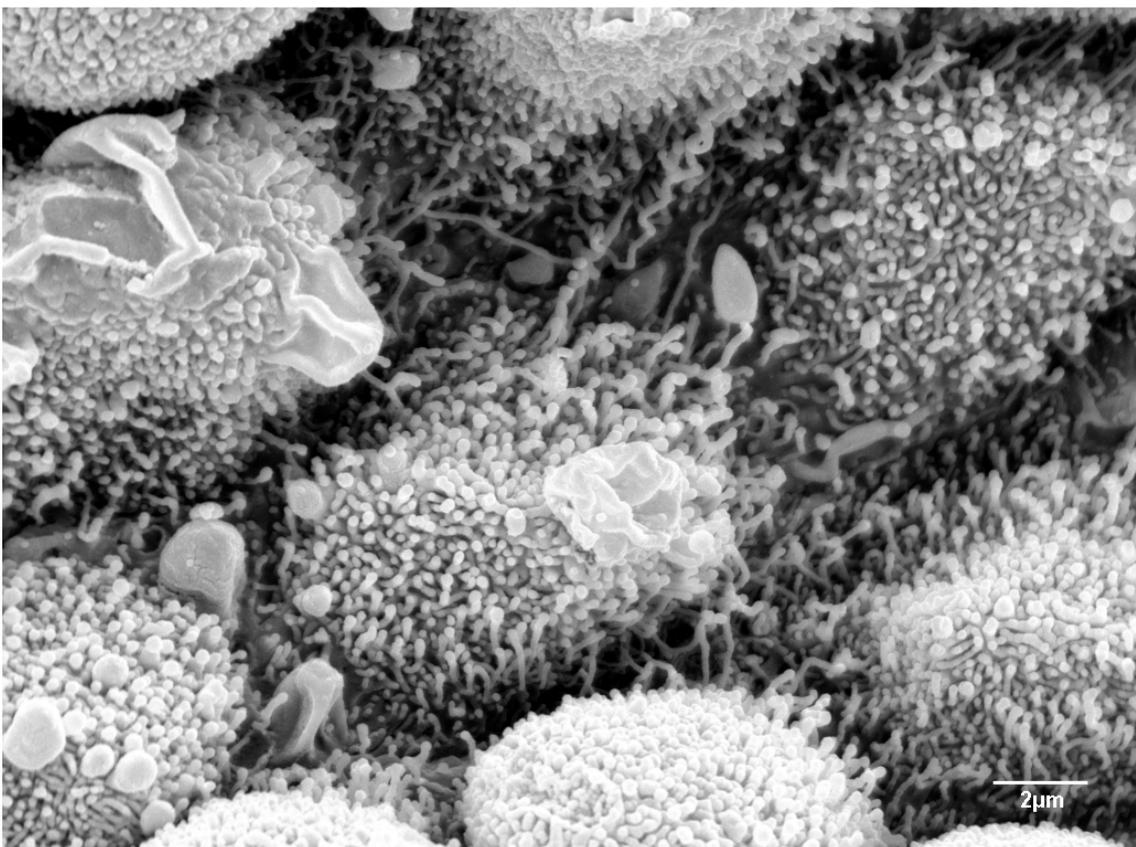


Abb. 39 Detail aus Abb. 38. Backpflaumenartige Zytoplasmaprotrusionen, Mikrovilli, filiforme Zytoplasmafortsätze mit aufgetriebenen Enden, die zum Teil frei dem Epithel aufliegen (E3, REM)

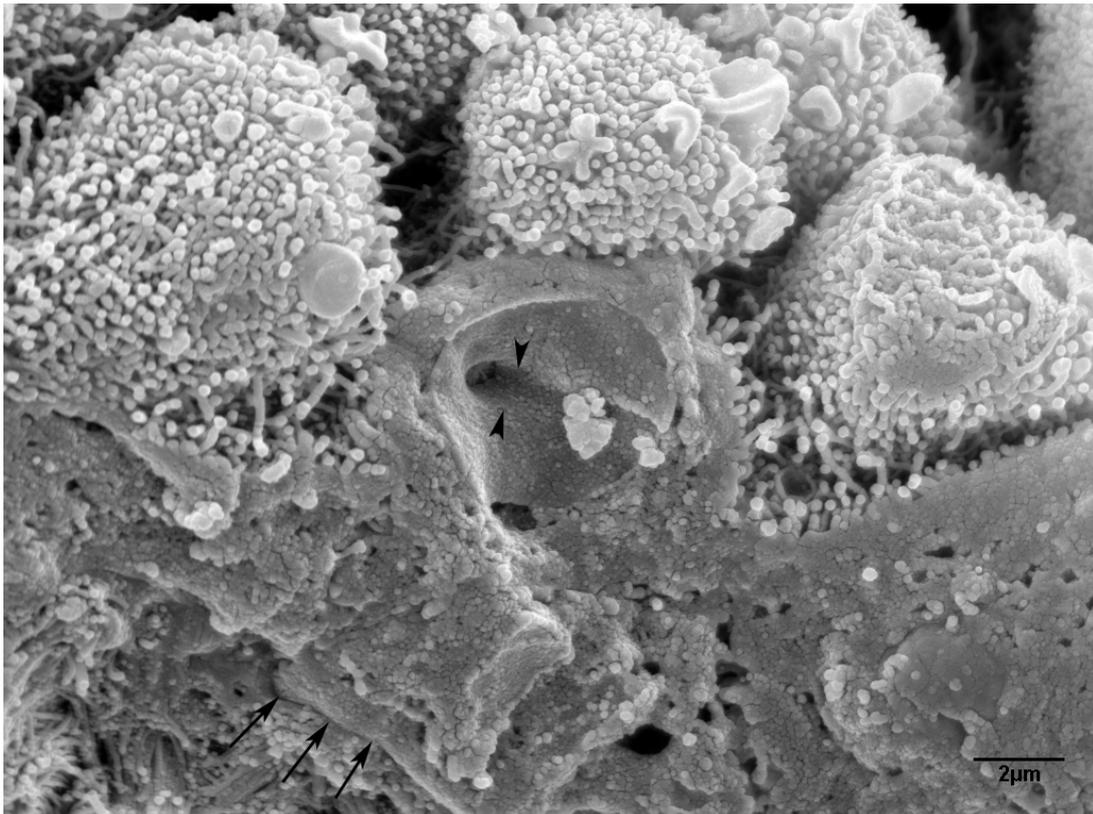


Abb. 40 Aufgebrochene Zelle mit heraus gebrochenem Zellkern. tubuläre Impressionen des Endoplasmatischen Retikulums (Pfeilspitzen), Basalmembran (Pfeile) (E3, REM)

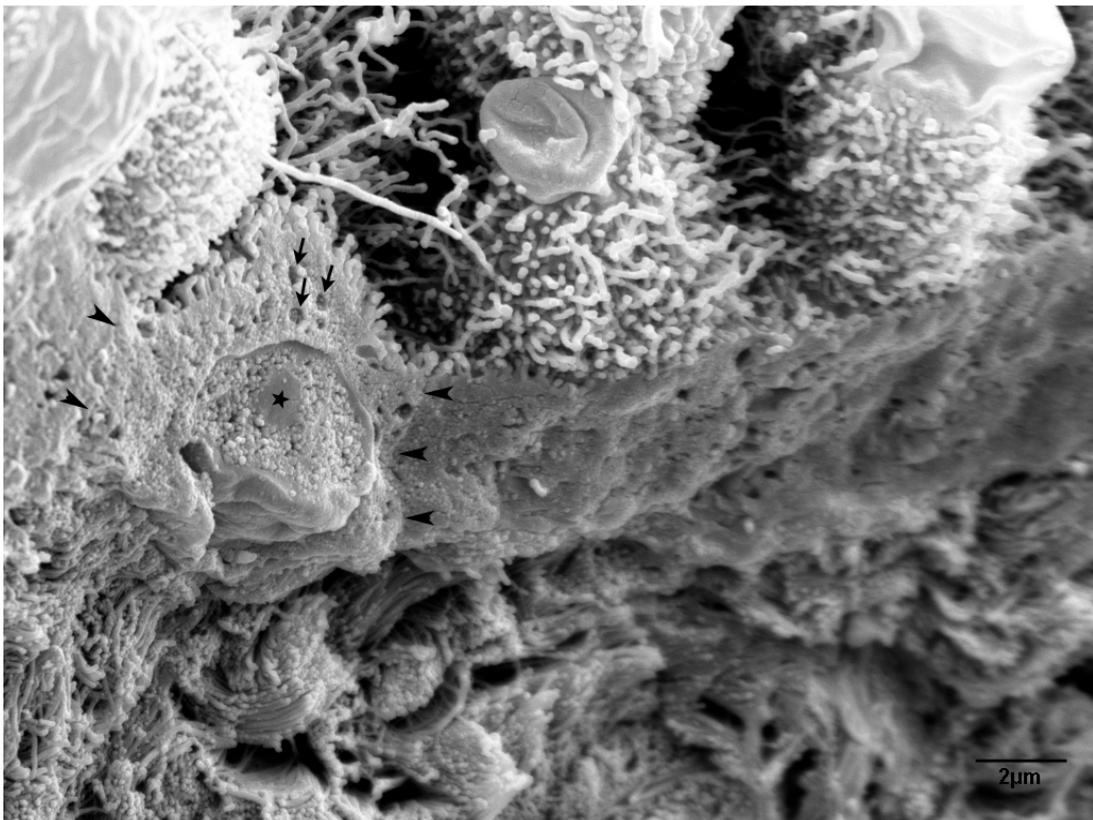


Abb. 41 Detail zu Abb. 37. In der aufgebrochenen Zelle mit aufgebrochenem Zellkern und Kernkörperchen (Stern) sind Zellorganellen und deren zytoplasmatischen Impressionen (Pfeile) sowie Zell-Zellgrenzen (Pfeilspitzen) zu erkennen. (E3, REM)

4.4 Paraplazentares Allantochorion

4.4.1 Makroskopische Untersuchungen

Unter paraplazentarem Allantochorion versteht man die Bereiche der äußeren Fruchthülle, die beiderseits neben dem Plazentargürtel liegen und den „Chorionsack“ bilden. Sie machten den flächenmäßig größten Anteil des Allantochorions aus (Abb. 42).

Chorionseitig war die Membran von grauweißer bis graubrauner Farbe, in einigen Bereichen transparent, in anderen durch Gewebeverstärkungen milchig weiß und undurchsichtig. Die Membran erschien im fixierten Zustand von derber, unelastischer, lederner Konsistenz, und wurde durch ein reiches Netz größerer und kleinerer Gefäße durchzogen. Die Oberfläche war unterschiedlich strukturiert. Die transparenten Bezirke zeigten sich eihautartig glatt. An anderen Stellen bedeckten samtartige, gelbgraue Überzüge das Chorion. Die samtigen Gebiete waren klein, nur einige Millimeter im Durchmesser, und lokal begrenzt oder sie kamen in flächiger Ausdehnung vor (Abb. 44). Ein Bezug zu speziellen Strukturen, wie Gefäßverläufen, konnte nicht festgestellt werden. Die transparenten sowie die samtartigen Bereiche kamen in diffuser Anordnung auf dem gesamten extraplazentaren Allantochorion vor. Neben diesen samtartigen Bereichen fanden sich lokal vereinzelte, nur einige Millimeter große, oberflächenerhabene, glatte, grauweiße Auflagerungen, die fest mit dem Chorion verbunden waren.

An den Chorionsackenden befanden sich granuläre bis plaqueartige, oberflächenerhabene Auflagerungen auf dem Chorion (Abb. 43). Diese waren bei der Nachgeburt einer Hamburger Elefantenkuh – E2 – stärker ausgeprägt. Diese unterschieden sich sehr deutlich von den samtartigen Strukturen. Erstere waren von schmutzig lilagrauer Farbe und diffus verteilt. Die Auflagerungen formten körnige bis plattenartige Gebilde, die einer glatten Chorionmembran aufsaßen. Die Beläge konnten nur unter Substanzverlust von der Unterlage abgelöst werden und waren somit als Oberflächenbildungen des Chorions anzusehen.

An den geburtsbedingten Zerreißungsstellen des Allantochorions hängen kleine feine Fasern unterschiedlicher Länge sowie kleine Gefäße fransenartig an den Risskanten.

Die allantoisseitige Fläche entsprach den unter Punkt 3.1.1 gemachten Angaben.

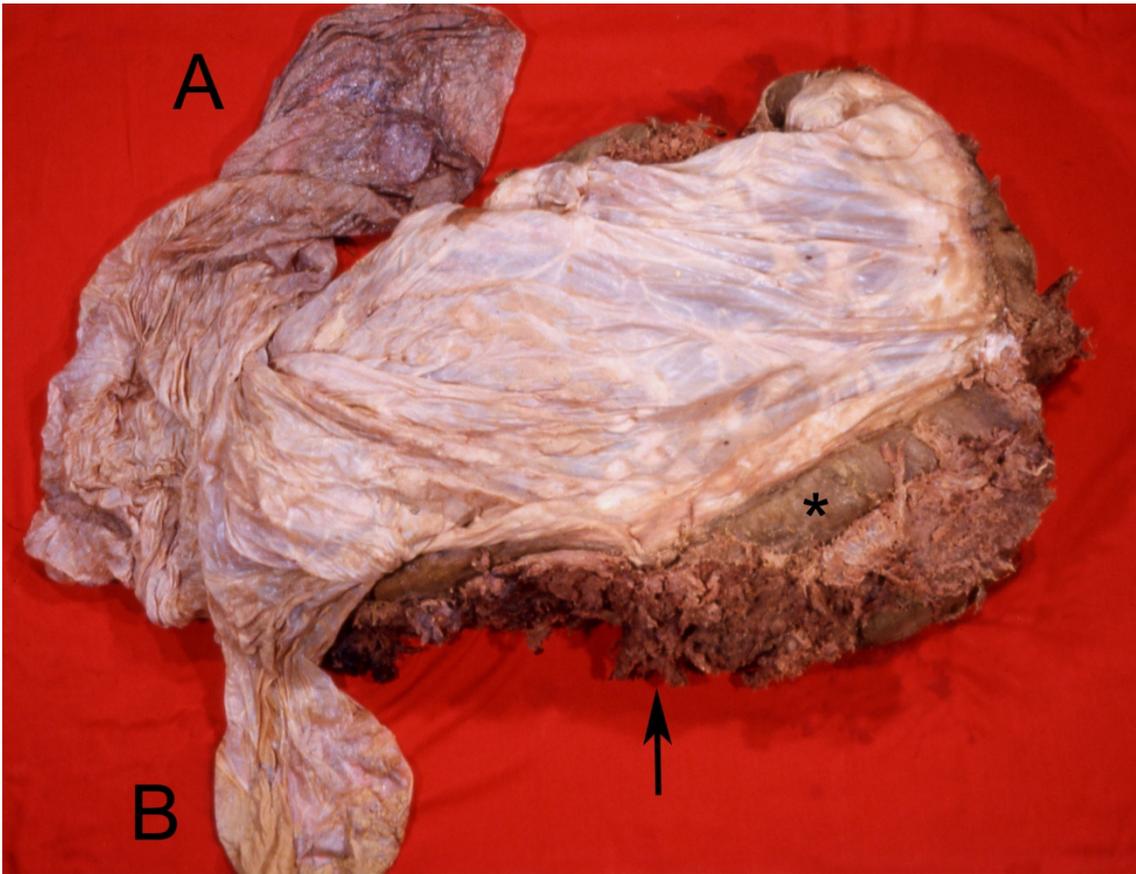


Abb. 42 Plazenta auf dem Querumfang des Gürtels (Pfeil) liegend. Extraplazentares Allantochorion in Form des Allantochorionsackes, ist ausgebreitet und zeigt Regionen mit unterschiedlichen Oberflächen (A, B). Am Übergang zwischen Gürtel und Chorion laeve ist die Extravasatzzone sichtbar (Stern).

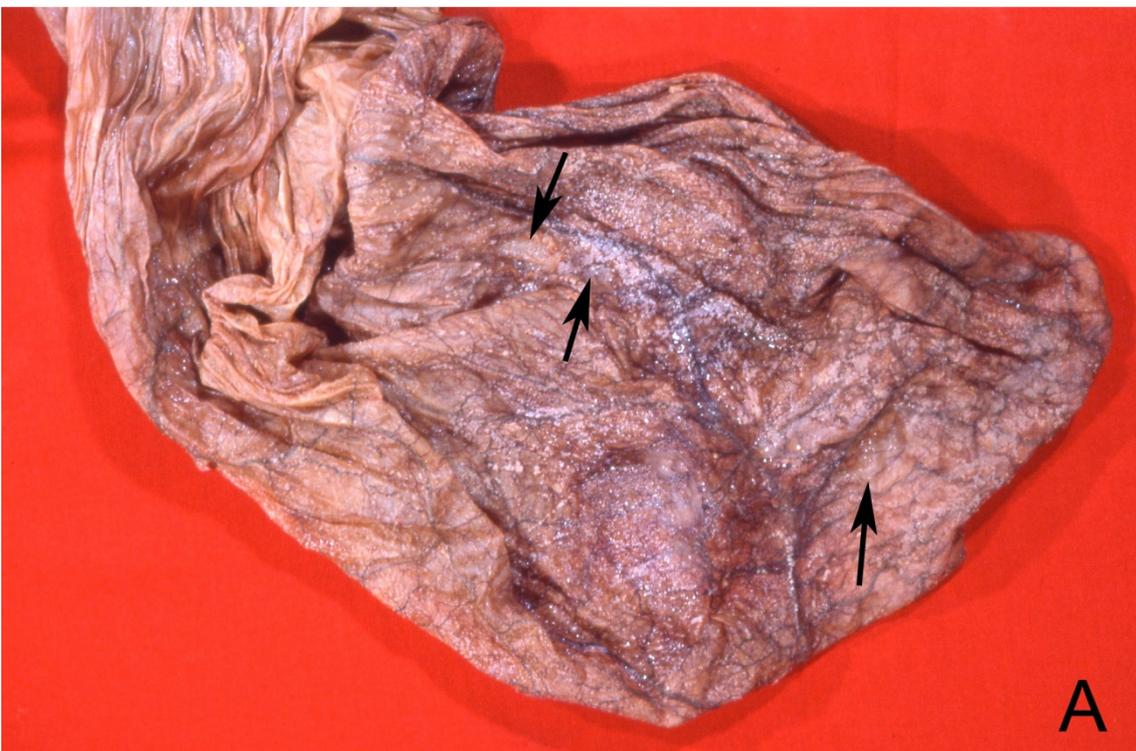


Abb. 43 Granuläre bis plaqueartige, oberflächenerhabene Auflagerungen auf dem Chorion (Pfeile). Deutlich zu erkennen ist die unterschiedliche Gewebecharakteristik im Vergleich mit Bild B.

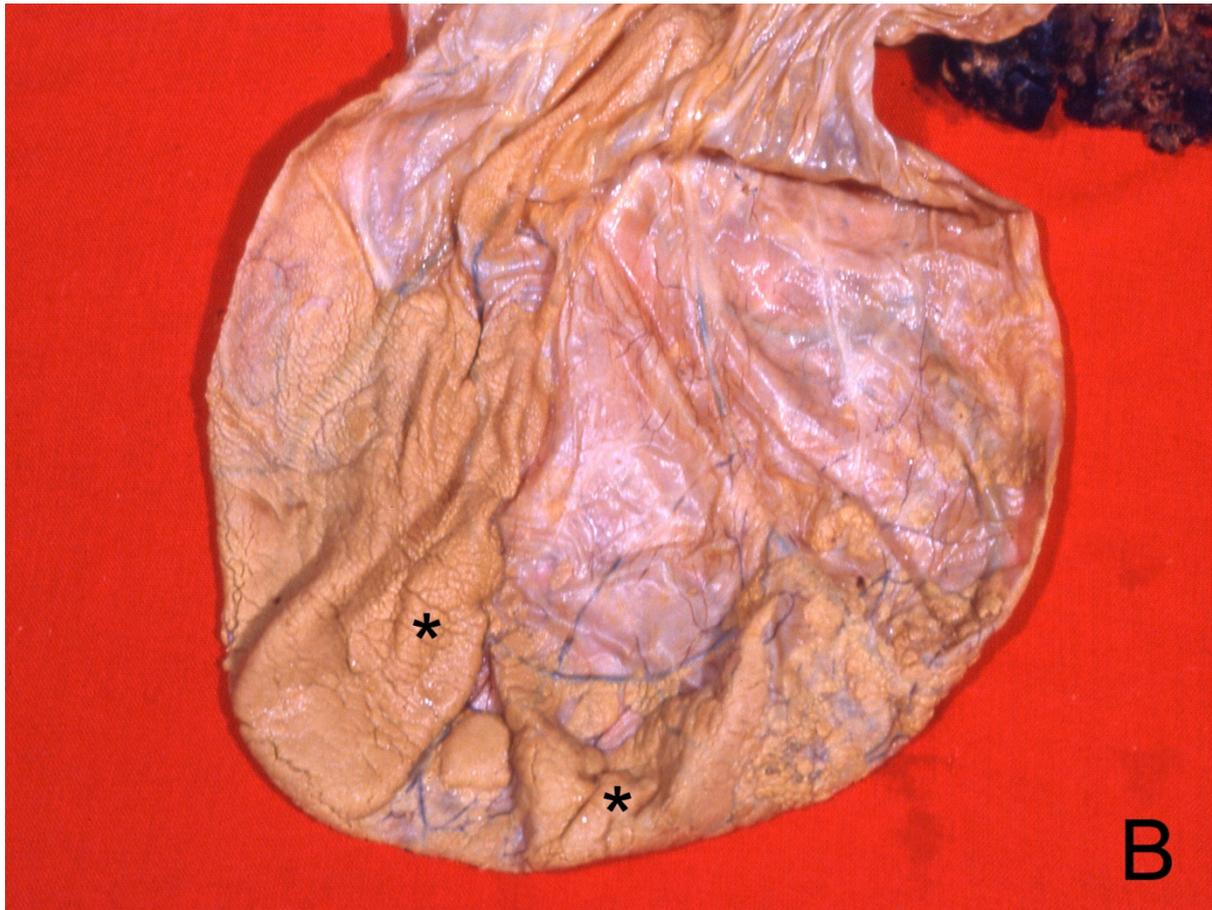


Abb. 44 Flächige Ausdehnung samtartiger Chorionbereiche (Sterne), dazwischen eihautartige, glatte Bereiche

4.4.2 Lichtmikroskopische Ergebnisse

Das paraplazentare Allantochozion war auf seiner gesamten chorionalen Oberfläche mit kleinen, unterschiedlich gestalteten Zotten besetzt. Zum einen gingen plump gestaltete Zotten mit breiter Basis aus dem Bindegewebsstock hervor. Diese fanden sich vor allem in den makroskopisch samtartigen Bereichen. Zum anderen fanden sich sehr feine, schmale Zotten. Unabhängig von der Morphologie besaßen die Zotten ein bindegewebiges Zentrum, welches Blutgefäße enthielt. Diese zogen bis in die Zottenspitzen. Ein spezielles regionales Verteilungsmuster der unterschiedlichen Zottenmorphologien konnte nicht gefunden werden (Abb. 47, 49, 51). In den als samtartig beschriebenen Bereichen fanden sich jedoch eine höhere Zottendichte als auf der eihautartigen Chorionoberfläche. In allen ausgewerteten lichtmikroskopischen Präparaten verzweigten sich die Zotten des paraplazentaren Allantochozions maximal bis zweiten Grades. Ein großer Anteil der Zotten blieb jedoch unverzweigt. Die Zotten waren zum Teil in amorphes Material eingebettet (Abb. 49). Dieses bestand aus undifferenzierbaren Zelltrümmern und strukturloser fibrinoider Masse. Zellen mit erhaltener Struktur waren als Erythrozyten, Granulozyten und abgelöste Epithelzellen zu differenzieren.

Der Bindegewebsstock und die aus ihm hervorgehenden Zotten wurden von einem einschichtigen, isoprismatischen bis abgeflachten Epithel bekleidet. Sehr vereinzelt nahmen Epithelzellen auch hochprismatischen Charakter an (Abb. 50). Die Chorionzotten stellten sich in großen Bereichen epithelfrei bzw. epithellos dar (Abb. 51, 52). Das erhaltene Epithel war in allen Regionen als Zytotrophoblast ausgebildet. Der Zellkern lag zentral im Zytoplasma, hatte runde bis ovoide Gestalt und war in der Mehrzahl der Fälle heterochromatinreich. Zellfortsätze oder Oberflächenmodifikationen waren lichtmikroskopisch nicht darstellbar. In einigen Bereichen, zum Beispiel am Zottengrund, fanden sich ballonierete Zellen. In dem ballonartig aufgetriebenen Zytoplasma stellten sich die Zellkerne zum Teil karyolytisch dar. Das Trophoblastepithel, sofern noch erhalten, saß einer mit der PAS-Reaktion sehr deutlich darstellbaren Basalmembran auf (Abb. 56). In Abhängigkeit von der Probe, der Lokalisation und der Struktur war das Epithel zum Teil vollständig von seinem Untergrund abgelöst. Wesentliche Unterschiede zwischen den beprobten Plazenten wurden nicht gefunden. In diesen Bereichen lag die unterschiedlich starke Basalmembran frei an der Oberfläche. In den Zottentälern, welche geschützt von mechanischen Einwirkungen (zum Beispiel unter der Geburt) lagen, war das Epithel noch erhalten (Abb. 46). Die Basalmembran wies einige wenige lokale Unterbrechungen auf. Sie war sonst jedoch durchgängig im Schnitt zu verfolgen. Ihre Konturschärfe und ihre Stärke waren verschieden. In einigen Bereichen erschien die Basallamina sehr fein und scharf begrenzt, in anderen Bereichen stark aufgefasert.

Dem Epithel waren zahlreiche Kapillaren unterlagert, die sich dicht an bzw. zwischen die Epithelzellen drängten (Abb. 54, 55). Trophoblastzellen in direkter Nachbarschaft zu den Kapillaren erschienen oftmals abgeflacht. Ansammlungen unterschiedlich großer Gefäße befanden sich direkt unter einigen bindegewebigen Zottenursprüngen. Das subepitheliale Gewebe konnte nicht als separate Schicht abgegrenzt werden. Es bestand aus einem dichten Geflecht kollagener Fasern, die parallel zum Epithel orientiert waren. Elastische Fasern konnten weder im subepithelialen Gewebe, noch in den zahlreichen Kapillaren oder Gefäßansammlungen unterhalb der Zotten nachgewiesen werden.

Der bindegewebige Grundstock verband das Chorion fest mit der Allantois. Er schloss in seinem Zentrum große Gefäße ein. In den Wänden dieser großen Gefäße fanden sich elastische Fasern, welche sich bei Verzweigung der Gefäße verloren. Der Anteil elastischer Fasern nahm im Bindegewebe von der Allantois zum Chorion hin ab, so dass im Zottenstroma keine elastischen Faseranteile mehr zu finden waren. Im Bindegewebe waren abgeflachte,

fibrozyttypische Stromazellen differenzierbar. Daneben fanden sich im Gewebe auch polymorphe Zellen, die als Makrophagen angesprochen werden konnten.

Die Blutgefäße waren zum Teil sehr stark mit Blut gefüllt. Es fanden sich hauptsächlich Erythrozyten. Vereinzelt Granulozyten konnten angetroffen werden. Lymphozyten fehlten dagegen vollständig.

Makroskopisch wurden granuläre bis plaqueartige Auflagerungen auf dem Chorion beschrieben, die im Weiteren als Chorionpustel bezeichnet werden. Im histologischen Bild erschienen sie als amorphe, mit basophilen, kernähnlichen Strukturen diffus durchsetzte Massen. Sie verteilten sich multifokal auf der Chorionoberfläche. Das amorphe Material färbte sich eosinophil. Im Bereich der Auflagerungen waren die Trophoblastzellen verändert. Sie erschienen abgelöst, abgeflacht, in die Zubildung mit einbezogen oder sie waren nicht mehr differenzierbar. Die Basalmembran löste sich von den Rändern zum Zentrum hin auf (Abb. 55, 56, 57). Im basalen Abschnitt der Auflagerungen konnten unterschiedliche Mitosephasen der Trophoblastzellen beobachtet werden (Abb. 57, 58). Das histologische Bild erinnerte an lokale Hyperkeratose.

Makroskopisch zeigten sich einige Millimeter große, glatte, oberflächenerhabene, weiße Auflagerungen auf dem Chorion. Mikroskopisch konnten diese als lokale „Verwirbelungen“ der Bindegewebsfasern charakterisiert werden. Die sonst parallel zum Epithel verlaufenden Fasern verwirbelten sich hier und nahmen einen zum Epithel senkrechten Verlauf an. Die Verdickungen enthielten keine elastischen Fasern. Die Dichte an Bindegewebszellen und Gefäßen war in diesen Strukturen stark vermindert. Die Oberfläche dieser Strukturen war epithel- und basalmembranlos und ging aus dem Bindegewebe hervor. Die Basalmembran konnte bis zu der Zubildung verfolgt werden, verliert sich dann aber vollständig.

Die Allantois entsprach den unter Punkt 3.1 gemachten Aussagen.

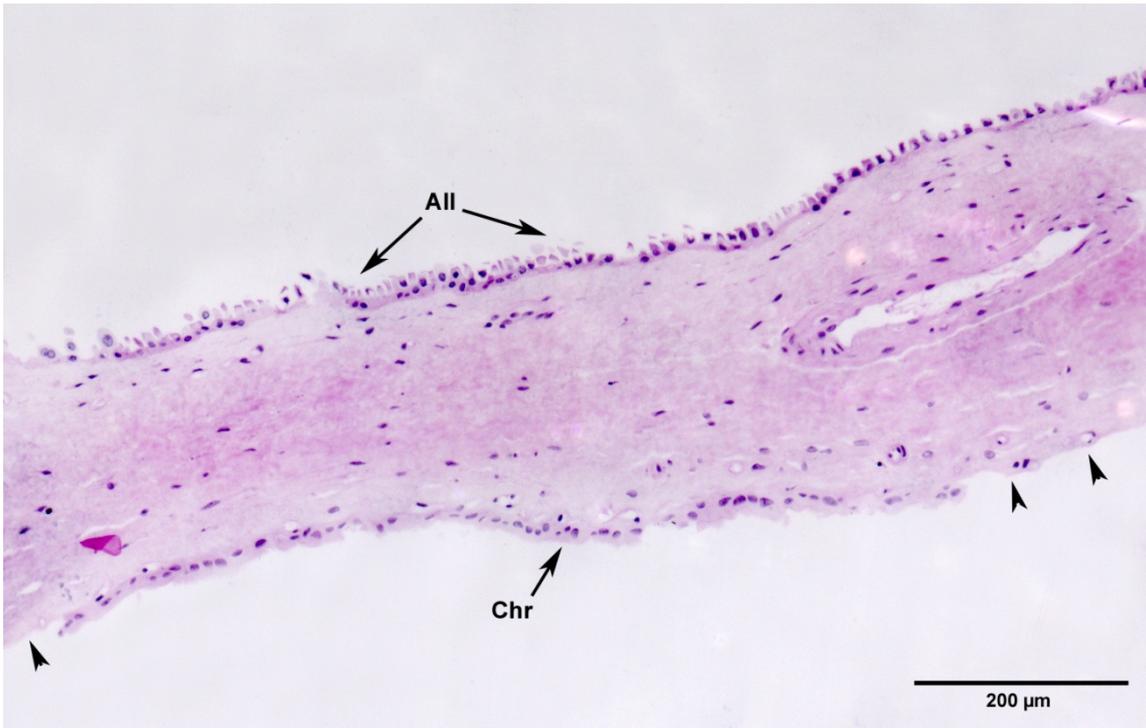


Abb. 45 Paraplazentares Allantochorion. Chorionepithel ist zum Teil abgelöst (Pfeilspitzen). Zusammenhängende Epithelverbände sind nur noch sehr vereinzelt vorhanden. Allantois mit Zytoplasmaprotrusionen. (E4, HE)

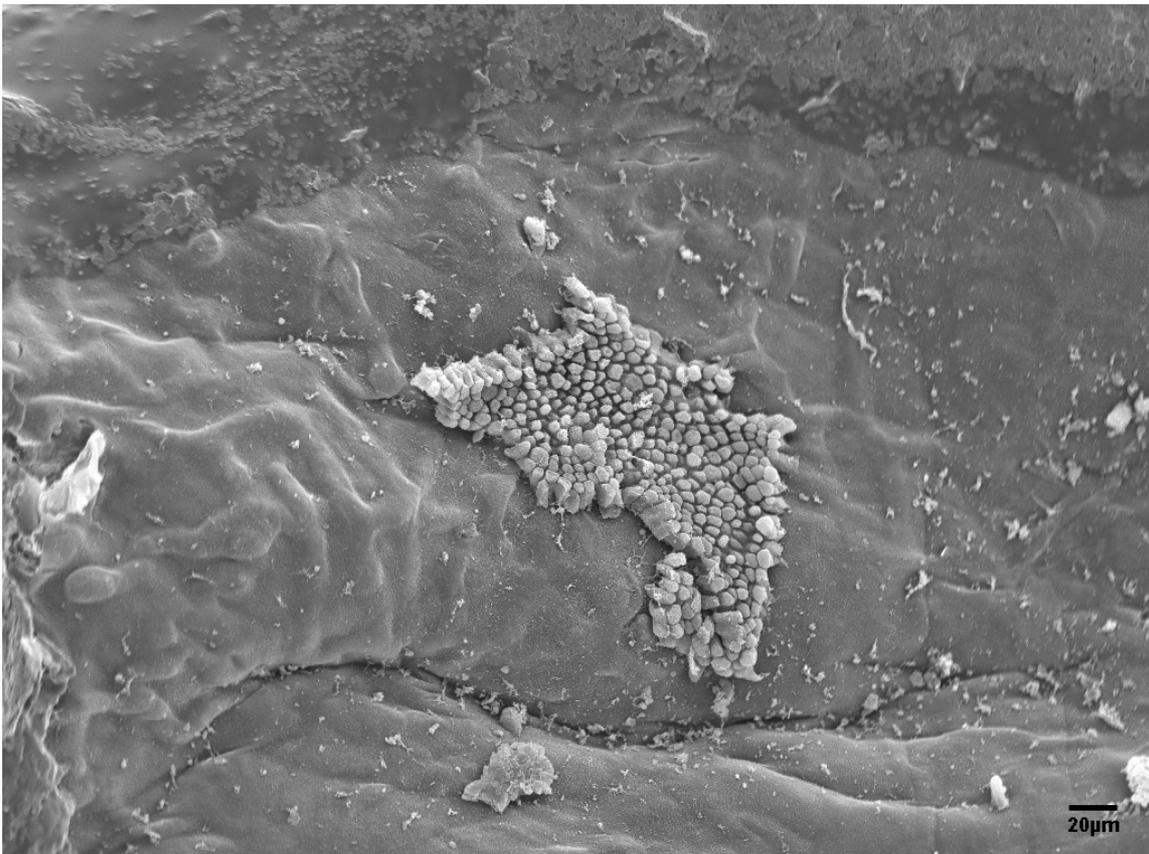


Abb. 46 Vorwiegend epithellose Chorionoberfläche. An mechanisch geschützten Stellen sind noch Epithelinseln darstellbar, hier in einer Vertiefung der Chorionoberfläche. Korrespondierend zu Abb. 47 (E4, HE)



Abb. 47 Chorionzotten (CZ) mit schlanker Zottenmorphologie. Auf der gegenüberliegenden Seite ist das Allantochorion mit Allantoisepithel bekleidet. (E2, HE)

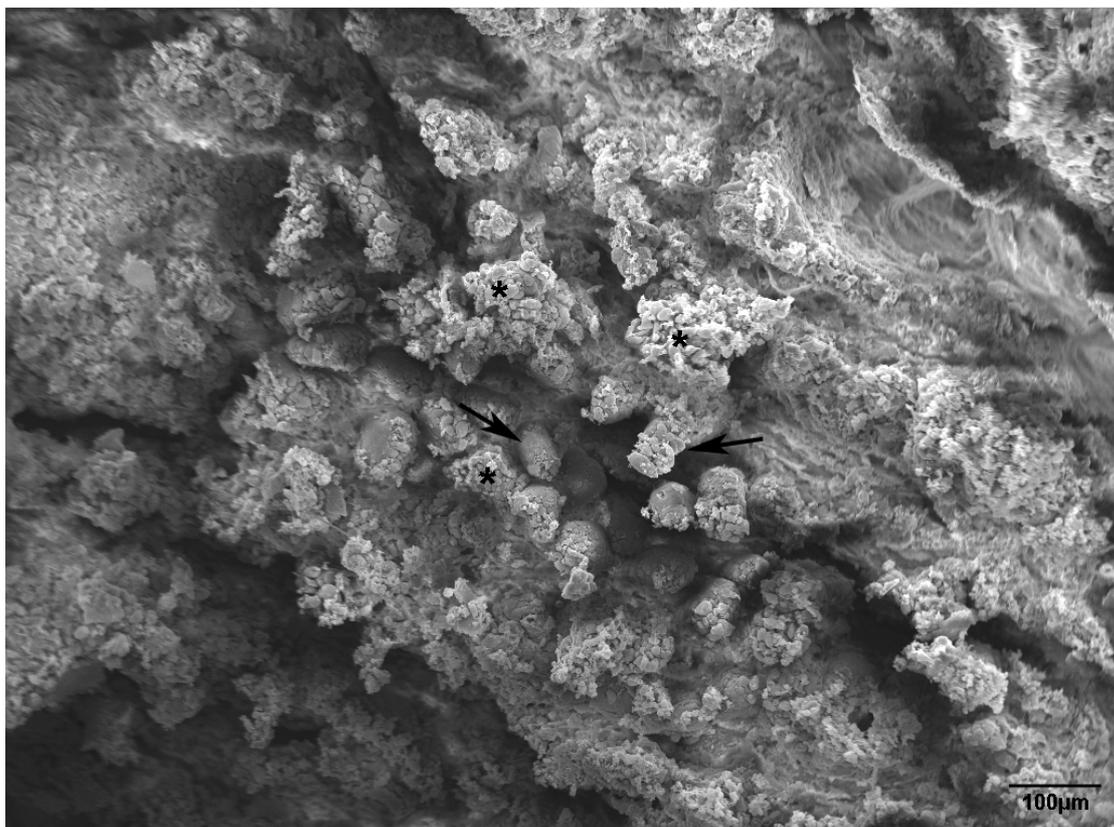


Abb. 48 Übersicht auf die Oberfläche des Chorion. Chorionzotten (Pfeil) sind zum Teil in Detritus (Stern) eingeschlossen. Korrespondenz zu Abb. 49 (E4, REM)

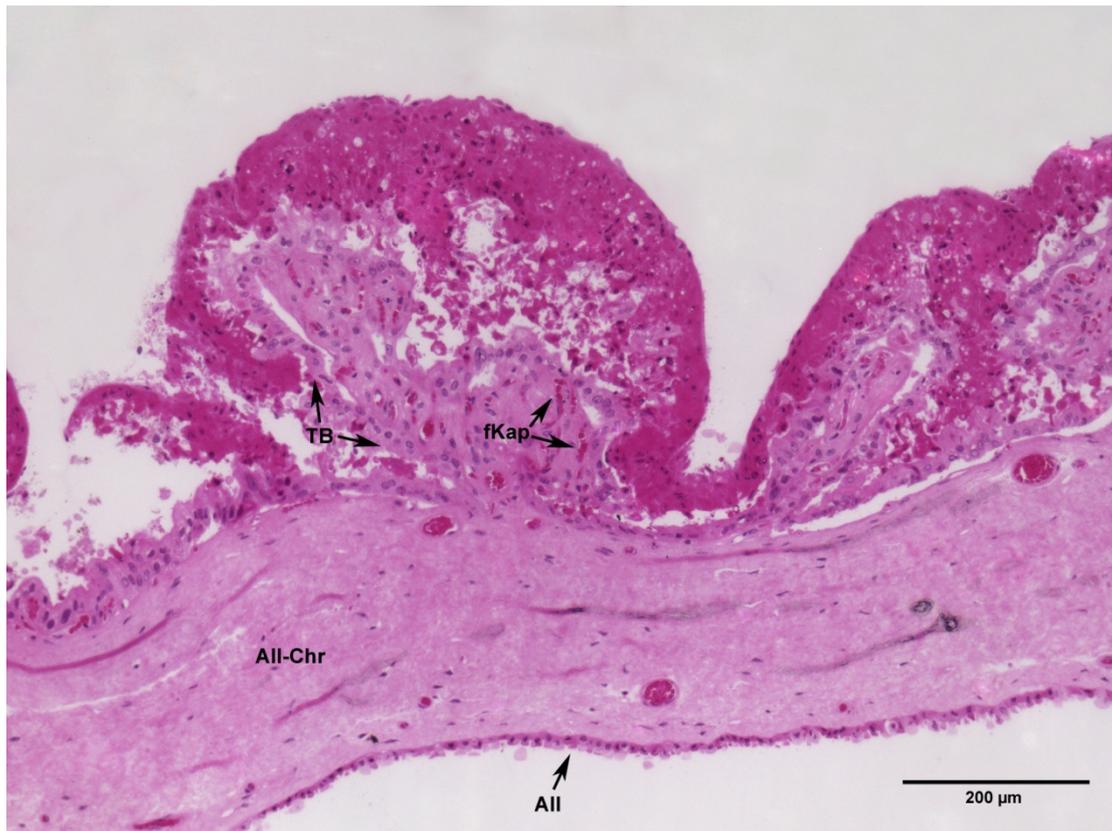


Abb. 49 Stark vaskularisierte, plumpe Chorionzotten, eingebettet in amorphes Material und Zelldetritus. Der Trophoblast (TB) ist in vielen Bereichen von Basalmembran und Zottenstock abgelöst. Die gegenüberliegende Membranoberfläche wird von Allantoisepithel bekleidet. (E3, HE)

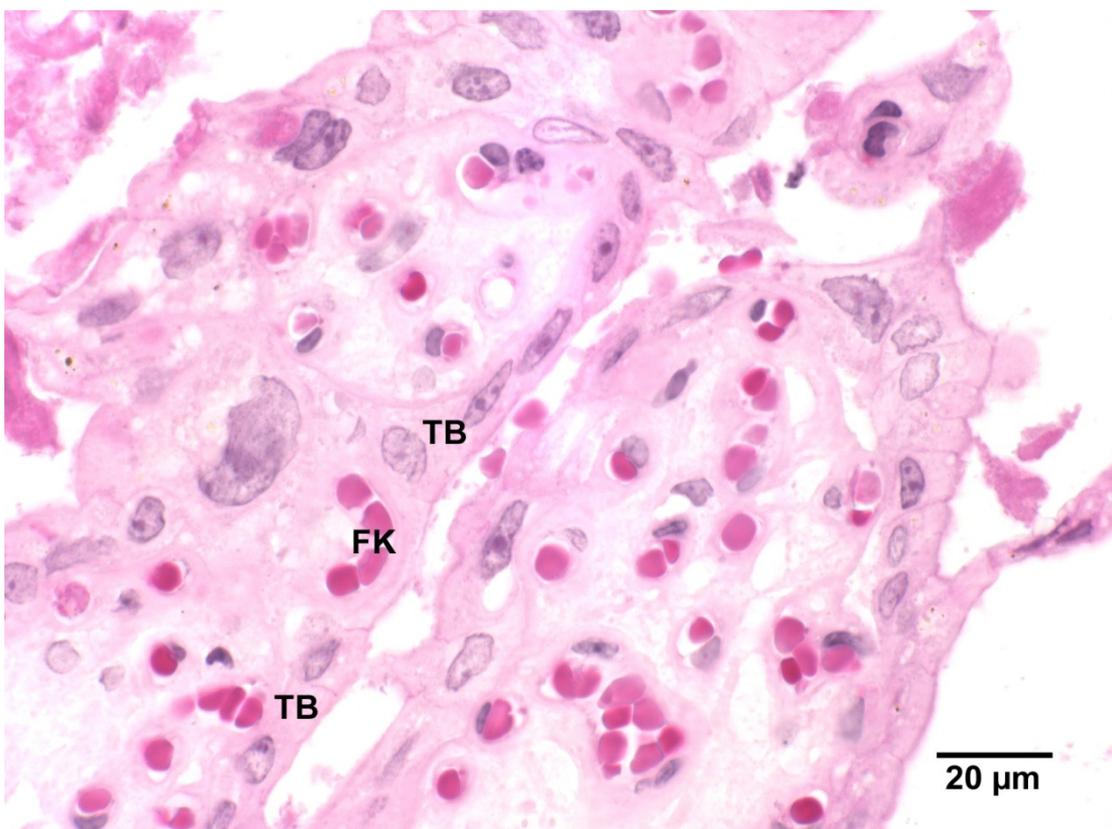


Abb. 50 Hochprismatischer bis stark abgeflachter Zytotrophoblast (TB) mit intraepithelialen Kapillaren. Fetale Kapillaren (fKap) drängen dicht unter und zwischen das Trophoblastepithel. (E3, HE)

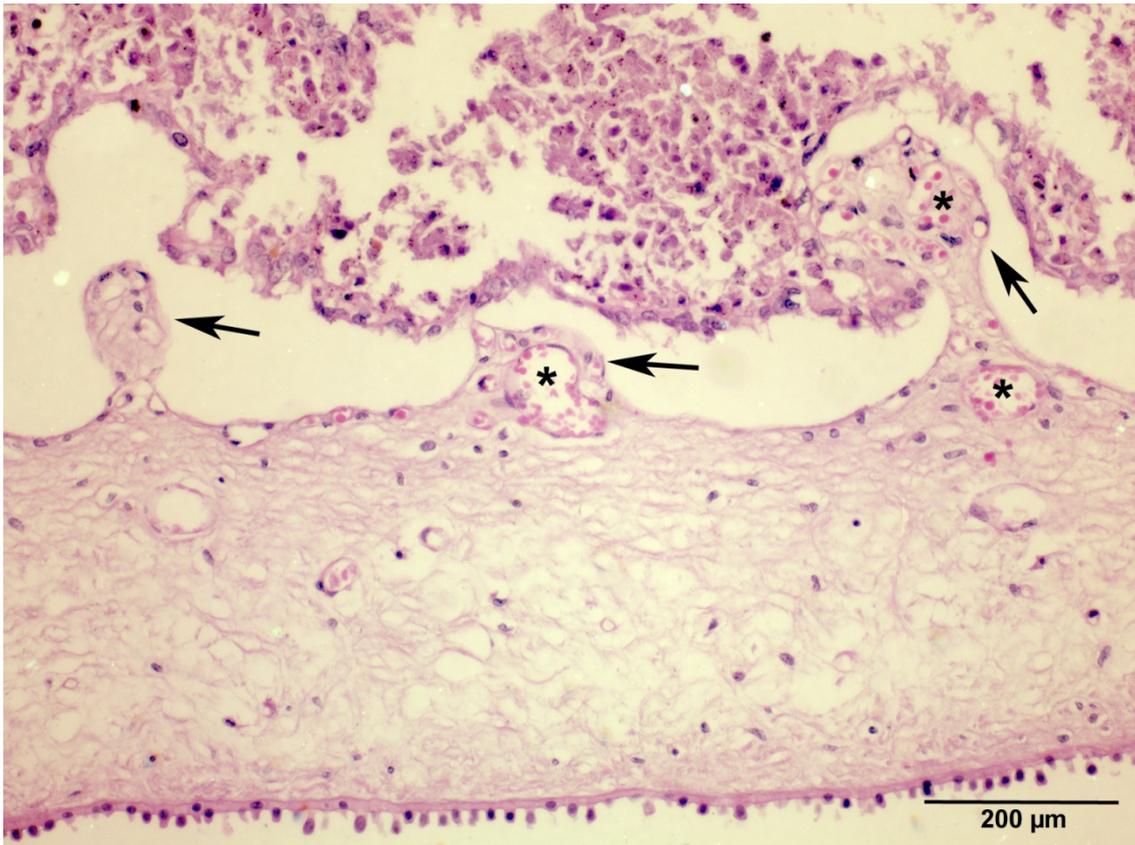


Abb. 51 Unverzweigte Mikrozotten mit abgelöstem Trophoblasten. Mikrozotten weisen einen hohen Grad an Vaskularisation auf (fetale Kapillaren gekennzeichnet mit Stern). Das untenliegende Allantoisepithel zeigt zahlreiche gestielte Zellen. (E2, HE)

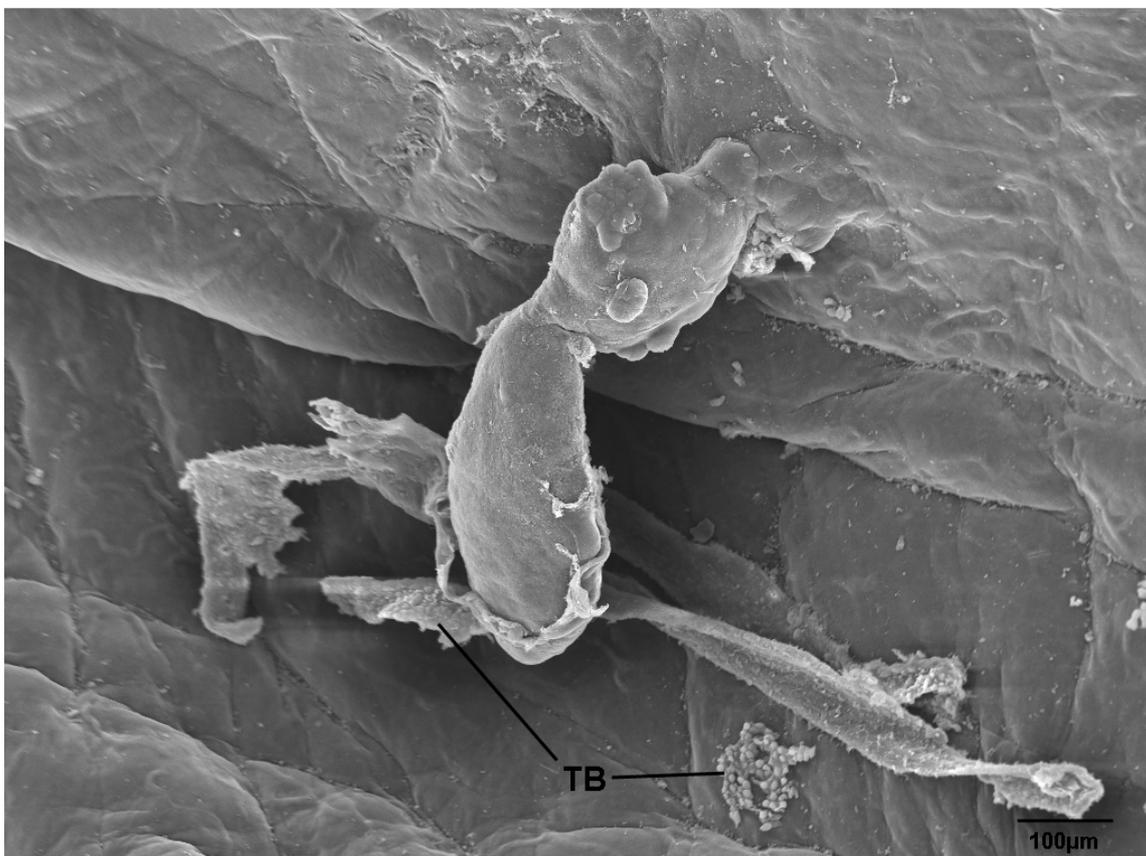


Abb. 52 Unverzweigte Mikrozotte mit fast vollständig abgelöstem Trophoblast (TB) (E4, REM)

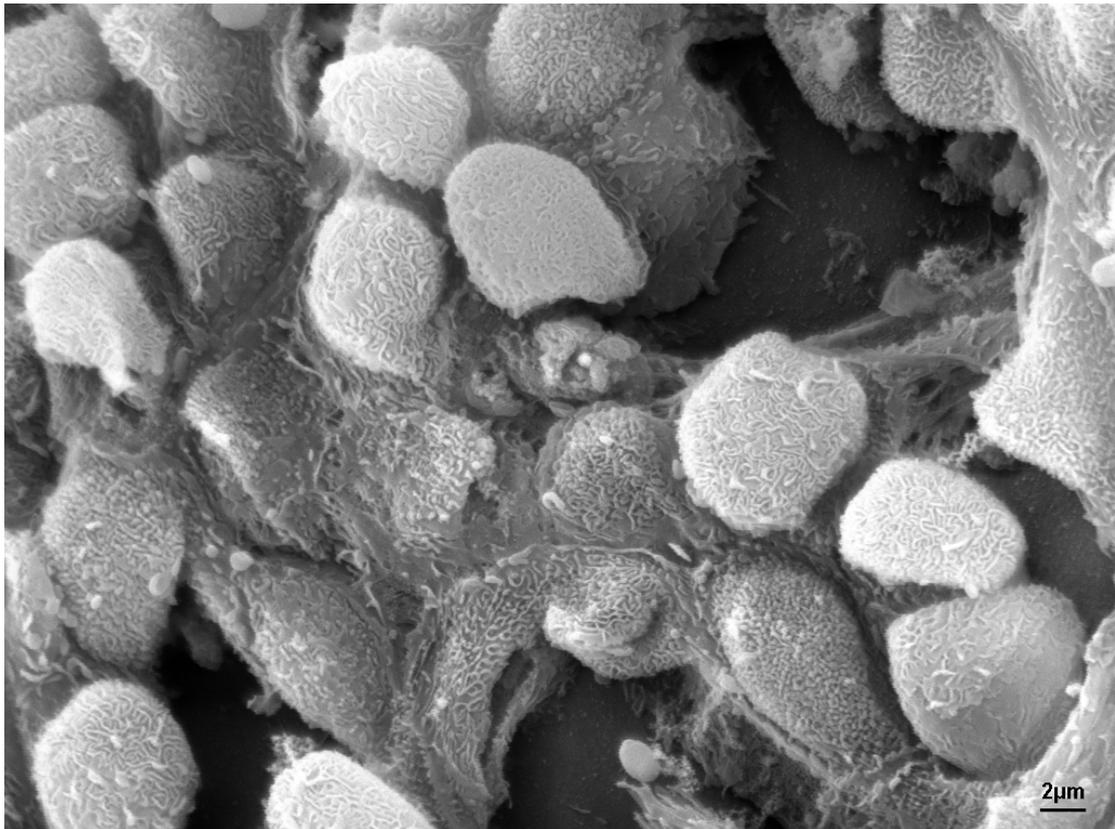


Abb. 53 Detail aus Abb. 52. Die Zelloberfläche des Zytotrophoblasten weist Mikroplicae und Mikrovilli auf. Die Trophoblastzellen sind unterschiedlich stark in amorphe Substanz (Detritus) eingebettet. (E4, REM)

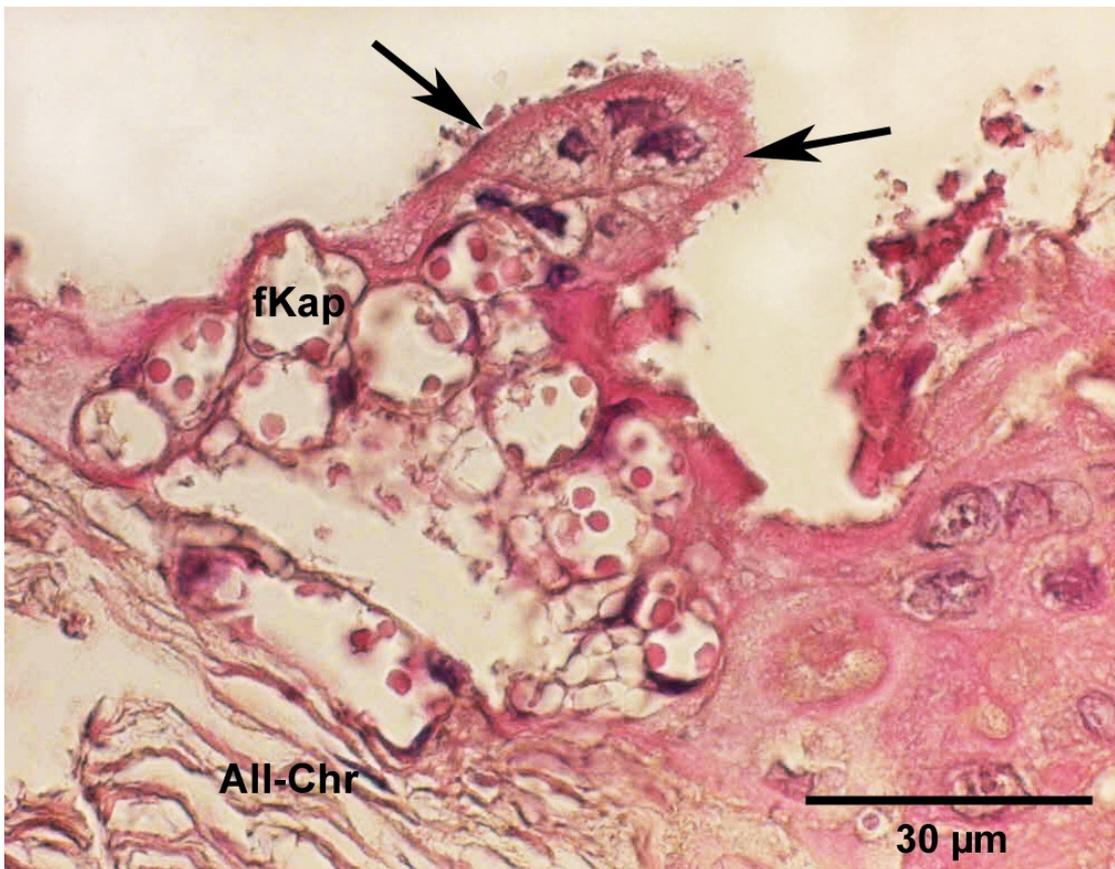


Abb. 54 Intraepitheliale Kapillaren (fKap) im Bereich des Trophoblasten (Pfeile) an der Basis einer extravillären Chorionzotte. (E2, HE)

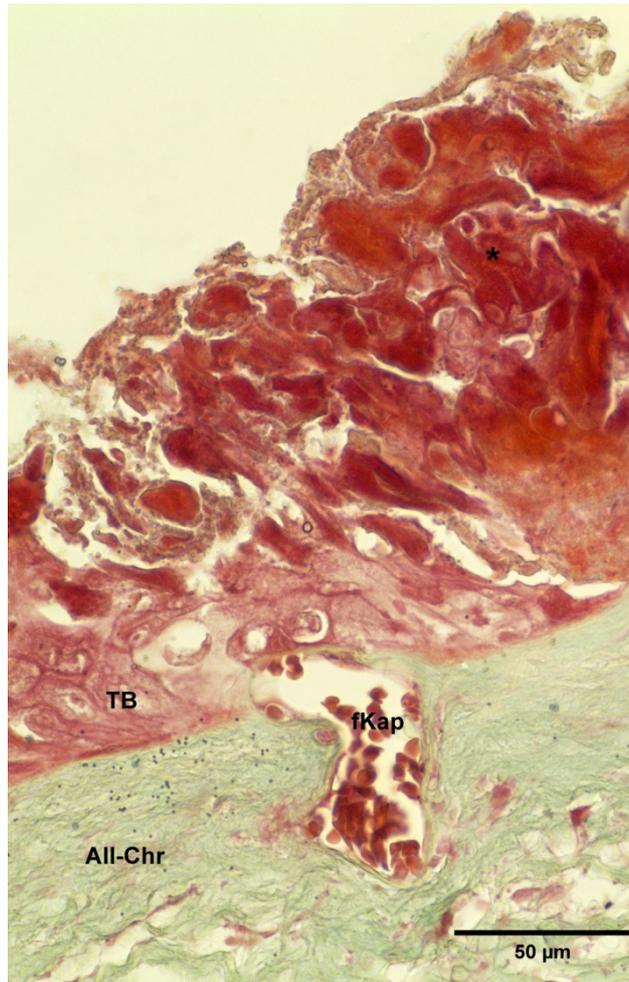


Abb. 55 Eine fetale Kapillare (fKap) drängt aus dem Bindegewebe des extraplazentaren Allantochorions zwischen den Zytotrophoblasten (TB). Eosinophile, amorphe Massen (Stern) sind Bestandteil der makroskopisch beschriebenen Auflagerungen. (E2, Trichrom Masson-Goldner Färbung)

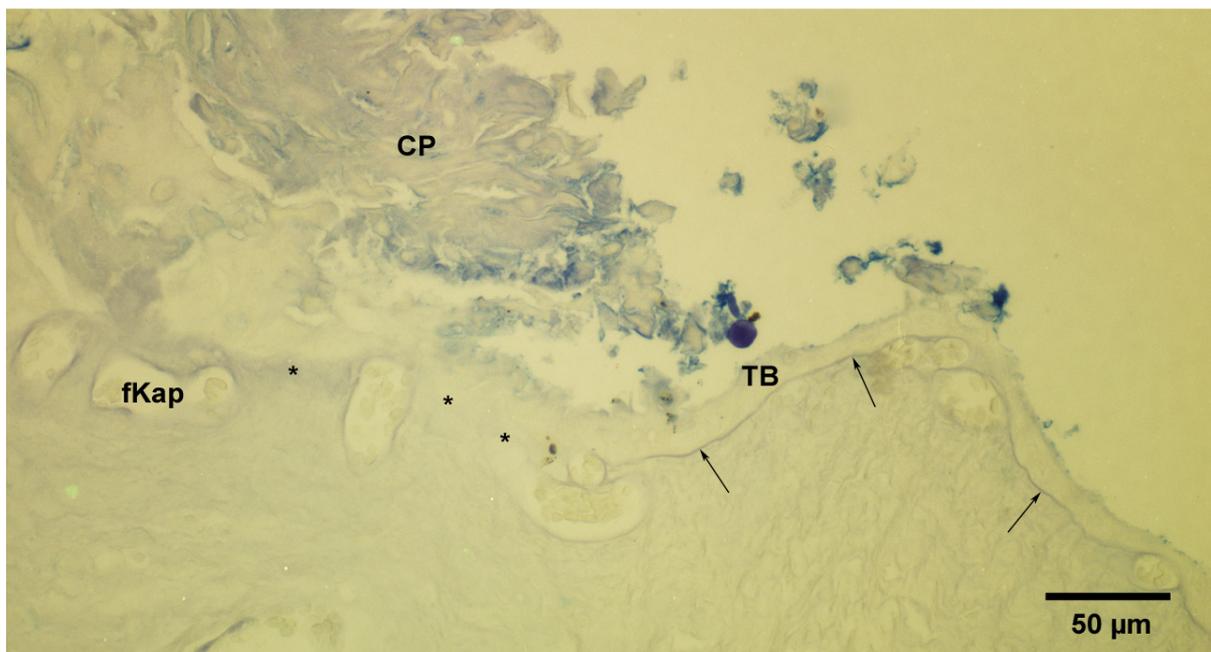


Abb. 56 Darstellung der Basalmembran (Pfeil) im Bereich einer Chorionpustel (CP). Deutlich erkennbar ist der Kontinuitätsverlust der Basalmembran unterhalb der Auflagerungen (Sterne). (E2, PAS – Färbung)



Abb. 57 Chorionpustel (CP) auf dem paraplazentaren Chorion (All-Chr). Im basalen Abschnitt sind Mitosefiguren (Pfeil) in Trophoblastzellen (TB) zu erkennen. (E2, HE)

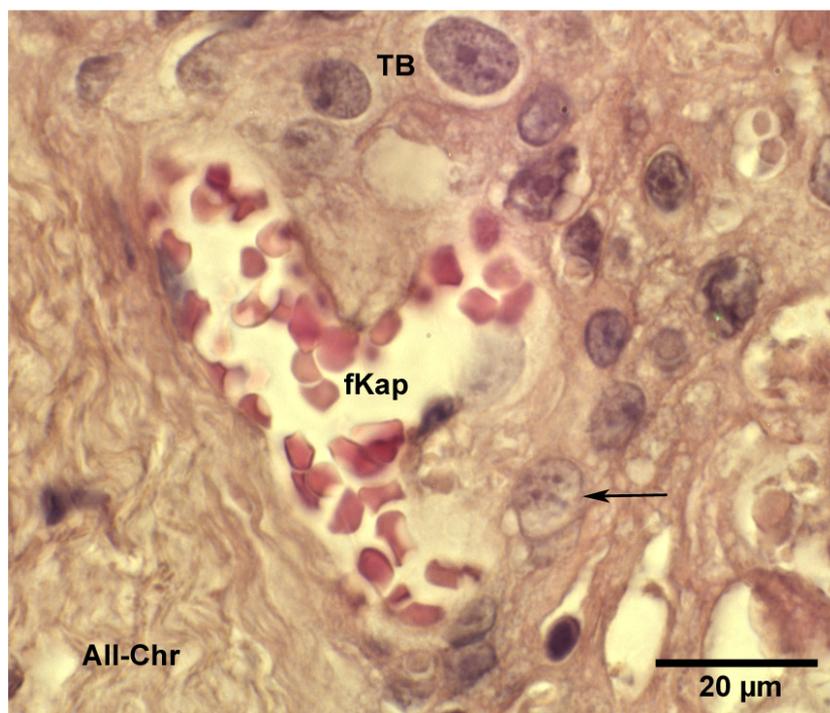


Abb. 58 Mitosefigur (Pfeil) einer Trophoblastzelle an der Basis einer Chorionpustel. (E2, HE)

4.4.3 Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Transmissionselektronenmikroskopisch erschien die Zytotrophoblastoberfläche strukturiert. Es fanden sich einfache Zytoplasmaausstülpungen sowie zahlreiche Mikrovilli mit erkennbarer Innenstruktur. Die Oberflächenmodifikationen kamen in unregelmäßiger Anordnung vor. Rasterelektronenmikroskopisch erschien der Großteil der Oberfläche epithellos. Die Basallamina in diesen Bereichen war reliefartig aufgeworfen. (Abb. 52, 59). In einigen Regionen waren der Oberfläche amorphe Partikel oder Substanzverbände aufgelagert. Rasterelektronenmikroskopisch konnten vereinzelt Epithelzellen und Zytotrophoblastepithelverbände gefunden werden (Abb. 46, 53). Die Epithelzellen trugen Mikrovilli.

Auf den Zelloberflächenstrukturen waren elektronendichte granuläre Strukturen zu finden, welche in die Zelle inkorporiert wurden. Zwischen den Mikrovilli waren Pinozytosevesikel darstellbar, welche im TEM hell und weniger elektronendicht wirkten. Die Trophoblastzellen waren durch Desmosomen und „tight junctions“ miteinander verbunden. Zwischen den Epithelzellen konnten sehr häufig Interzellularräume gesehen werden (Abb. 61).

Das Zytoplasma schloss weniger elektronendichte strangartige Strukturen ein. Diese erschienen lokal vesikulär aufgetrieben und wurden als raues endoplasmatisches Retikulum angesprochen. Freie Ribosomen und Mitochondrien ließen sich nicht darstellen. Die Zellkerne waren heterogen gestaltet. Das Heterochromatin war in einigen Kernen zentral lokalisiert, in anderen diffus im Kern verteilt. Die Form der Zellkerne war ebenfalls nicht einheitlich.

Im Zytoplasma waren zahlreiche zytoplasmatische Einschlüsse vorhanden, elektronendichte, transmissionselektronenmikroskopisch dunkel dargestellte Partikel unterschiedlicher Größe und „optisch leere“, nicht elektronendichte, vakuoläre Strukturen. Diese Einschlüsse ähnelten den granulären Strukturen und Pinozytosebläschen auf den Zelloberflächen.

Die Basalmembran ließ sich elektronenmikroskopisch durchgehend als feine Linie mit annähernd gleichmäßiger Stärke darstellen. Die elektronendichten Granula, die von der Zelloberfläche bis ins Zytoplasma nachvollziehbar waren, erschienen in der Basalmembran als lokale, polymorphe Einschlüsse.

Im subepithelialen Bindegewebe waren verschiedene Zelltypen zu differenzieren.

1. Langgestreckte, abgeflachte Zellen mit einer glatten Oberfläche und einem ebenfalls abgeflachten Kern, der nahezu die gesamte Zelle ausfüllt. Sie konnten als Fibrozyten angesprochen werden.
2. Verzweigte, polymorphe Zellen. Der Kern lag zentral. Auf den Zytoplasmafortsätzen waren Vesikel lokalisiert. Das Zytoplasma enthielt raues endoplasmatisches Retikulum und zahlreiche, mehr oder weniger elektronendichte,

Einschlüsse unterschiedlicher Größe. Diese Zellen waren sehr wahrscheinlich als Fibroblasten anzusprechen. 3. Abgerundete, plumpe Zellen, ohne einheitliche Morphologie. Die Lage des Kerns war polarisiert und das Zytoplasma enthielt zum Teil vakuoläre Räume. Bei diesen Zellen könnte es sich um Makrophagen handeln, was die lichtmikroskopischen Ergebnisse bestätigen würde (Abb. 62).

Die interzelluläre Bindegewebsmatrix bestand aus Fibrillen und ungeordneten Faserbündeln. Die kollagenen Fasern ließen im Längsschnitt eine deutliche Querstreifung erkennen.

Das Bindegewebe enthielt zahlreiche Kapillaren. Das geschlossene Endothel wölbte sich nur geringgradig bis gar nicht in das Gefäßlumen vor. Die Zellkerne erschienen abgeflacht. Als Zell-Zell-Kontakte waren Desmosomen und Zonulae occludentes ausgebildet. Die Basalmembran war nicht immer vollständig nachvollziehbar. Perizyten kamen unregelmäßig vor. Ebenso waren Zellorganellen nur vereinzelt darstellbar.

4.4.4 Zusammenfassung der Befunde

- Makroskopisch heterogen strukturierte Chorionoberfläche
- Mikroskopisch Chorionzotten unterschiedlicher Morphologie auf der gesamten Oberfläche
- Chorionepithel in weiten Teilen abgelöst
- Subepitheliale Kapillaren
- Zytotrophoblastzellen mit Oberflächenmodifikationen
- Mitosefiguren im Bereich der granulären bis plaqueartigen Auflagerungen
- Als Makrophagen anzusprechende Zellen im subepithelialen Bindegewebe

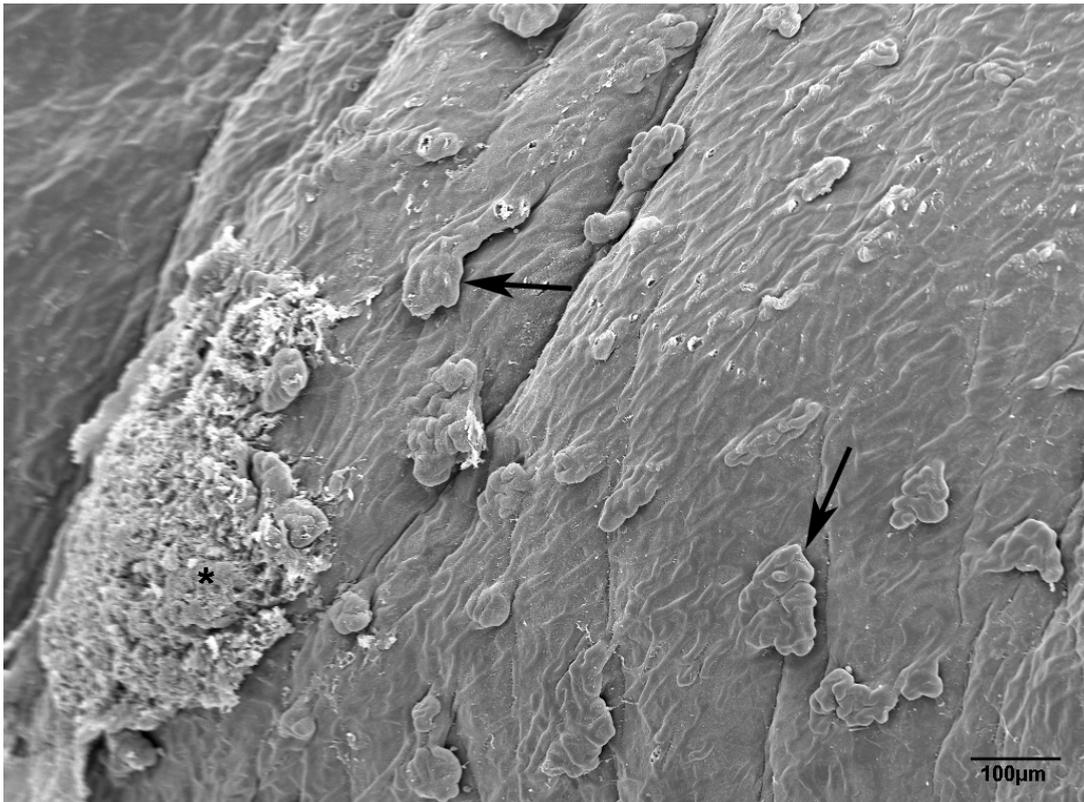


Abb. 59 Chorionzotten (Pfeile) auf der Oberfläche der epithellosen Chorionplatte, sowie in Detritus eingebettete Trophoblastzellen (Stern) (E3, REM)

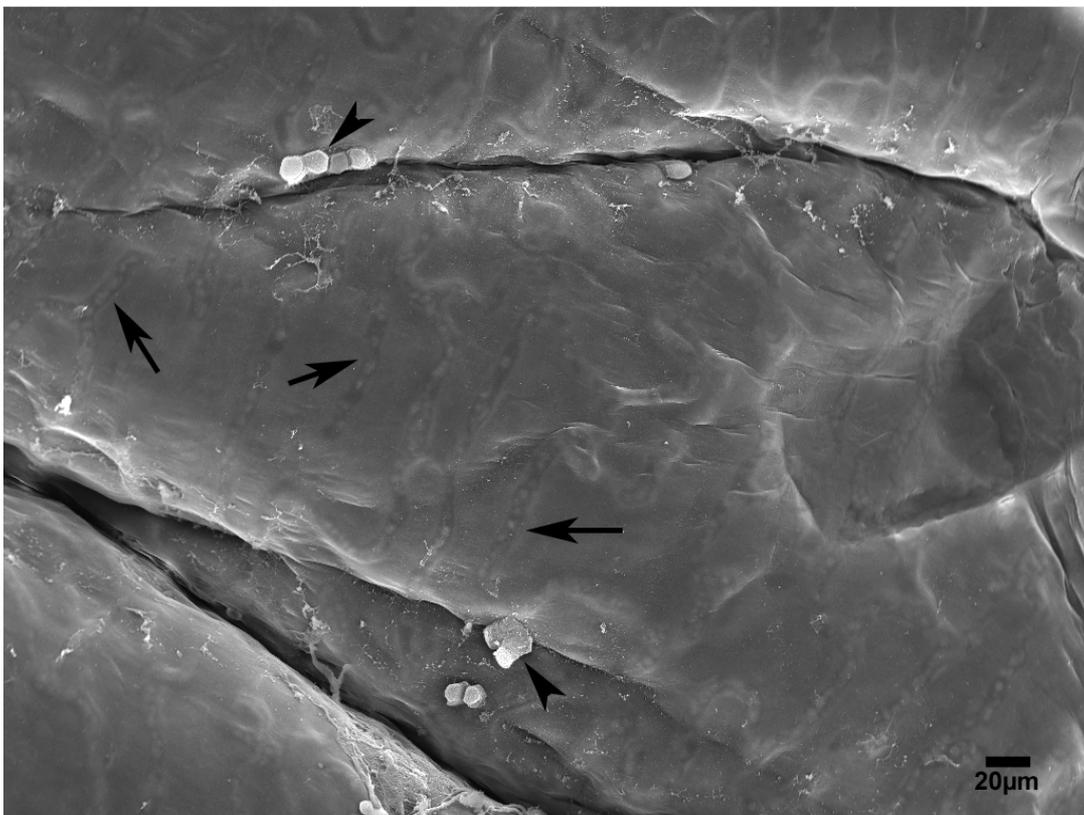


Abb. 60 Chorion mit nahezu vollständig abgelöstem Trophoblast. Es sind nur noch vereinzelte Epithelzellen darstellbar (Pfeilköpfe). Unter der freiliegenden Basallamina stellen sich deutlich kapilläre Gefäße mit darin enthaltenen Erythrozyten dar (Pfeile). (E3, REM)

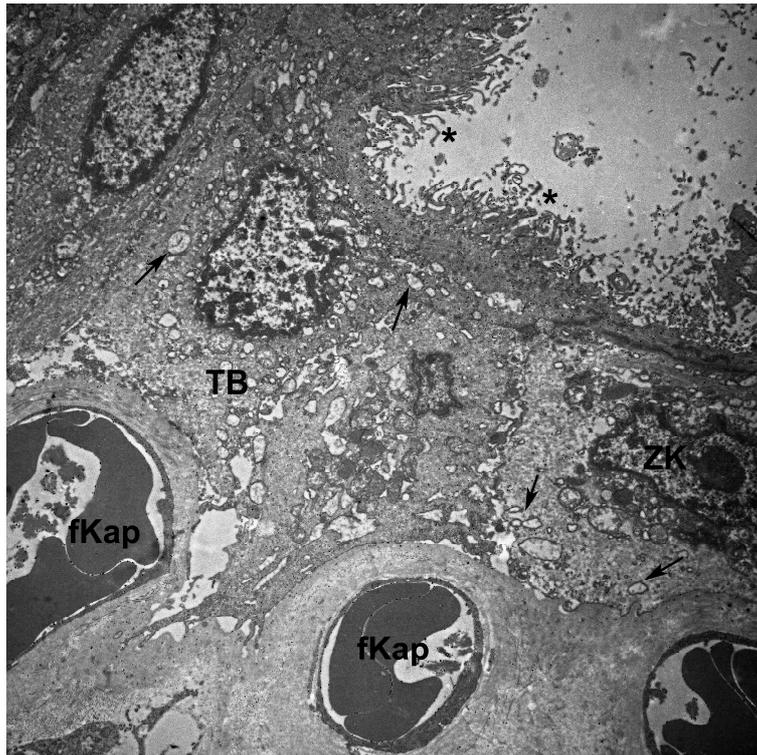


Abb. 61 Trophoblastzellen (TB) mit vakuolären Zytoplasmainschlüssen (Pfeile) und Mikrovilli (Sterne) als Oberflächenmodifikation. Interzellularräume zwischen den Epithelzellen (E1, TEM)

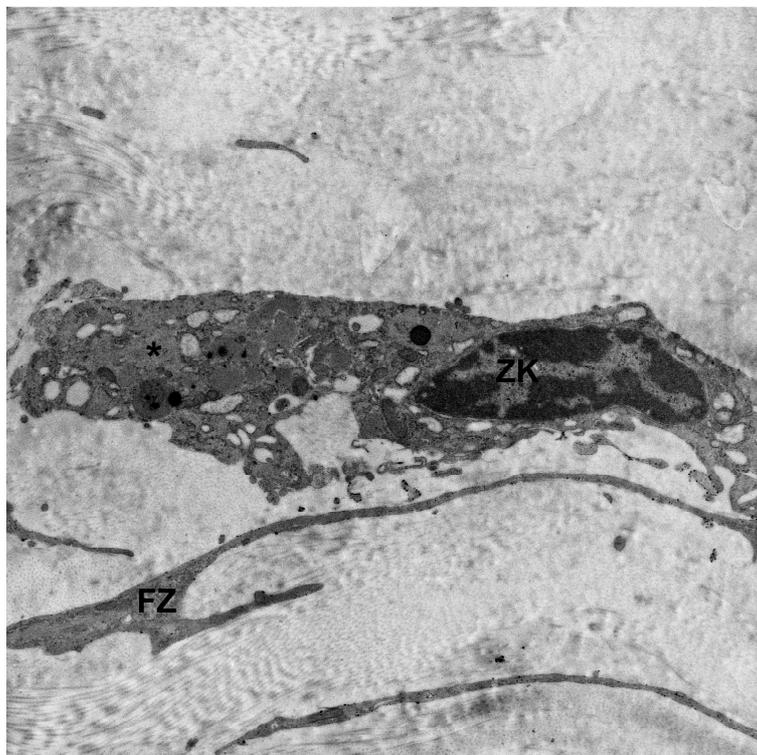


Abb. 62 Fibrozyt (FZ) und Makrophage (Stern) mit großem Zellkern (ZK) im Bindegewebesstroma des Allantochorions (E1, TEM)

4.5 Plazentares Allantochorion (Gürtel)

4.5.1 Makroskopische Ergebnisse

Das plazentare Allantochorion bestand aus einem breitflächigen, braun bis rotgrauen, zottigen Bereich der die Frucht gürtelförmig umgab. Die Gürtelplazenta erschien in ihrer Gesamtheit in einer recht brüchigen Konsistenz. Der Übergang von der Gürtelplazenta zum paraplazentaren Allantochorion wurde von einem 3 bis 5 cm breiten, grünbraun gefärbten Randsaum gebildet, der als Extravasatzone (EVZ) oder Randhämatom bezeichnet wird (Abb. 63). In diesem Bereich fanden sich keine Zotten und er war samtartig glatt. Die Extravasatzone wird unter 4.6 näher beschrieben.

Dem Gürtel saßen auf der ehemaligen Kontaktfläche mit dem Endometrium (im Weiteren als distal bezeichnet) fransenartigen Zotten auf. Die Zotten hatten unterschiedliche Längen (bis 5 cm) und geringe Durchmesser (einige Millimeter). Sie wurden unterlagert von zahlreichen kleinen und großen Gefäßen mit einem Durchmesser bis zu einem cm. Auf der fetalseitigen Fläche (im Weiteren als proximal bezeichnet) überzog die Allantois den Gürtel. Die Oberfläche war hier glatt und glänzend, von weißgrauer Eigenfarbe. Sie erschien milchig-transparent, wobei das Braun des Gürtels durchschien. Es fanden sich hier die unter Punkt 4.1 beschriebenen narbenzugähnlichen Bildungen.

Die Schnittfläche des Gürtels war faserig und brüchig. Sie wurde durch eine Vielzahl von Gefäßen durchzogen. Die größeren Gefäße hatten im Anschnitt eine weißgraue Farbe.

Die Ausmaße des Gürtels der Plazenta E1 und E2 sind in der Tabelle sieben zusammen gefasst.

Tab. 7 Ausmaße des Plazentargürtels der beiden Elefantenplazenten E1 und E2, die Längenangaben sind gerundet und beziehen sich auf den fixierten Zustand

	Breite	Stärke	Umfang	Durchmesser
E1 Leipzig	35 cm	4 cm	125 cm	40 cm
E2 Hagenbeck	40 cm	5 cm	160 cm	50 cm

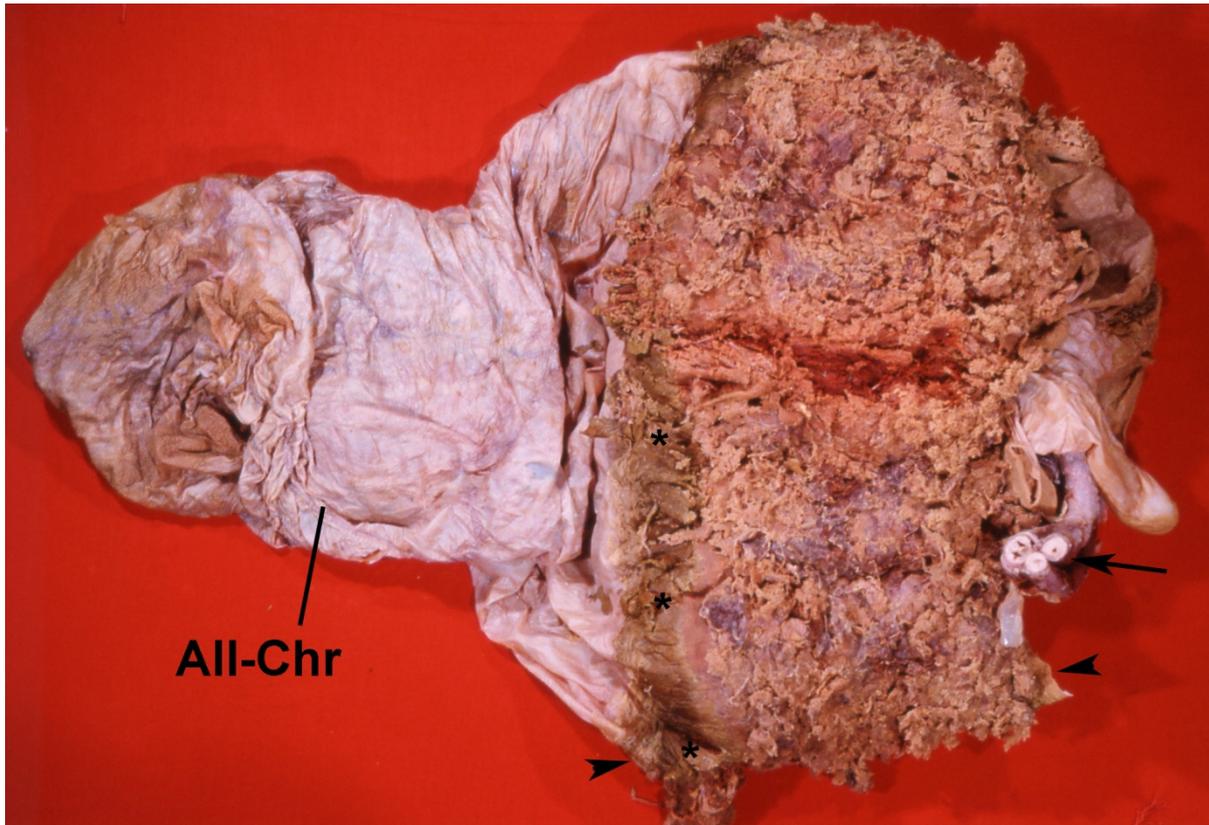


Abb. 63 Aufsicht auf den Gürtel und das extraplazentare Allantochochon. Der Gürtel wird in seiner Breite (Pfeilköpfe) von der EVZ (Sterne) eingegrenzt. Der Nabelstrang (Pfeil) ragt aus der eröffneten Fruchthülle.

4.5.2 Lichtmikroskopischen Ergebnisse

Der Querschnitt des Gürtels konnte in zwei Bereiche eingeteilt werden (Abb. 64). Der erste Bereich umfasste etwa das erste Drittel der Strecke von der maternalen Kontaktfläche des Gürtels zur Allantois (distal). Die makroskopisch beschriebenen Zotten gingen in die Labyrinthlamellen über oder entsprangen aus ihnen. Die Zotten und Labyrinthlamellen distal der Gürtelplazenta waren von amorphen, fibrinoiden, eosinophilen, PAS positiven Massen umgeben, im weiteren Text als Plasmainsudationen bezeichnet. Diese waren mit Zelltrümmern und Blutzellen durchsetzt. Die Lamellen wiesen einen hohen Verzweigungsgrad auf, wobei die Zotten eher unverzweigt waren. Die Labyrinthstruktur in diesem ersten Drittel war aufgelockert, so dass relativ große interlamelläre Spalträume entstanden. Zwischen den Lamellen waren größere Gefäße eingebettet. Einige Gefäße enthielten elastische Fasern. Sie ließen sich in allen Schichten des Gürtels finden. Eine Differenzierung zwischen einer Lamina elastica interna oder externa war nicht möglich. Die Zotten und Lamellen bestanden aus einem kollagenen Bindegewebszentrum ohne elastischen Faseranteil. Im Bindegewebe waren Kapillaren eingeschlossen. Diese Kapillaren ließen sich bis in die Spitze der Lamellen und Zotten verfolgen und legten sich dicht an das Trophoblastepithel (Abb. 67, 68). Die Kapillarendothelien und das Trophoblastepithel saßen

einer zarten, gleichmäßig starken Basallamina auf. Das Epithel war in vielen Lokalisationen abgelöst. Es waren vor allem die Bereiche betroffen, die unter der Geburt und während der Präparation starker mechanischer Beanspruchung ausgesetzt waren. Die Zotten lagen häufig fast vollständig epithellos vor, dagegen waren die proximalen, weiter fetal liegenden Labyrinthlamellen in ihrer morphologischen Kontinuität sehr gut erhalten. Die Trophoblastzellen wiesen in keiner der untersuchten Proben eine Tendenz zum Fusionieren oder die Bildung eines Synzytiums auf. Die Zellgrenzen zwischen benachbarten Trophoblastzellen konnten als kontinuierliche zarte Linien dargestellt werden. Sie entsprachen in ihrem histologischen Erscheinungsbild den freien Zellmembranen (Abb.67). Der Trophoblast war lichtmikroskopisch als Zytotrophoblast zu charakterisieren. Die Zellkerne der Trophoblastzellen besaßen eine ovoide Gestalt und zeigten ein hetero- und euchromatisches Farbmuster. Im Zellkern der die Zotten bedeckenden Trophoblastzellen war in der Mehrzahl ein deutliches Kernkörperchen enthalten.

Zwischen dem oben beschriebenen distalen Drittel des plazentaren Chorions und den zwei folgenden, fetal gelegenen (proximalen) Dritteln des Gürtels konnte ein markanter Übergang gefunden werden (Abb. 64, 65). Die interlamellären Abstände gingen verloren. Das Labyrinth wurde dichter. Die Plasmainsudationen wurden geringer bzw. verschwanden vollständig. Das Trophoblastepithel war isoprismatisch bis abgeflacht und wirkte zum Teil kopfsteinpflasterartig. Die Trophoblastzellkerne waren ovoid-rund, zentral gelegen und gut von den lang gestreckten, spindelförmigen Bindegewebszellkernen zu unterscheiden. Der Bindegewebsstock der Lamellen war sehr fein und in der Trichromfärbung gut differenzierbar. Es wurden zahlreiche Kapillaren eingeschlossen, die sich dem Zytotrophoblasten dicht anlegten oder das Epithel invadierten und als intraepitheliale Kapillaren vorlagen (Abb. 67, 73). Die Plazentarschranke wurde in ihrer räumlichen Ausdehnung in einigen Bereichen auf eine Strecke von 2 µm reduziert (Abb. 75). Neben den Lamellen fanden sich größere Bindegewebsinseln, von denen die Lamellen entsprangen. In diesen Bindegewebsinseln lagen größere Gefäße eingebettet, die keine elastischen Faseranteile in den Wänden einschlossen.

Die Trophoblastzellen saßen der Basallamina auf und grenzten an das lamelläre Bindegewebe. Sie nahmen apikal direkt Kontakt mit den maternalen Gefäßen auf, die vom Trophoblast eingeschlossen wurden. In den großen maternalen Gefäßen konnten lokale Lymphozytenansammlungen gefunden werden.

Die markante Unterteilung des Plazentargürtels in einen distalen und proximalen Anteil, ließ sich mit der PAS-Färbung bestätigen (Abb. 65). Im distalen Drittel des Plazentarlabyrinthes waren die den Gefäßendothelien unterliegenden Basalmembranen, maternal wie fetal,

einheitlich fein und scharf abgrenzbar. Im Unterschied dazu waren im verdichtet erscheinenden, proximalen Labyrinth zwei Typen von Basallamina-Morphologien nachweisbar. In den Lamellen und den größeren Bindegewebsinseln waren die Basalmembranen der fetalen Gefäße als feine, zarte, gleichmäßige Strukturen ausgebildet. Daneben fanden sich Gefäße, die von breiten Basalmembranen eingefasst wurden. Die Basalmembranen wirkten unregelmäßig dick, an der Außenseite zerklüftet, zerfranst (Abb. 66). Diese Gefäße waren maternaler Herkunft.

In der schmalen Bindegewebsplatte fanden sich Gefäße und einzelne elastische Fasern. Die Allantois entsprach in ihrer Ausbildung den unter 4.2 gemachten Aussagen.

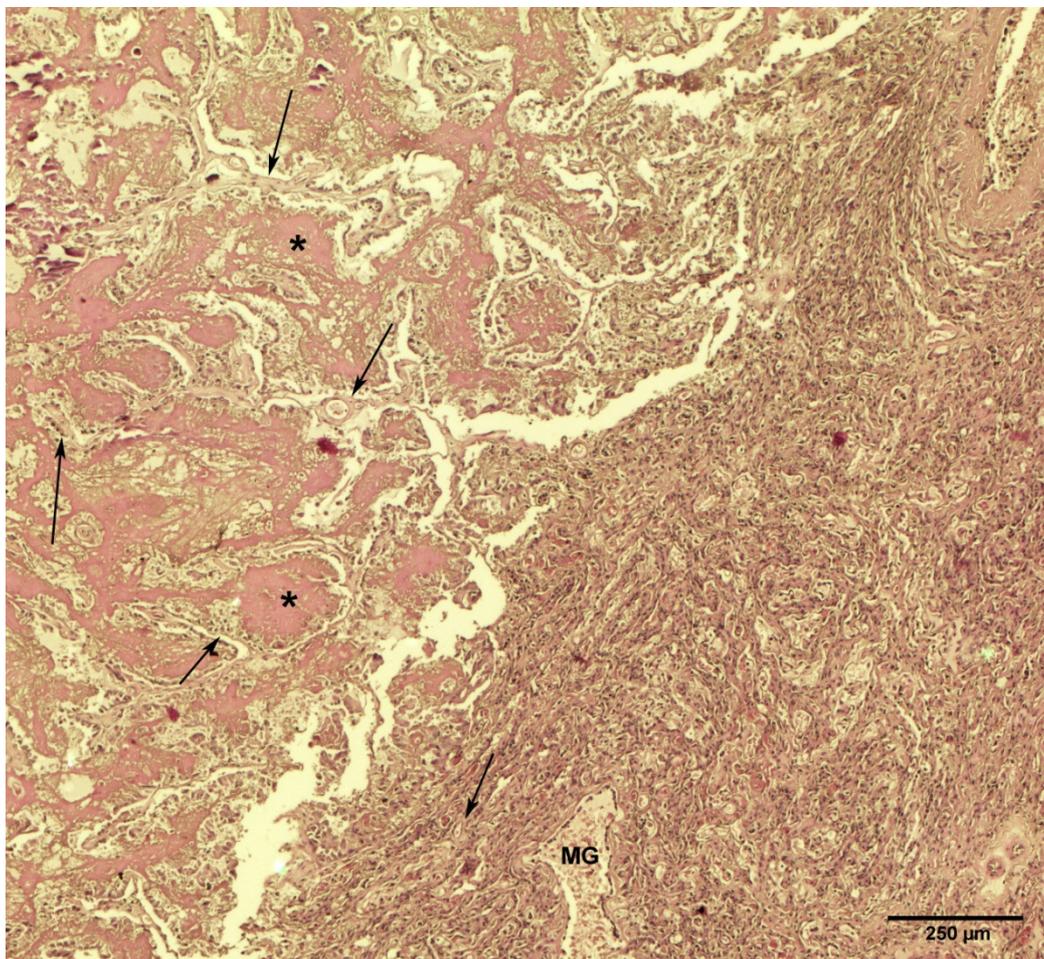


Abb. 64 Markanter Übergang zwischen distalem und proximalem Abschnitt des Plazentargürtels. Im aufgelockerten, distalen Drittel stellen sich Plasmasudationen (Sterne) zwischen den Plazentalamellen (Pfeile) dar. (E1, HE)

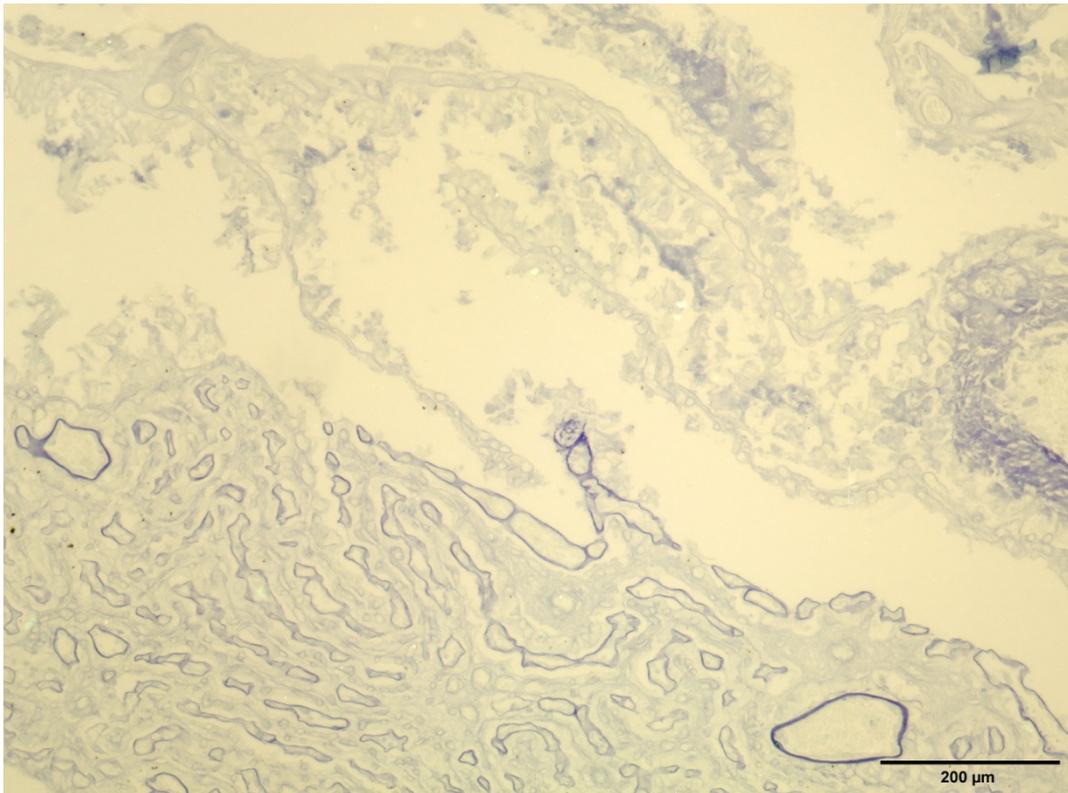


Abb. 65 Unterschiedliche Basallaminamorphologie im distalen und proximalen Abschnitt. Proximal (unterer Bildabschnitt) ist die Verdickung der Basalmembranen der maternalen Blutgefäße deutlich erkennbar. (E2, PAS-Färbung, korrespondierend zu Abb. 72)

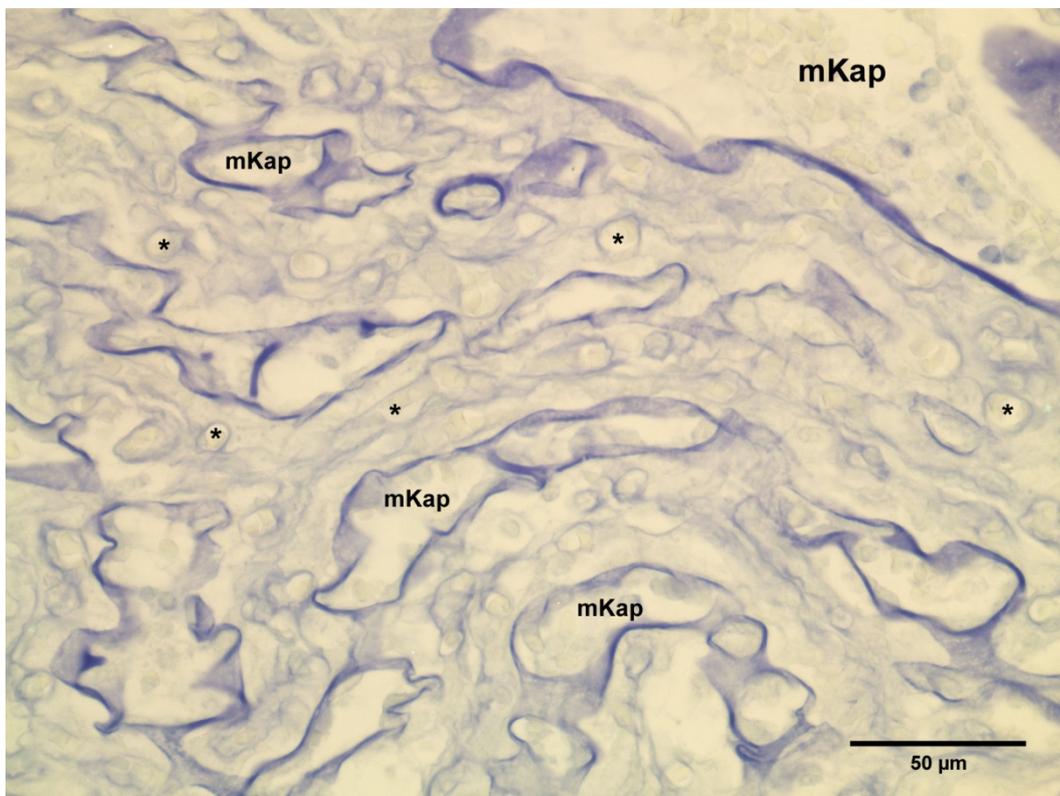


Abb. 66 Detail aus Abb. 73. Die verdickten Basalmembranen der maternalen Gefäße (mKap) sind kräftig angefärbt. Im Vergleich dazu die deutlich schmalere Basallaminae der fetalen Gefäße (Stern). (E2, PAS)

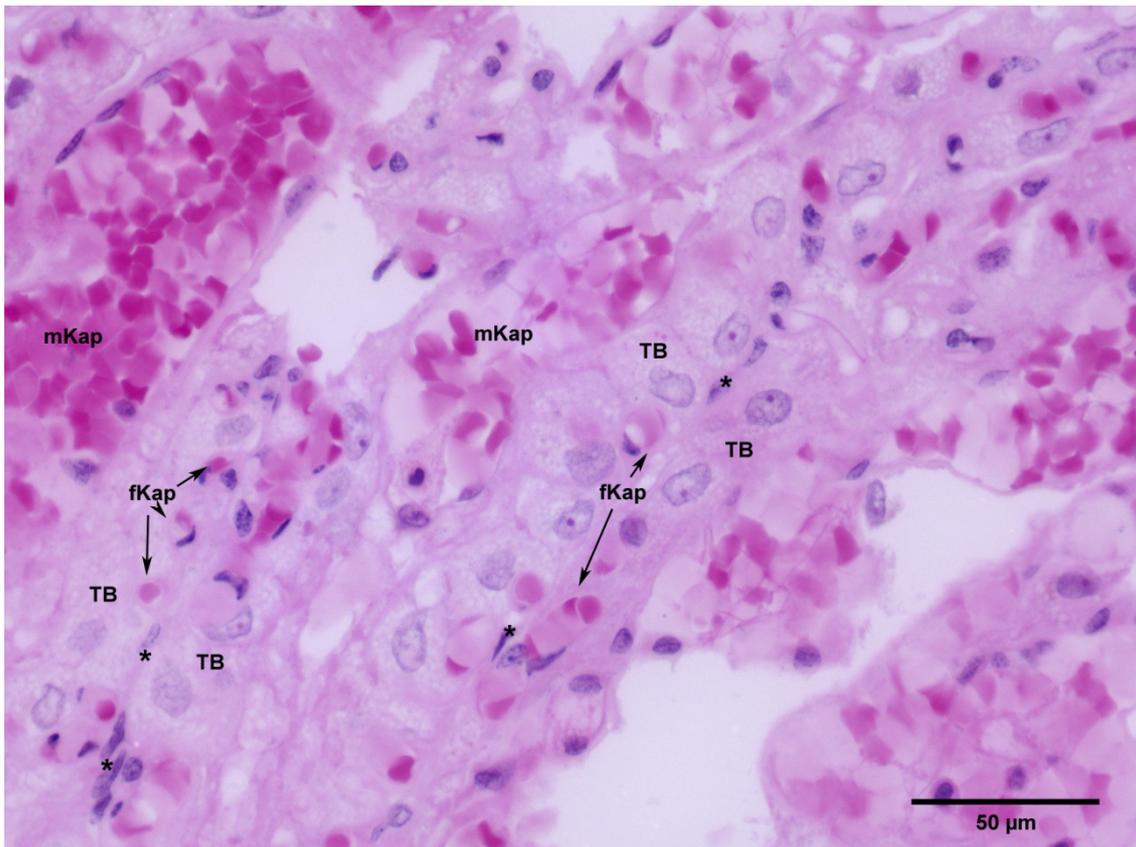


Abb. 67 Fetale Labyrinthlamelle im proximalen Gürtelbereich mit Bindegewebszellen (Sterne). Die fetalen Kapillaren (fKap) legen sich unterschiedlich dicht an und zwischen den Zytotrophoblast (TB). (E3, HE)

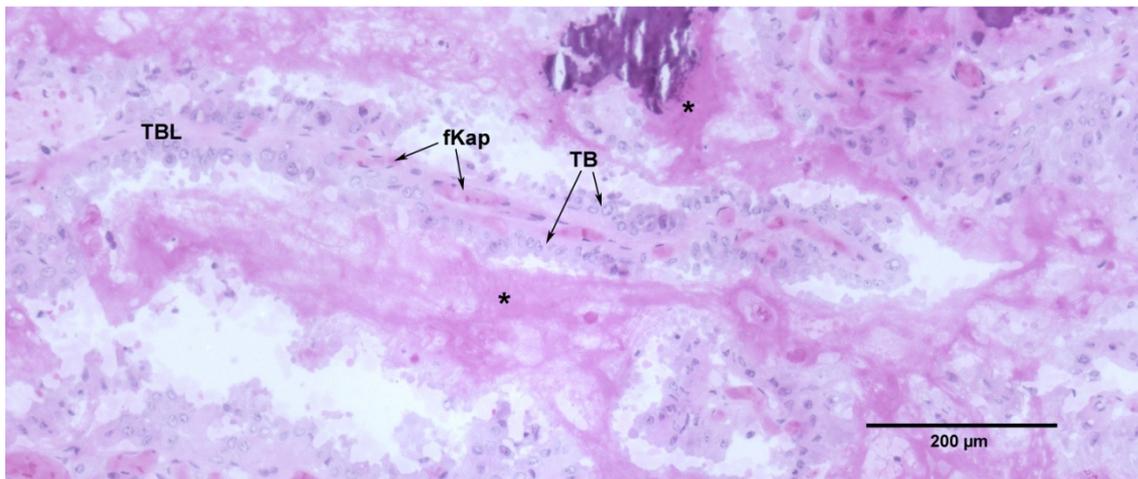


Abb. 68 Trophoblastlamelle (TBL) im Bereich des distalen Gürtelbereiches. Sie wird umlagert von Plasmainsudationen (Sterne). (E3, HE)

4.5.3 Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Elektronenmikroskopisch waren die Unterschiede zwischen der distalen und proximalen Region des Plazentargürtels ebenfalls nachvollziehbar. Im distalen Bereich waren rasterelektronenmikroskopisch weitestgehend epithellose Zotten darzustellen. Die Chorionzotten zeigten korrespondierend zur Lichtmikroskopie einen einfachen, plumpen bis filigranen Aufbau (Abb. 69). Ihr Verzweigungsmuster war einfach. Vereinzelt ließen sich Trophoblastepithelzellen auf den Zotten darstellen. Diese waren jedoch in amorphes Material eingeschlossen und im rasterelektronenmikroskopischen Bild so nicht objektiv zu charakterisieren (Abb. 70). Transelektronenmikroskopisch ließen sich Zell-Zell-Kontakte zwischen den Trophoblastzellen nachweisen. Vorrangig kamen Desmosomen vor. Im fetal gerichteten Teil des Plazentargürtels waren die Zellgrenzen der Trophoblastzellen nicht regelrecht und kontinuierlich nachvollziehbar. Die Desmosomen schienen hier ohne Bezug zu Zellgrenzen regellos im „Gewebe“ zu liegen. Im proximalen Bereich der Plazenta waren dagegen kontinuierlich nachvollziehbare Zellgrenzen sowie Interzellularräume zwischen den Trophoblastzellen differenzierbar. In diesem Bereich konnten auch Zonulae occludentes und Zonulae adhaerentes nachgewiesen werden. Im Zytoplasma der Trophoblastzellen aller Plazentargürtelregionen war raues endoplasmatisches Retikulum (rER) lokalisiert. Das rER war in einigen Bereichen zu großen endoplasmatischen Zisternen aufgetrieben. Das Innere dieser Zisternen erschien transelektronenmikroskopisch flokulent und wolkig mit einem elektronendichten bis optisch leeren Inhalt. Neben diesen durch das rER gebildeten Zisternen fanden sich optisch leere, nicht elektronendichte Vakuolen im Zytoplasma, die von glatten Membranen begrenzt wurden. Des Weiteren waren im Zytoplasma unregelmäßig angeordnete, elektronendichte Granula, unterschiedlicher Größe lokalisiert. Im Vergleich zu den beschriebenen intrazytoplasmatischen Einschlüssen wurden regelmäßig ovoid geformte Strukturen mittlerer Größe im mittleren und distalen Bereich der Plazenta gefunden und als Mitochondrien beschrieben. Eine Innenstruktur war nicht differenzierbar. Die Mitochondrien fanden sich häufig in Nachbarschaft zu an die Zelle grenzenden Gefäßen. Der Zellkern war polymorph, groß und zum größten Teil heterochromatinreich. Die Oberfläche des Gürtelparenchyms erschien sehr stark vaskularisiert und erinnert an die eines Schwammes. Zwischen den Plazentalamellen erstreckten sich im apikalen Drittel lakunenartige Freiräume, die im rasterelektronenmikroskopischen Präparat in aller Regel keine Blutbestandteile enthielten (Abb. 71). Die Lakunen wurden im proximalen Gürtelanteil immer kleiner und verschwanden vollständig (Abb. 72). Wie im lichtmikroskopischen Bild konnte eine mehr oder weniger scharfe Trennlinie zwischen dem aufgelockerten distalen und dem verdichteten

proximalen Teil des Plazentalabyrinthes gesehen werden. Proximal war das Parenchym stark verdichtet. Die Strukturen lagen sehr eng aneinander, die Gefäße zeigten eine starke Blutfülle und das schwammartige Erscheinungsbild ging verloren.

Um fast alle Gefäße fanden sich unterschiedlich breite, amorphe, mittelelektronendichte (im TEM grau erscheinend) Zonen. Es handelte sich hierbei um Basalmembranen, welche die Gefäße zum angrenzenden Bindegewebe abgrenzten. Das Erscheinungsbild der Basallaminae der Blutgefäße war heterogen. Zum einen zeigten die fetalen Kapillaren gleichmäßig schmale, feine Laminae. Zum anderen waren die Basalmembranen zwischen Trophoblastzellen und angrenzenden maternalen Blutgefäßen verdickt (Abb. 73, 74). In einigen Bereichen wölbten sich in diese Membranen Trophoblastzellen vor. Die fetalen Kapillaren wurden durch eine zum größten Teil geschlossene Endothellage ausgekleidet. Die Zellmembranen lagen in Form von Zonulae occludentes aufeinander oder wurden in einigen wenigen Stellen im proximalen Plazentarebereich von Desmosomen verbunden. Die Endothelzellen waren abgeflacht oder wölbten sich sehr stark ins Gefäßlumen vor (Abb. 76). Die Endothelzellkerne waren polymorph. Im Zytoplasma fanden sich zytoplasmatische Einschlüsse in Form von optisch leeren und elektronendichten polymorphen, meist runden Strukturen, unterschiedlicher Größe. Die endotheliale Auskleidung der größeren Gefäße war häufig gefenstert. In vielen Bereichen drängten die fetalen Kapillaren in das Trophoblastepithel vor und wurden als intraepitheliale Kapillaren angesprochen (Abb. 73, 74). Die räumliche Ausdehnung der Plazentarschranke für den Stoffaustausch zwischen maternalem und fetalem Blutkreislauf wurde so in einigen Bereichen auf 2 µm reduziert. Ein Kontakt zwischen beiden Endothellagen kam in keinem Bereich vor (Abb. 75, 76).

Das intralamelläre Bindegewebe bestand aus einer fibrillären Grundsubstanz. Die Fibrillen waren unregelmäßig angeordnet und somit im Quer- und Längsschnitt im Präparat sichtbar. Im Längsschnitt der Fibrillen war eine deutliche Querstreifung zu finden. Im Bindegewebe waren kleinste Blutgefäße und zahlreiche Bindegewebszellen eingebettet. In einigen Bereichen konnte der Kontakt zwischen Trophoblast und subepithelialen Gewebe dargestellt werden. Der Trophoblast erschien an seiner basalen Seite gezahnt und in dem darunterliegenden Gewebe verankert.

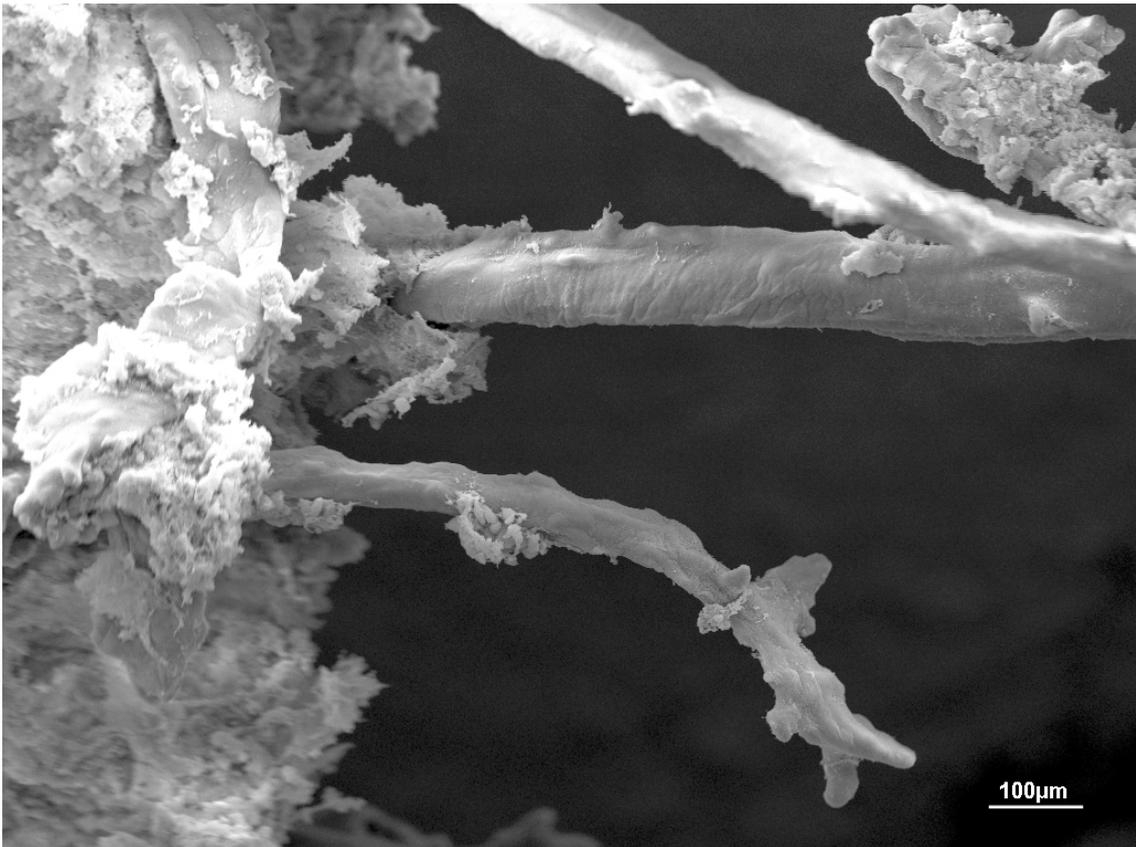


Abb. 69 Einfache, filigrane Zotte im Bereich der Choriongürteloberfläche. Das Epithel ist nahezu vollständig abgelöst. Einzelne Epithelzellen sind in Detritus eingeschlossen. (E4, REM)

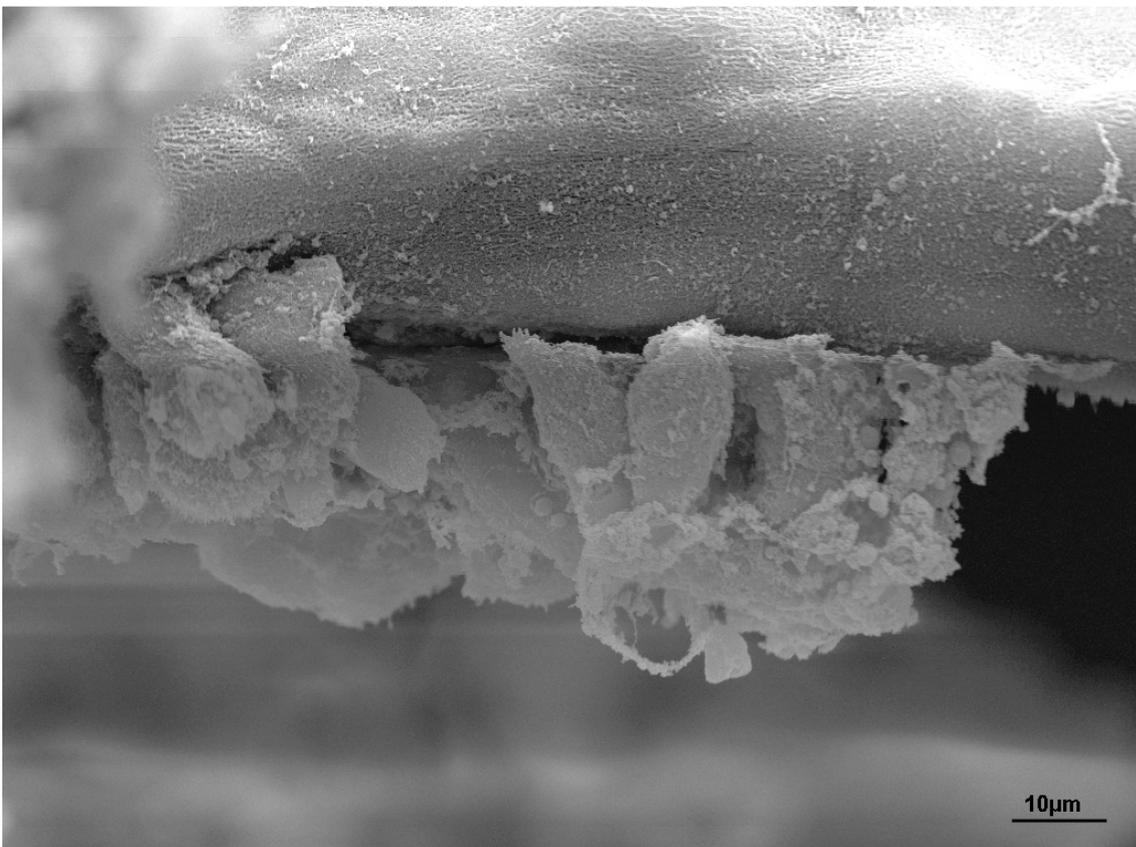


Abb. 70 Detail aus Abb. 69. Chorionepithelzellen sind mit Detritus bedeckt. (E4, REM)

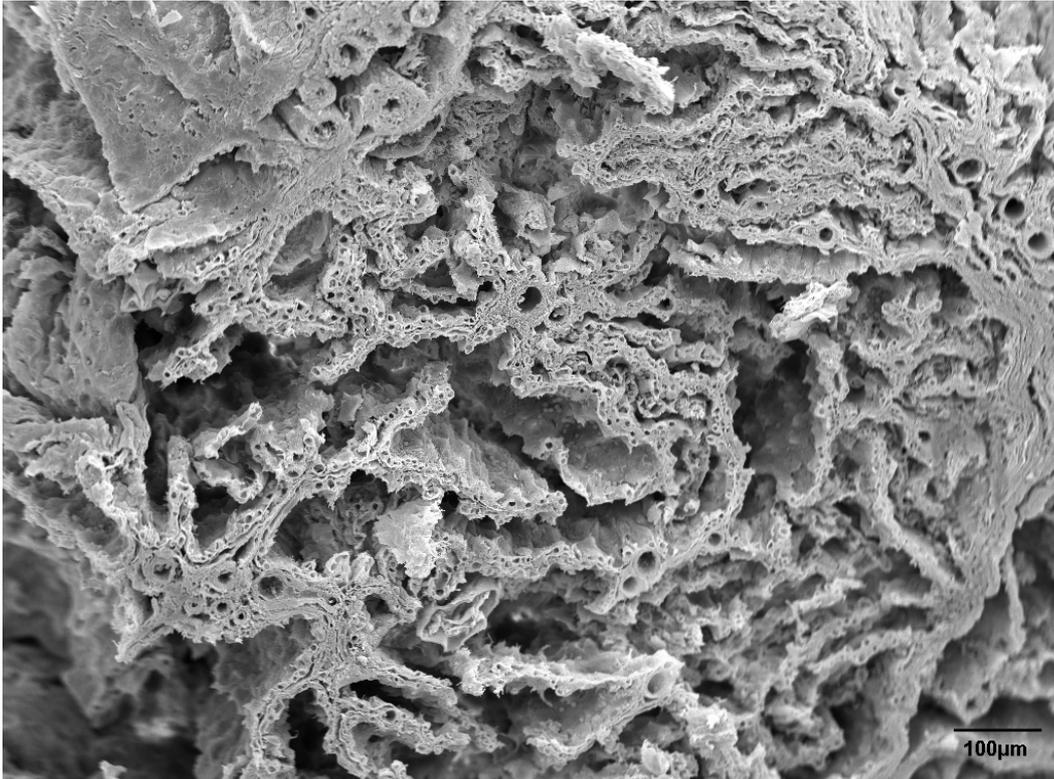


Abb. 71 Plazentalabyrinth aus dem distalen Gürtelbereich. Deutlich erkennbar die aufgelockerte Struktur. Aus den Räumen zwischen den Plazentalamellen ist das maternale Blut präparationsbedingt heraus gewaschen. (E4, REM)

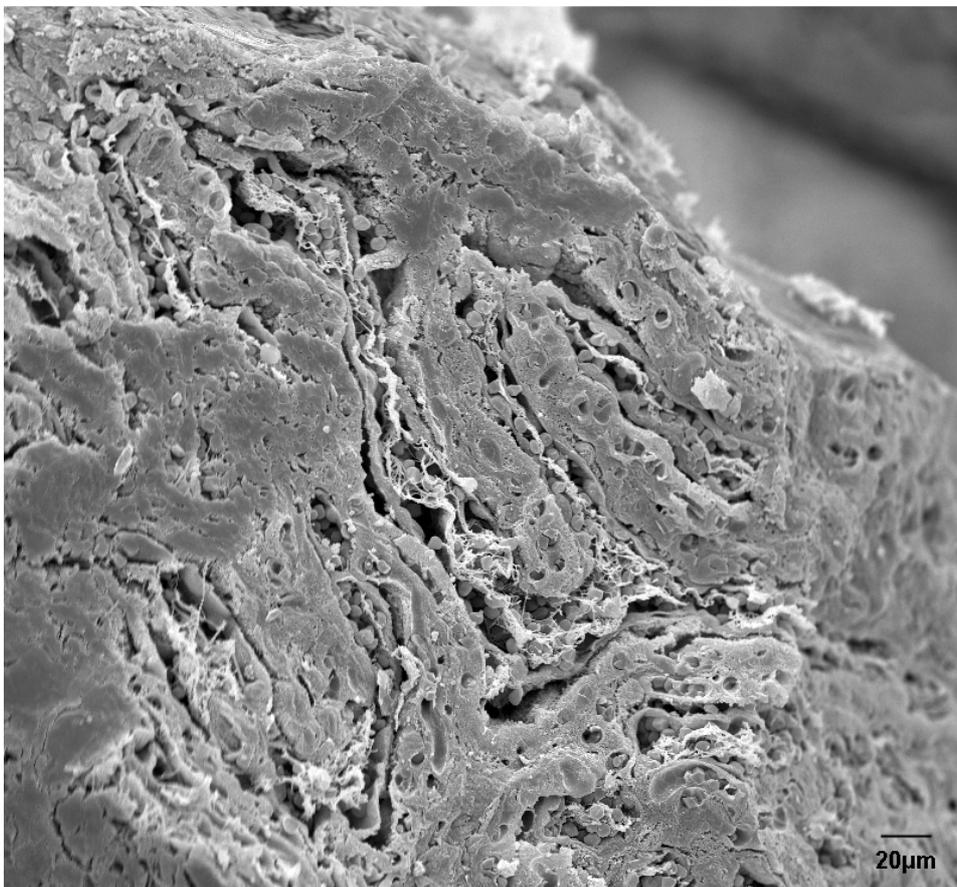


Abb. 72 Plazentalabyrinth aus dem proximalen Gürtelbereich. Die Plazentalamellen und maternalen Gefäße liegen sehr viel dichter, verglichen mit dem distalen Bereich (Abb. 84) (E3, REM).

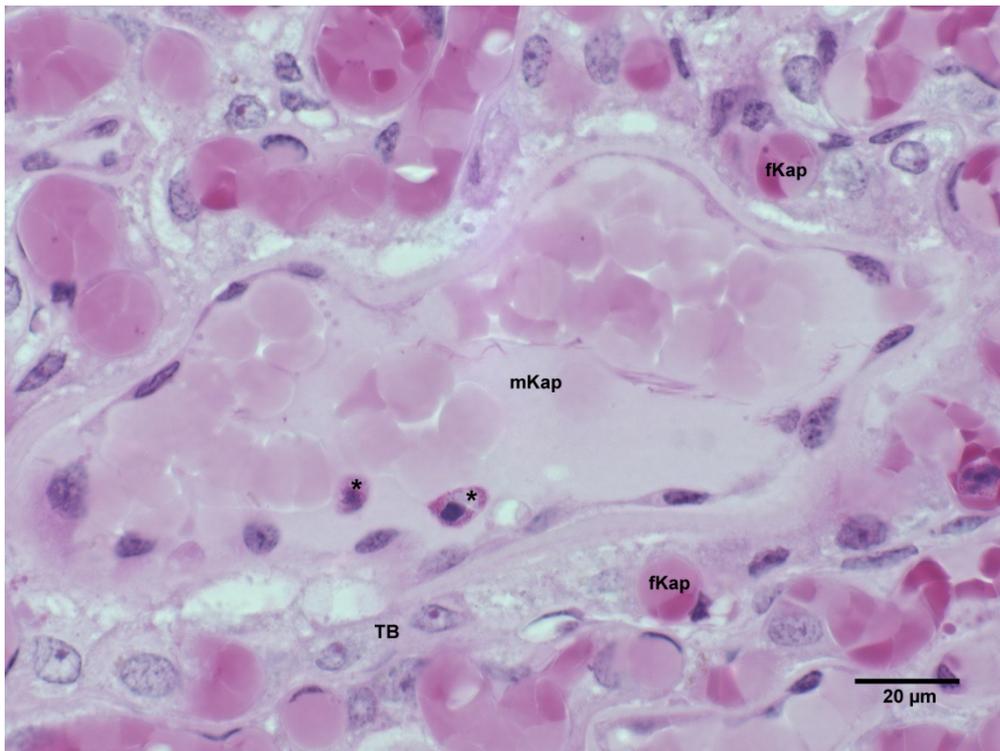


Abb. 73 Die maternale Gefäßbasallamina ist deutlich als verdickte Membran zu charakterisieren. Fetale Kapillaren (fKap) drängen zwischen die Trophoblastzellen (TB). Im maternalen Gefäß (mKap) sind zwei eosinophile mononukleäre Zellen dargestellt (Sterne), die wahrscheinlich als junge eosinophile Granulozyten angesprochen werden können (E3, HE).

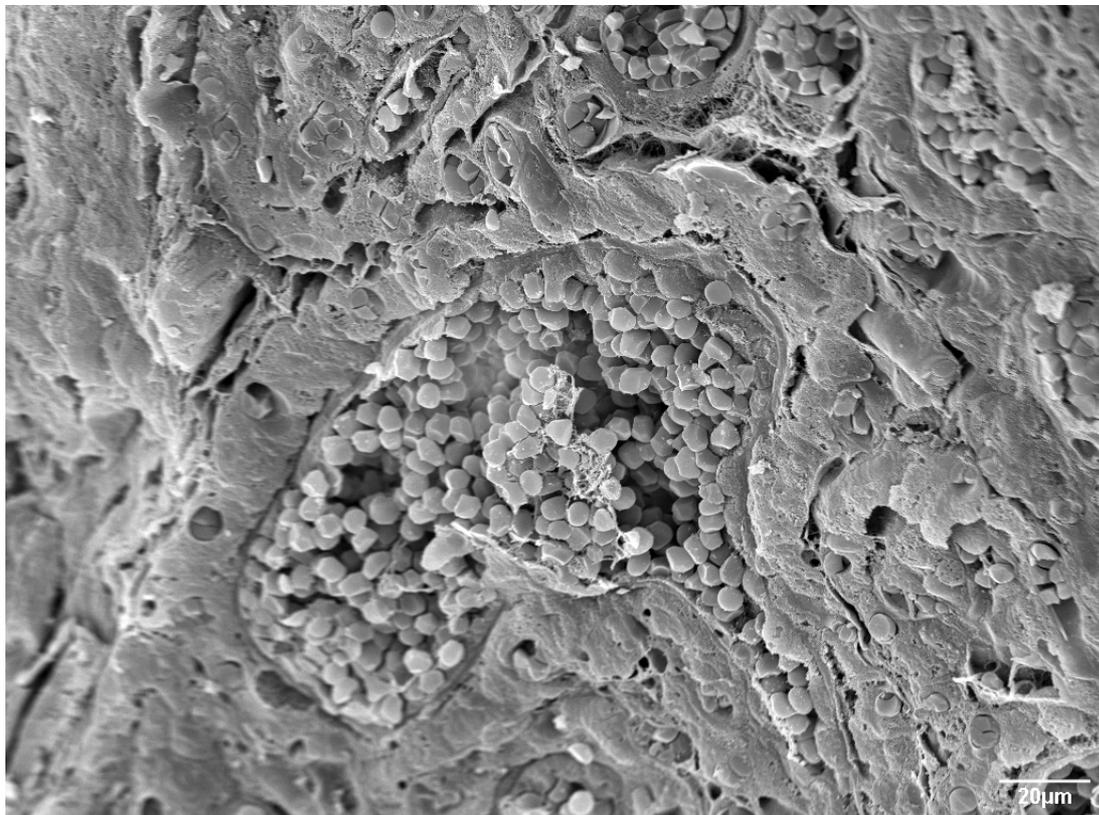


Abb. 74 Maternales Gefäß im proximalen Gürtelabschnitt. Das Gefäß wird umschlossen von einer verdickten Basallamina, daran angrenzenden Trophoblastepithelzellen und fetalen Kapillaren. Korrespondenz zu Abb. 86 (E3, HE)

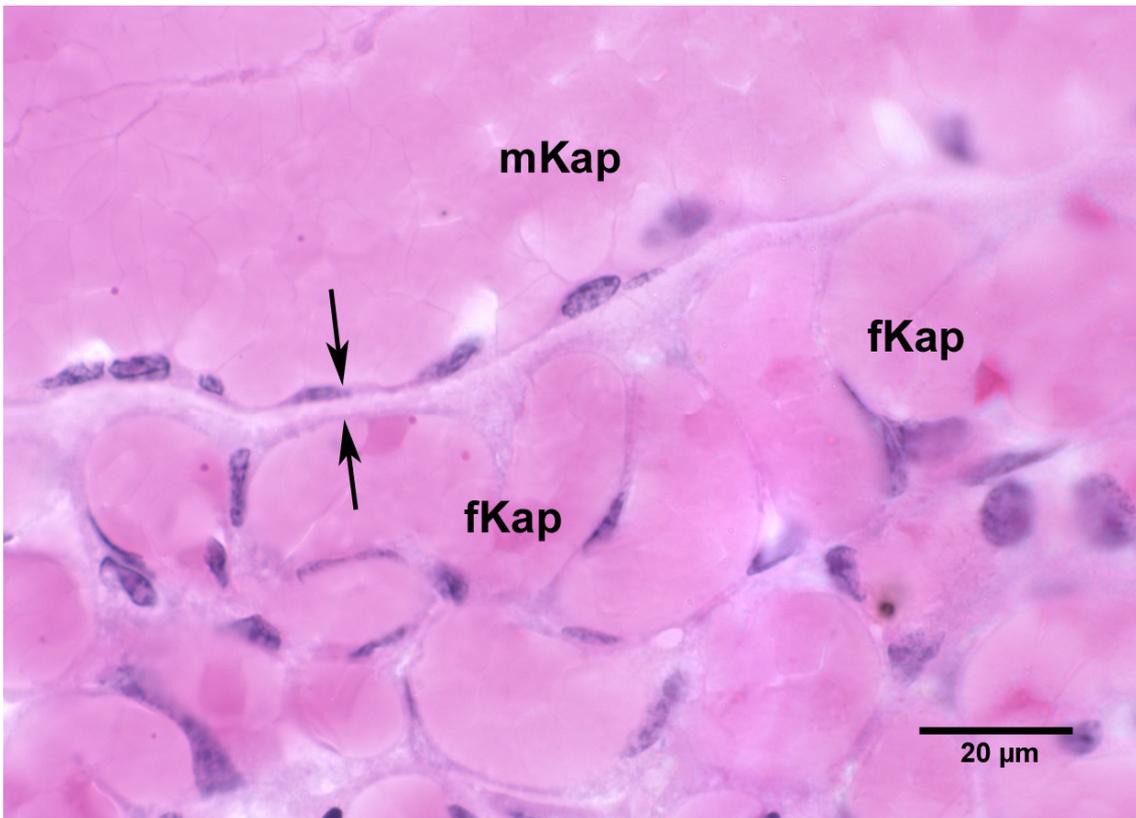


Abb. 75 Plazentarschranke (Pfeile). Korrespondierende lichtmikroskopische Darstellung zu Abb. 89 (E3, HE)

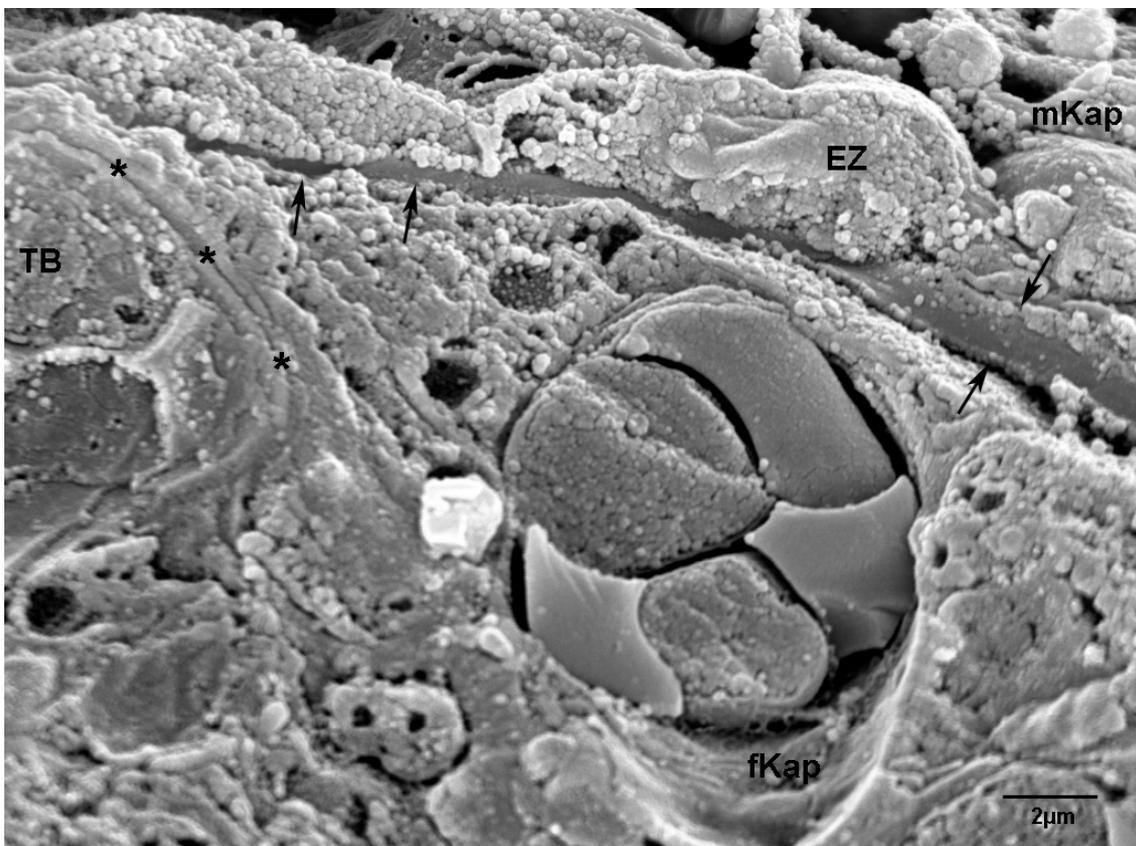


Abb. 76 Plazentarschranke. Maternales und fetales Gefäß werden vom trophoblastärem Zytoplasmasaum getrennt. An der Gefäßwand des mütterlichen Gefäßes (mKap) mit der verdickten Basallamina (Pfeile) ist eine Endothelzelle (EZ) dargestellt. Die Zellgrenzen zwischen zwei Trophoblastzellen sind deutlich dargestellt (Stern). (E3, REM)

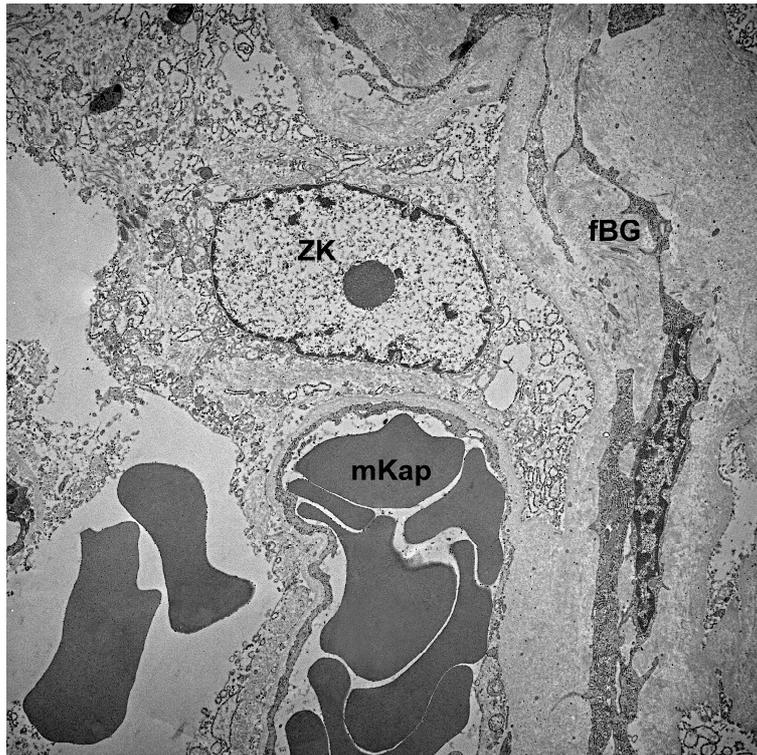


Abb. 77 Maternale Kapillare (mKap) mit verdickter Basallamina. In der angrenzenden Trophoblastepithelzelle ist der Trophoblastzellkern (ZK) mit Nukleolus deutlich zu erkennen. Das Zytoplasma enthält vakuoläre Vesikel. Angrenzend liegt das fetale Bindegewebe (fBG). (E1, TEM)

4.5.4 Zusammenfassung der Befunde

- Makroskopisch als breiter, brauner bis rot-grauer, zottiger, gürtelförmiger Bereich zu charakterisieren
- Mikroskopische Zweischichtung des Gürtels
 - Lage innerhalb der Gürtelplazenta
 - Morphologien der Basalmembranen
 - Plasmainsudationen
- Zahlreiche Zell-Zell-Kontakte zwischen den Trophoblastzellen
- Intraepithelialen Kapillaren im Trophoblastepithel
- Distanz zwischen maternalen und fetalen Gefäßen auf 2 μm reduziert
- Erhalt der Schichten der Plazentarschranke in allen untersuchten Regionen

4.6 Extravasatzone (EVZ)

4.6.1 Makroskopische Ergebnisse

Die Extravasatzone konnte auf beiden Seiten des Plazentargürtels lokalisiert werden. Der 3 -5 cm breite Randsaum war von grünbrauner Farbe und zottenfreier, samtartig glatter Oberfläche. Die Stärke der Extravasatzone, das heißt die Ausdehnung zwischen der maternalen Kontaktzone und der Allantois, nahm vom zentralen Gürtelbereich zum paraplastentaren Allantochorion kontinuierlich ab. Der Übergang zwischen der EVZ und dem paraplastentaren Allantochorion war abrupt und an der deutlich unterschiedlichen Gewebemorphologie zu erkennen. Die Konsistenz war sehr brüchig. Im Gegensatz zum zottenbesetzten Gürtel stellten sich die Bruchkanten nicht faserig dar, sondern eher sandartig, granulär. Der Randsaum wies eine ungleichmäßige, regellose grünbraun bis rotbraun marmorierte Farbverteilung innerhalb des Gewebes auf.

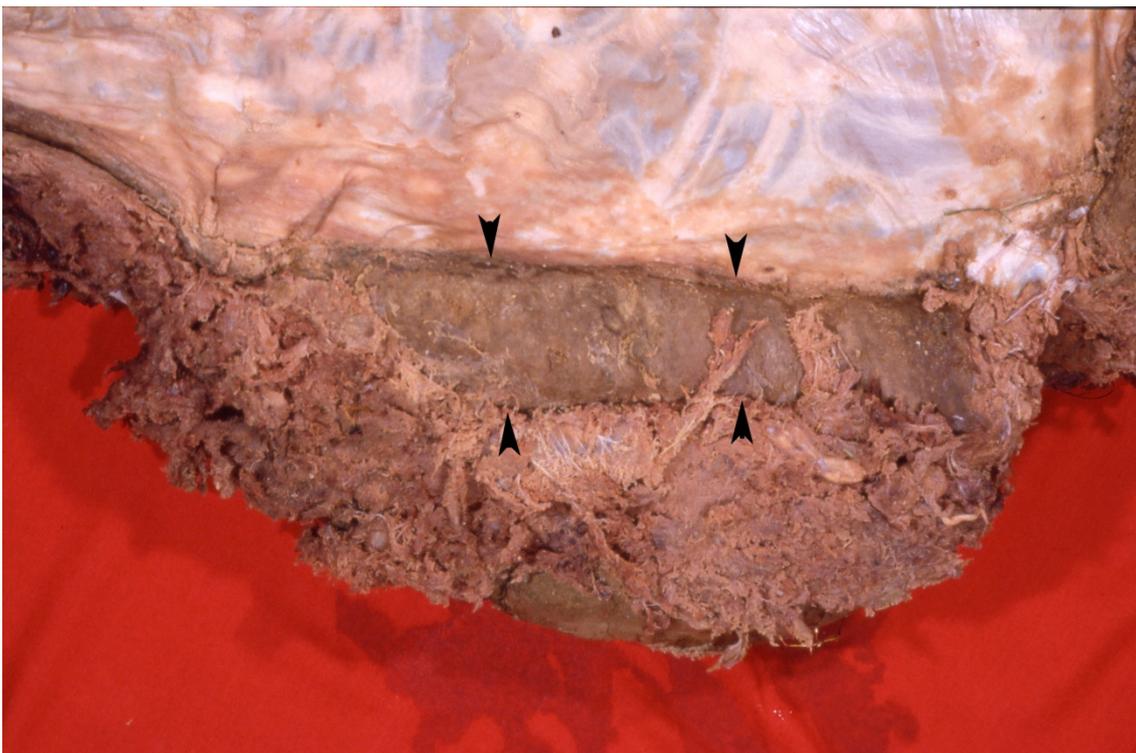


Abb. 78 Extravasatzone (zwischen den Pfeilköpfen) flankiert den Plazentargürtel und ist frei von Chorionzotten und grenzt an das extraplazentare Allantochorion.

4.6.2 Lichtmikroskopische Ergebnisse

Die kleinen Zotten des paraplazentaren Allantochorion gingen am Übergang zur EVZ in die Lamellen des Plazentalabyrinthes über. Die innere Labyrinthstruktur war ähnlich der des zentralen Gürtelbereichs. In der EVZ fanden sich zwischen den Lamellen zahlreiche Plasmainsudationen und Einblutungen (Abb. 79, 80). Diese waren im histologischen Bild als amorphe, strukturlose, meist eosinophile Massen zwischen den Lamellen sichtbar. In diesen konnten, wie auch in den angeschnittenen Gefäßen Erythrozyten, Granulozyten und vereinzelt auch Lymphozyten gefunden werden. Im Bindegewebe der Labyrinthlamellen fanden sich in der HE – Färbung grün bis grünbraune Verfärbungen.

Der Zytotrophoblast war als einschichtiges, iso- bis hochprismatisches Epithel ausgebildet. Der Zellkern war rund bis oval und lag zentral. Im Bereich der Insudationen fanden sich Vakuolen in den Trophoblastzellen. Es konnten granuläre, zytochrome intrazytoplasmatische Einschlüsse in den Trophoblastzellen dargestellt werden (Abb. 82).

Das Trophoblastepithel saß einer dünnen, gleichmäßig starken, scharf abgegrenzten Basalmembran auf. In dem darunter liegenden kollagenen Bindegewebe waren feine Kapillaren eingelagert. Das Endothel dieser Kapillaren war ebenfalls von einer gleichmäßig zarten Basallamina unterlagert. Neben diesen schmalen PAS-positiven Strukturen waren auch stark verdickte Basalmembranen zu finden. Diese lagen in direkter Nachbarschaft zu den Trophoblastzellen auf deren apikaler Seite. Besonders deutlich wurde dies im Bereich der größeren Bindegewebsinseln, welche schon unter 4.5.2 beschrieben wurden. An diesen Bindegewebsinseln hatten Labyrinthlamellen ihren Ursprung.

Der regelrechte Aufbau der plazentaren Grenzstruktur, das heißt fetale Gefäßendothelien mit Basallamina, eventuelle feine Bindegewebsschicht, Trophoblast mit Basallamina, maternale Gefäßendothelien mit Basalmembran, war in einigen Bereichen der EVZ gestört. In den Gebieten mit den beschriebenen Insudationen und grün-braunen Pigmentablagerungen waren feine bindegewebige Lamellen mit Trophoblastepithel darstellbar, die in direkten Kontakt mit Blutzellen traten. Sie ragten in Bluträume ohne endotheliale Auskleidung, in denen die Trophoblastzellen von Blut umspült wurden (Abb. 79 – 82).

Das Gewebe der EVZ war bis auf die Wände der großen Gefäße frei von elastischen Fasern. Am Übergang zum paraplazentaren Allantochorion verloren die Lamellen an Höhe und verstrichen. Zwischen den zwei Plazentastrukturen war eine deutliche strukturelle Trennung zu erkennen.

4.6.3 Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Das rasterelektronenmikroskopische Erscheinungsbild der Extravasatzone war vergleichbar mit dem des distalen Gürtelbereiches. Zwischen den Lamellen erstreckten sich großräumige Lakunen, die im Unterschied zum Gürtel vollständig mit amorphem Material und Blutzellen ausgefüllt waren (Abb. 81). Eine reguläre endotheliale Auskleidung der Bluträume war nicht nachvollziehbar. Epithelzellverbände konnten nur vereinzelt dargestellt werden. Das Zytoplasma der Trophoblastzellen erschien sehr stark vakuolarisiert und nahm ein schaumiges Aussehen an. Die Zellkerne waren heterogen geformt und lagen im basalen Drittel der Zellen. Die Zelloberflächen waren in das amorphe Material der Insudationen und Einblutungen eingebettet, so dass eine Beschreibung der Zelloberfläche nicht möglich war (Abb. 83, 84). Es ließen sich des Weiteren Zotten mit plumper Morphologie und einfachen Verzweigungsgrad darstellen. Die Zotten präsentieren sich meist ohne Epithel.

4.6.4 Zusammenfassung der Befunde

Ca. 3-5 cm breiter, grünbrauner Randsaum auf beiden Seiten des zottenbesetzten Gürtels

Amorphe, strukturlose, eosinophile Massen zwischen den Labyrinthlamellen

Chromaffine, granuläre Ablagerungen unterschiedlicher Größe im Zytoplasma der Trophoblastzellen

Stark vakuolisiertes Zytoplasma der Epithelzellen

- Stark verbreiterte PAS-positive Membranstrukturen auf der apikalen Seite der Trophoblastzellen

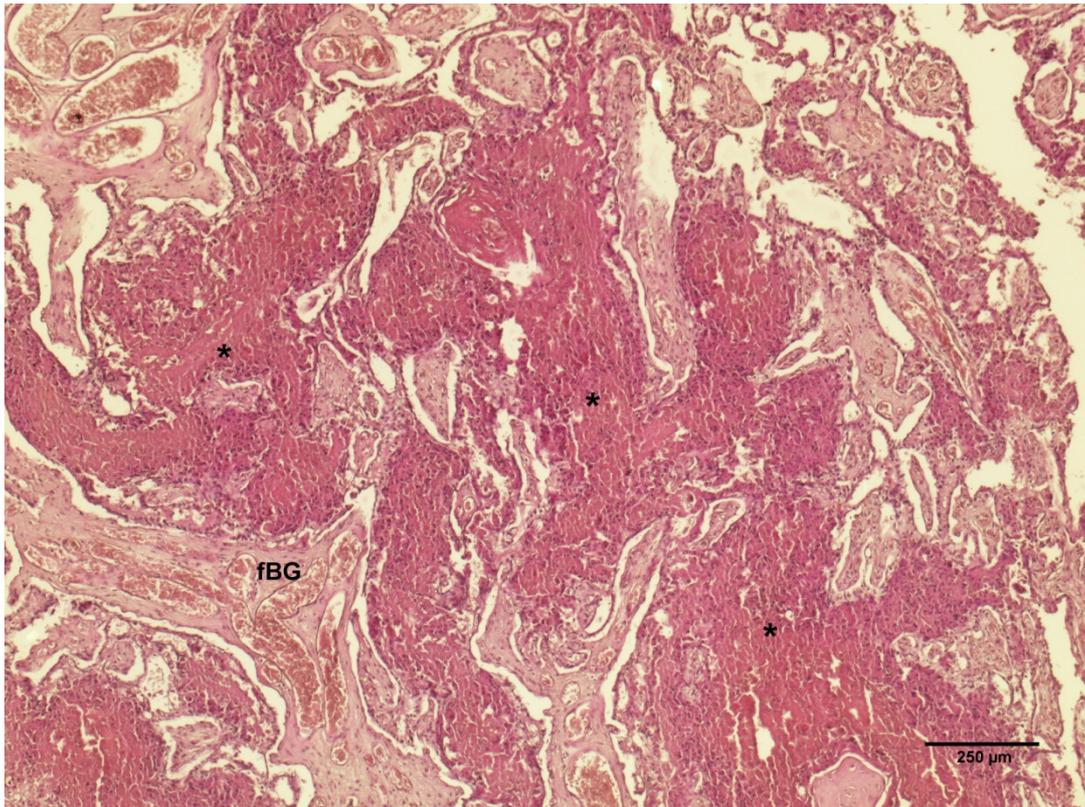


Abb. 79 Plazentalabyrinth im Bereich der Extravasatzone. Blutlakunen (Stern) drängen die Plazentalamellen auseinander.

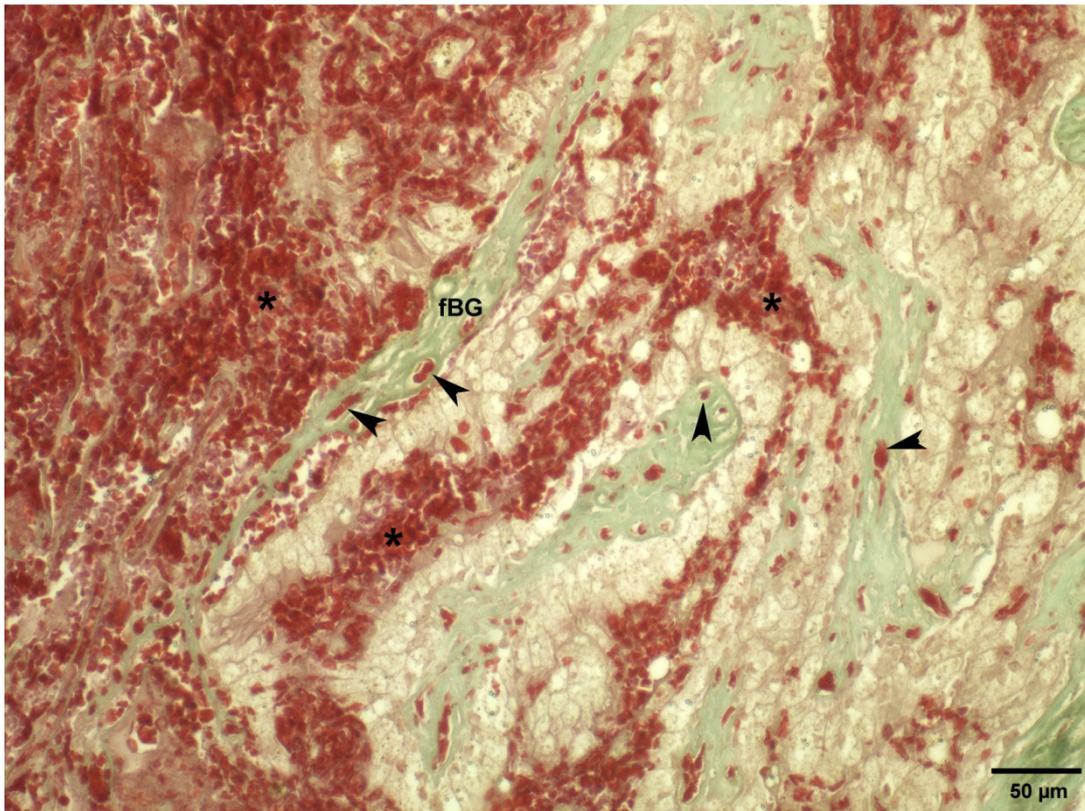


Abb. 80 Das fetale Bindegewebe der Plazentalamellen ist grün gefärbt und schließt fetale Kapillaren (Pfeilköpfe) ein. Die Einblutungen (Sterne) stellen sich rot dar. Korrespondierend zu Abb. 90 (E1, Trichrom Masson-Goldner Färbung)

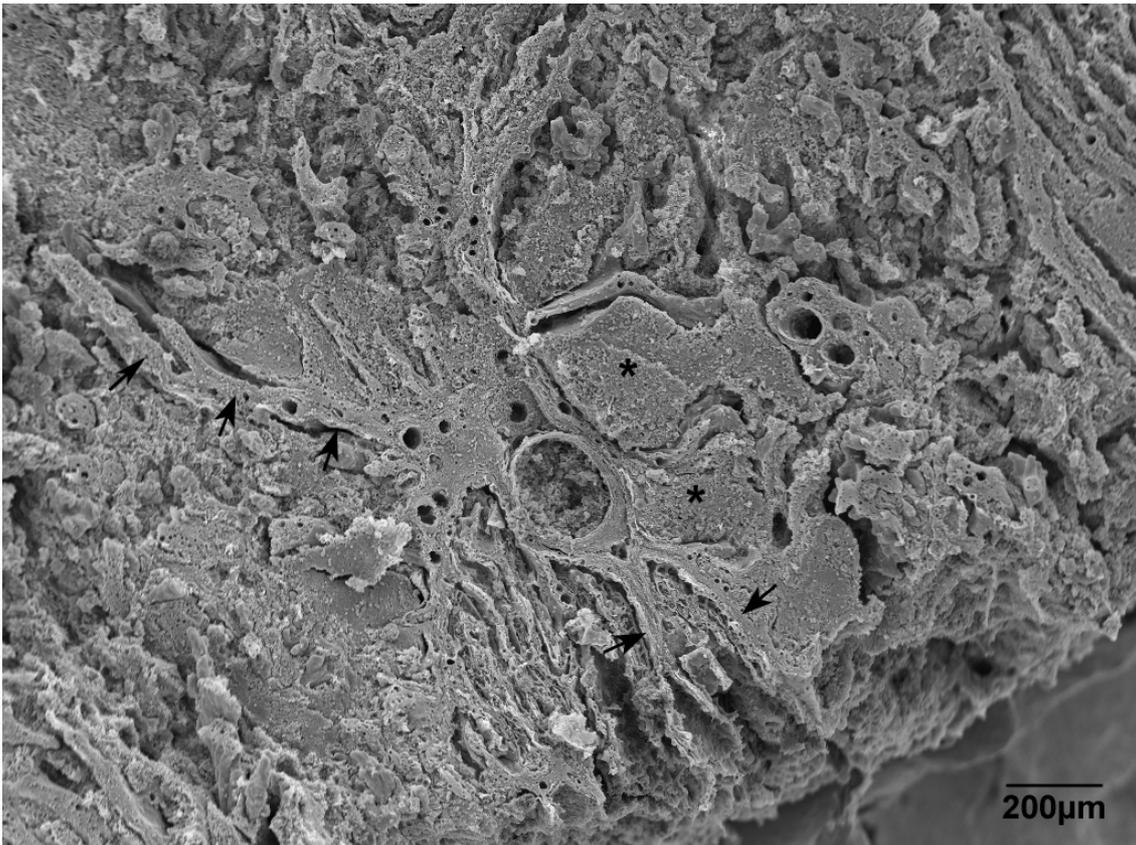


Abb. 81 Übersicht der Oberfläche der Extravasatzone. Die Labyrinthlamellen (Pfeile) werden von freiem Blut in Blutlakunen und Plasmainsudationen umschlossen (Sterne). (E3, REM)

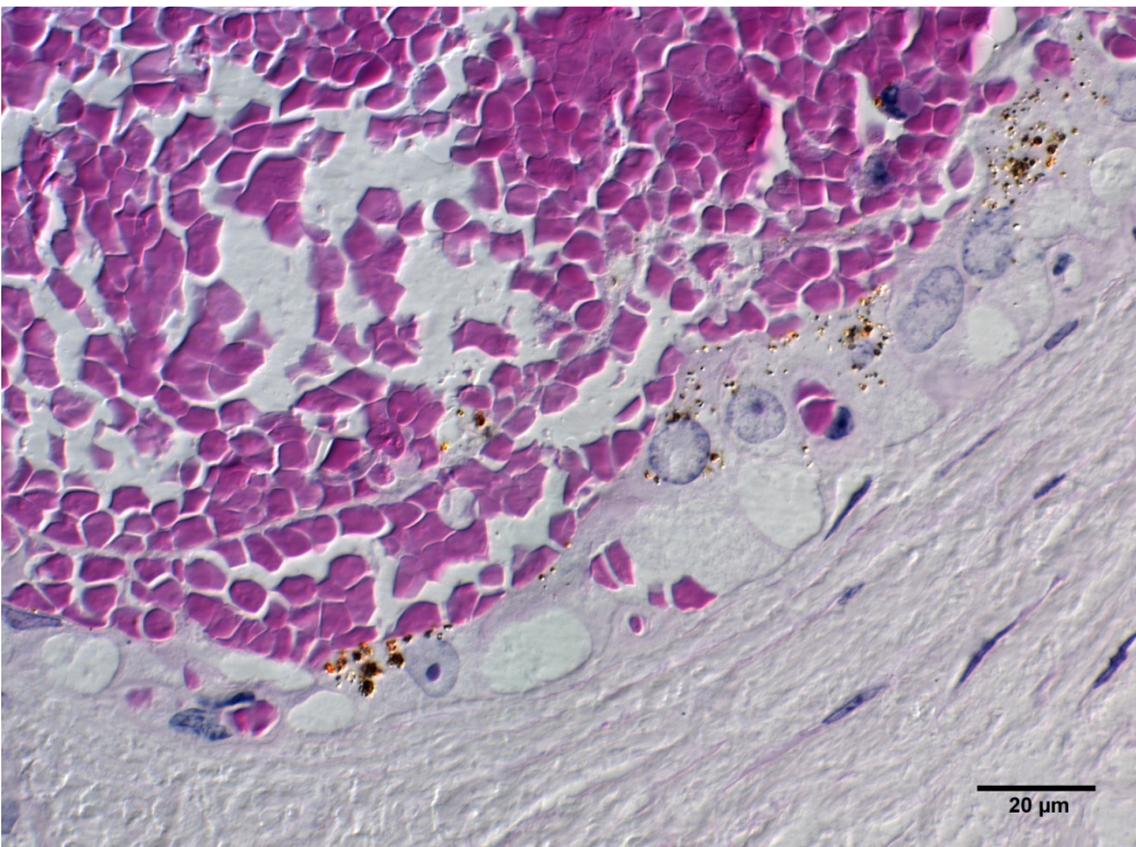


Abb. 82 Chromaffine Ablagerungen (grün-braune Färbung) sind in das Zytoplasma der Trophoblastzellen eingelagert. (E4, HE, DIC)

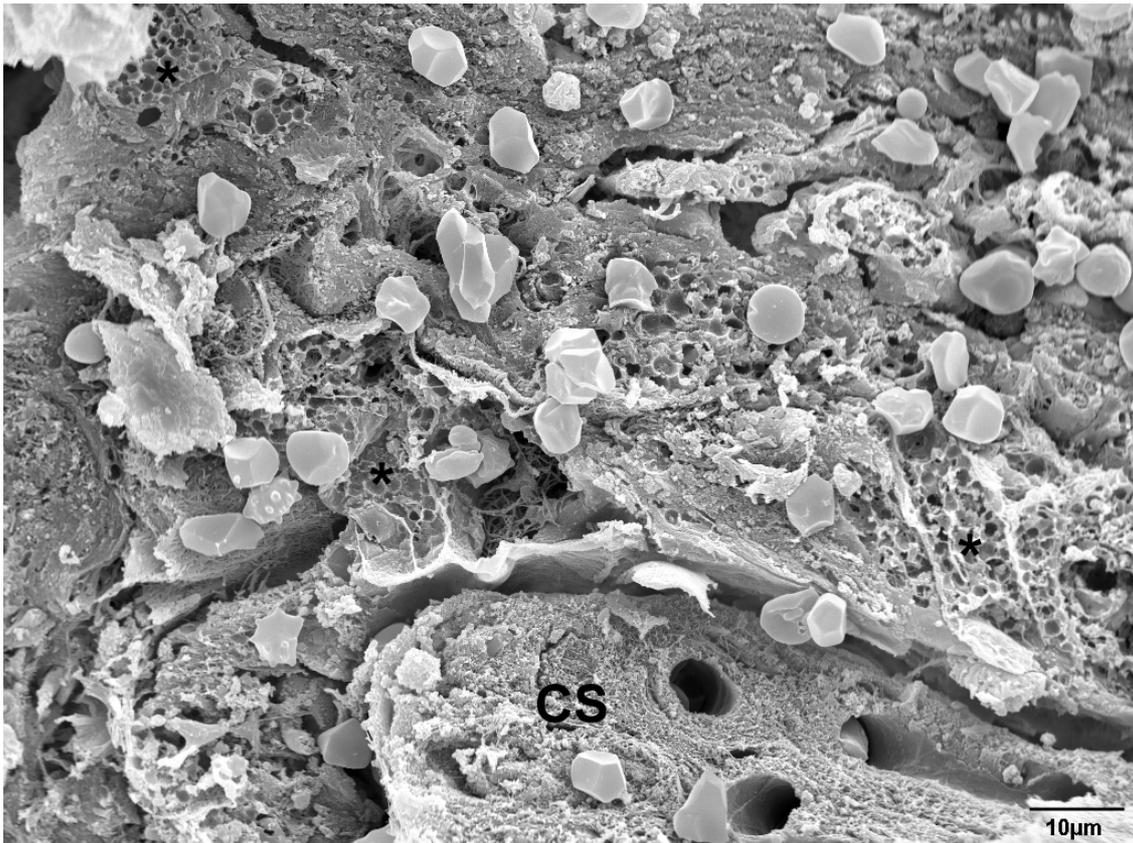


Abb. 83 Trophoblastepithel im Bereich einer Plazentallamelle oder Chorionsepte (CS). Das Zytoplasma der Trophoblastzelle (Stern) ist stark vakuolisiert. Freie Erythrozyten liegen artifiziell, präparationsbedingt auf der Gewebeoberfläche. (E3, REM)

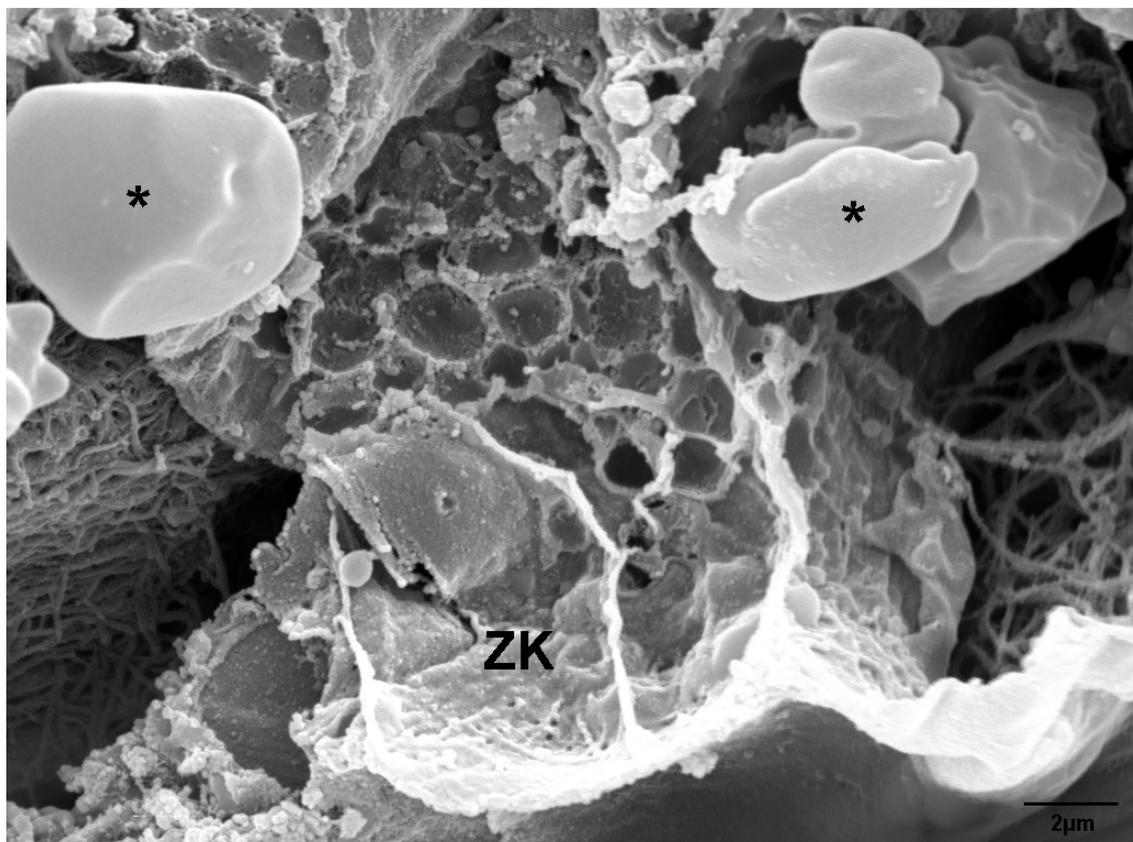


Abb. 84 Detail aus Abb. 83. Trophoblastepithelzelle mit stark vakuolisiertem Zytoplasma und deutlichem Zellkern (ZK). Mit Stern gekennzeichnet sind zwei Erythrozyten. (E3, REM)

4.7 Immunhistochemische Ergebnisse

Der Nachweis der plazentaren alkalischen Phosphatase (PLAP) verlief in allen untersuchten Regionen positiv. Die Zellen zeigten ein intrazytoplasmatisches Reaktionsmuster.

Die semiquantitative Analyse der antigenexprimierenden Zellen des extraplazentaren Allantochorion ergab einen mittelgradigen Anteil an der Gesamtzellzahl. In einigen Epithelzellen war eine geringgradige apikale Konzentration an den Zottenspitzen vorhanden. Eine generell verstärkte basale oder apikale Lokalisation der alkalischen Phosphatase innerhalb der Zelle, wie etwa in den humanen Trophoblastzellen, konnte nicht festgestellt werden. Im plazentaren Allantochorion einschließlich der Extravasatzone lagen die Reaktionspräzipitate in granulärer Struktur diffus im Zytoplasma der Trophoblastzellen. Eine lokale Konzentration in der Zelle war nur in einigen Gürtelbereichen zu beobachten. Die Expression der alkalischen Phosphatase wurde als gering bis mittelgradig eingeschätzt. Unterschiede in der Expression bezüglich der Lokalisation innerhalb des Gürtels waren nicht festzustellen. Alkalische Phosphatase war im Trophoblast sowohl im Bereich der Zotten, als auch im Labyrinth nachweisbar.

Im Gewebe des Allantochorion konnten innerhalb der Trophoblastzellen positive Reaktionsprodukte auf den immunhistologischen Nachweis von hCG gezeigt werden. Die positiven Farbreaktionen waren intrazytoplasmatisch, perinukleär bzw. nukleär nachweisbar. Es wurden auch geringgradig positive Befunde in Endothelzellen gefunden. Im Bereich des plazentaren Allantochorions unterschied sich die Verteilung der positiven Reaktionsprodukte des immunhistologischen Nachweises von hCG innerhalb der Trophoblastzellen abhängig von der Lokalisation im Gürtelbereich. Im proximalen Bereich des Gürtels war der Nachweis von hCG nur perinukleär und nukleär positiv. Zur endometrialen Kontaktzone hin fanden sich zunehmend intrazytoplasmatisch markierte, granuläre Reaktionspräzipitate.

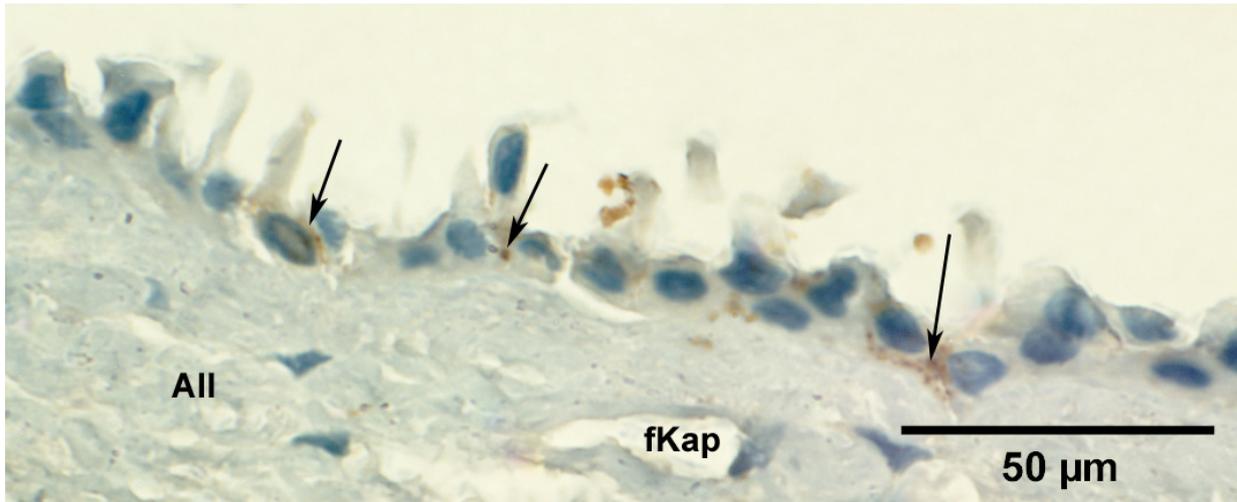


Abb. 85 Allantoisepithel, PLAP – Immunhistochemie. Gut sichtbar sind granuläre, intrazytoplasmatische Reaktionspräzipitate (Pfeile). (E1, Methylenblaufärbung)

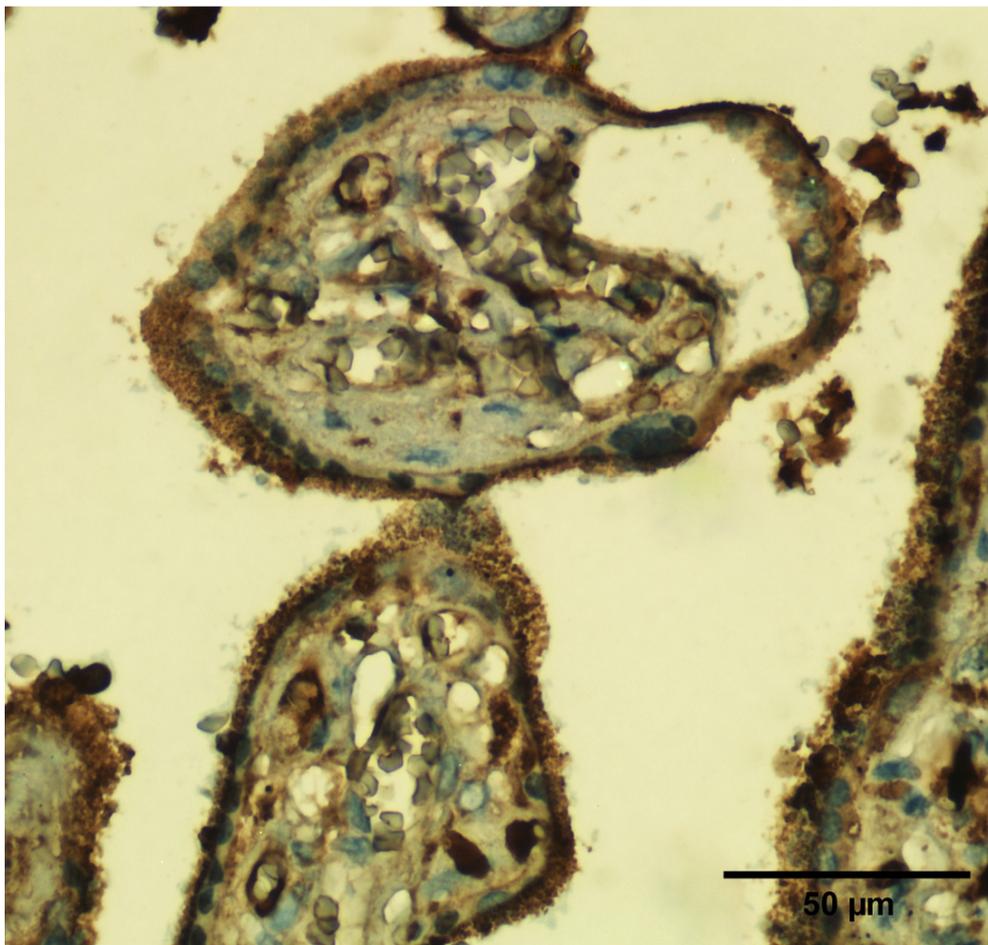


Abb. 86 Positivkontrolle an der humanen Plazentaprobe, PLAP – Immunhistochemie. Die Reaktionspräzipitate konzentrieren sich auf den apikalen Zellbereich.

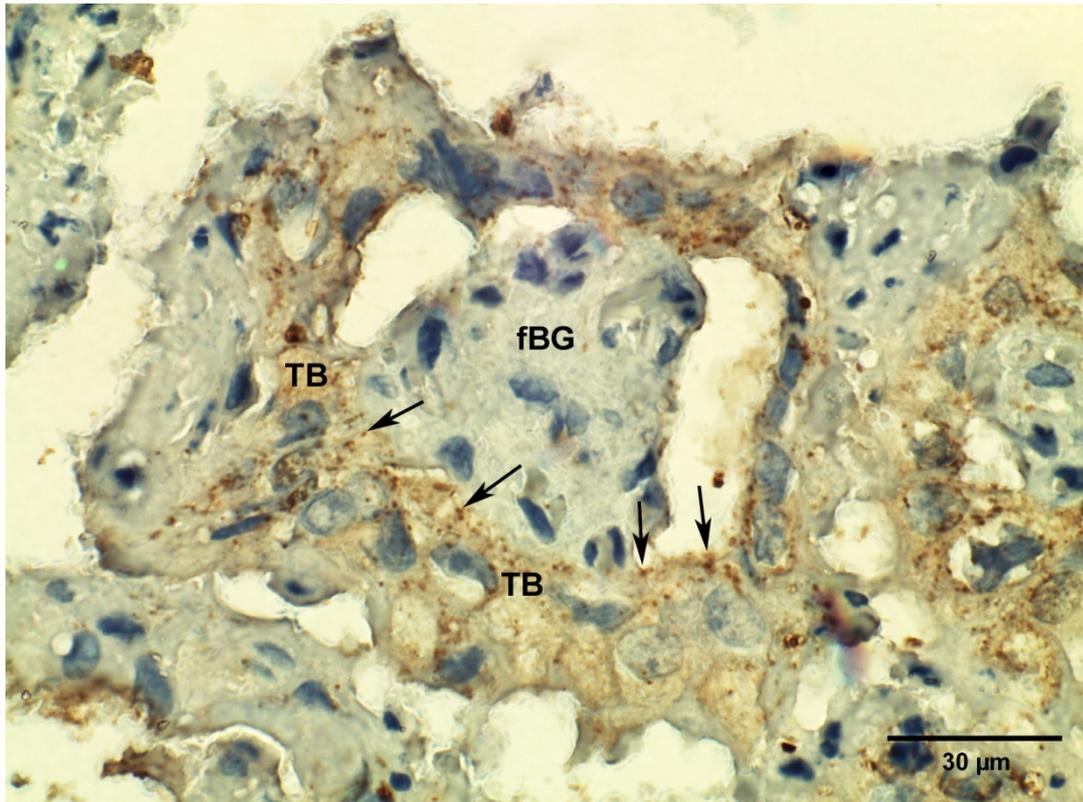


Abb. 87 Paraplazentares Allantochorion, PLAP – Immunhistochemie im Bereich einer quer geschnittenen Chorionzotte (fBG). Die positiven Präzipitate (Pfeil) liegen granulär im Zytoplasma der Trophoblastzellen (TB). (E2)

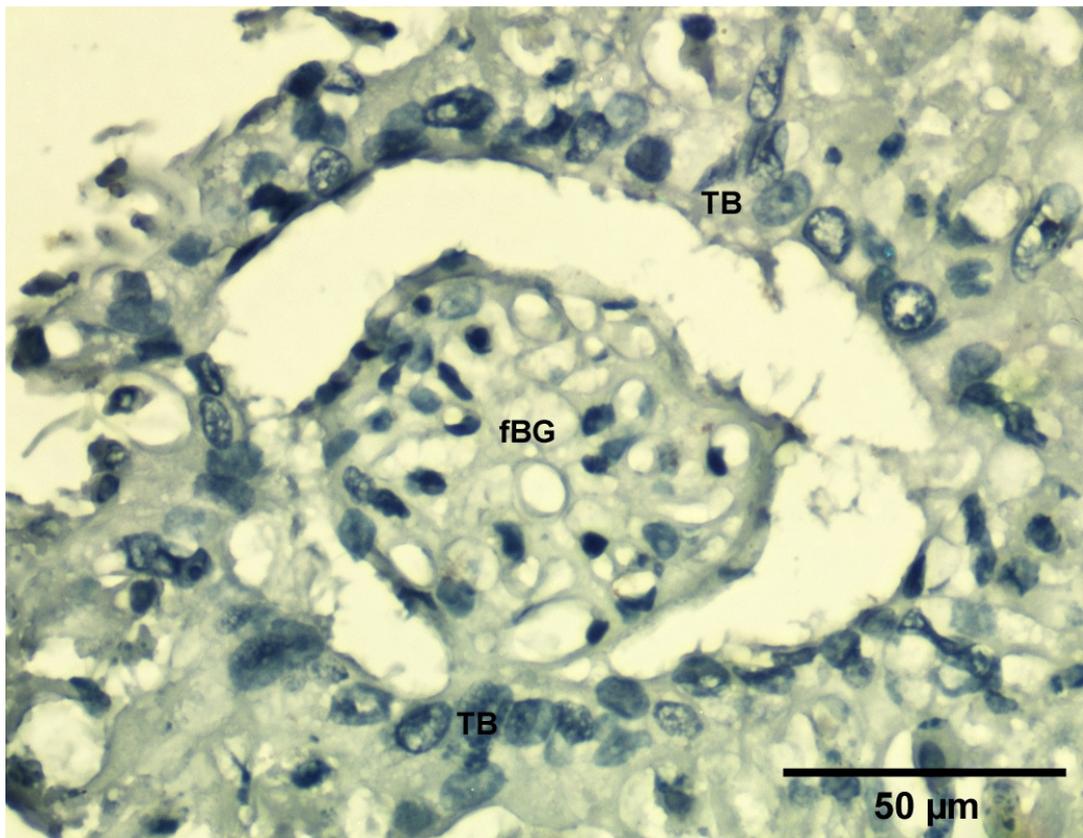


Abb. 88 Paraplazentares Allantochorion, ohne Primärantikörper, mit Milchprotein inkubierte Negativkontrolle im korrespondierenden Schnitt. Der Spaltraum zwischen Trophoblast und fetalen Bindegewebe ist künstlich präparationsbedingt erweitert. (E2)

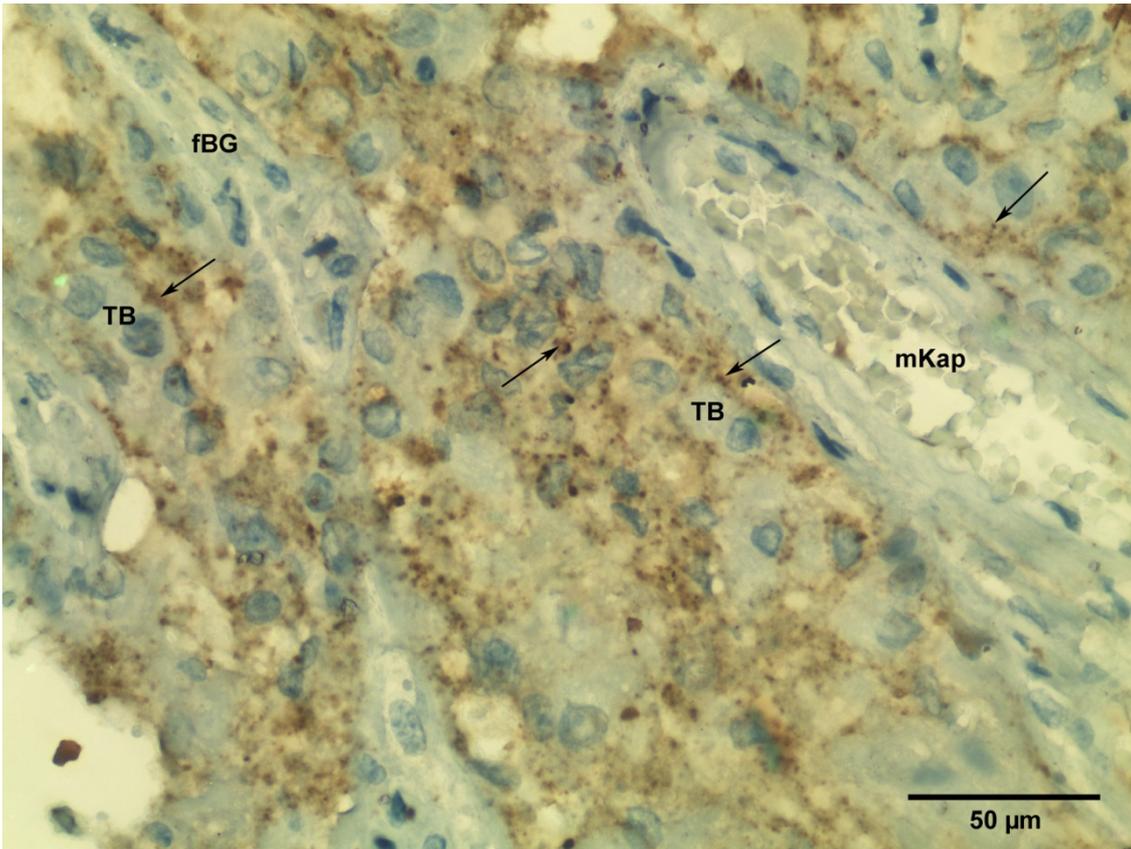


Abb. 89 Placentares Allantochorion, PLAP – Immunhistochemie. Die granulären Reaktionspräzipitate liegen im Zytoplasma der Trophoblastzellen (Pfeile). (E2)

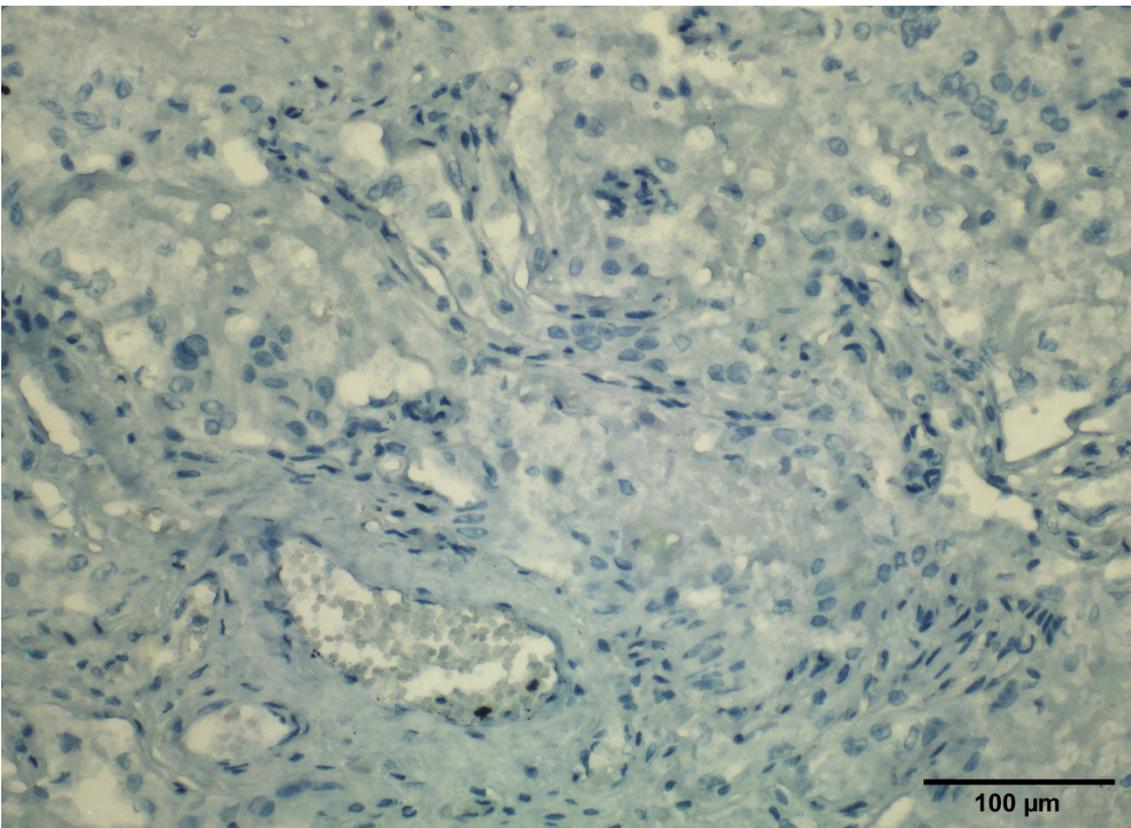


Abb. 90 Placentares Allantochorion, mit Milchprotein inkubierte Negativkontrolle in korrespondierendem Schnitt (E2)

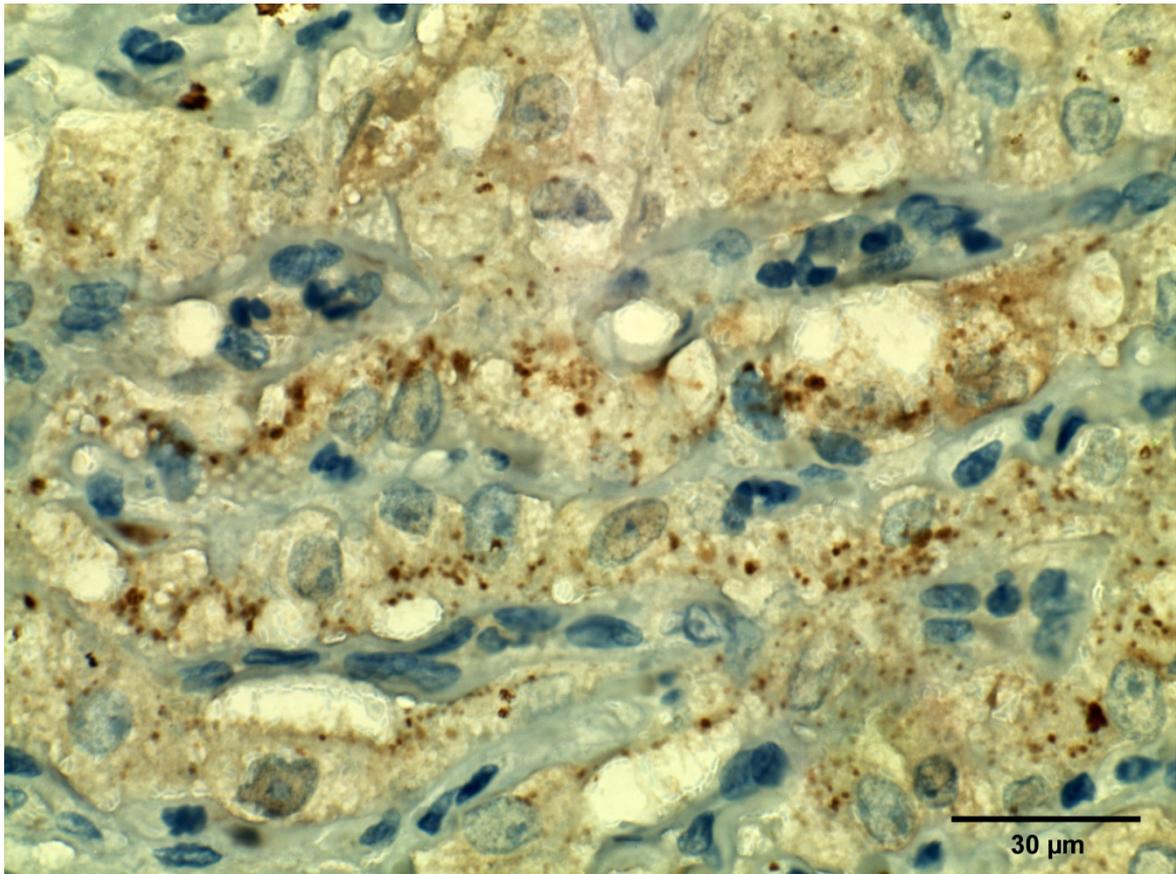


Abb. 91 EVZ, PLAP – Immunhistochemie. Granuläre Reaktionspräzipitate im Zytoplasma der Trophoblastzellen. (E2)

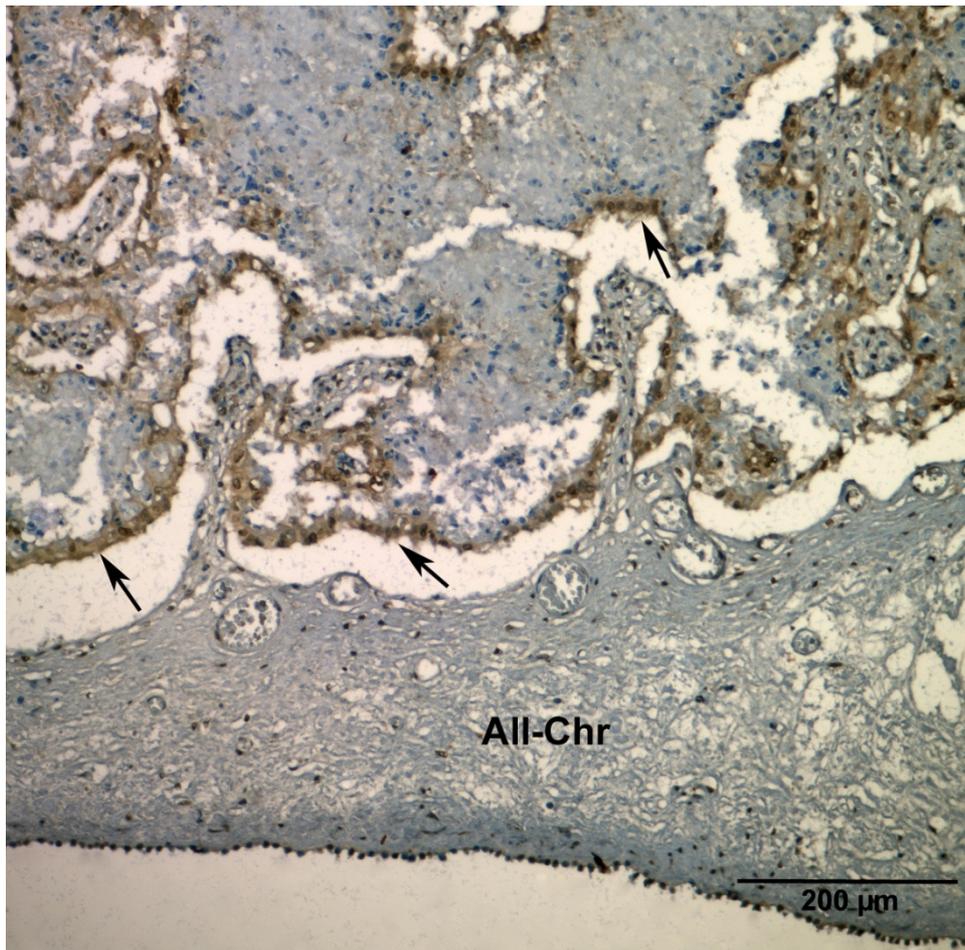


Abb. 92 Paraplazentares Allantochorion, hCG – Immunhistochemie. Die positiven Reaktionspräzipitate in den Trophoblastzellen sind braun angefärbt (Pfeile). (E2)

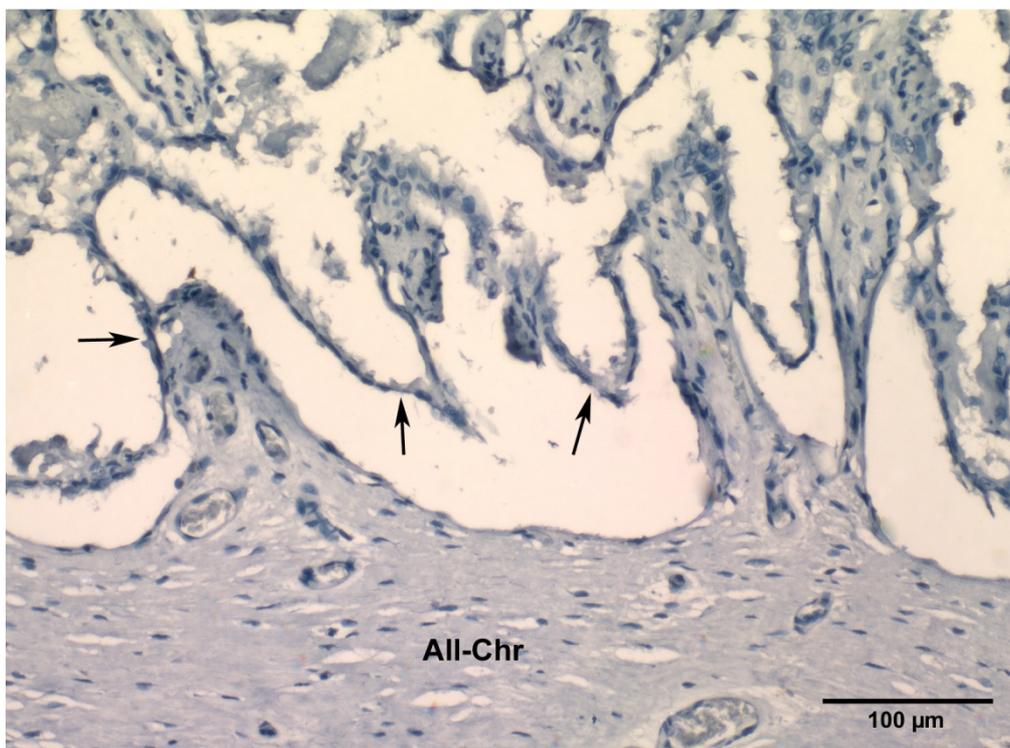


Abb. 93 Paraplazentares Allantochorion, ohne Primärantikörper, mit Milchprotein inkubierte Negativkontrolle im korrespondierenden Schnitt (E2)

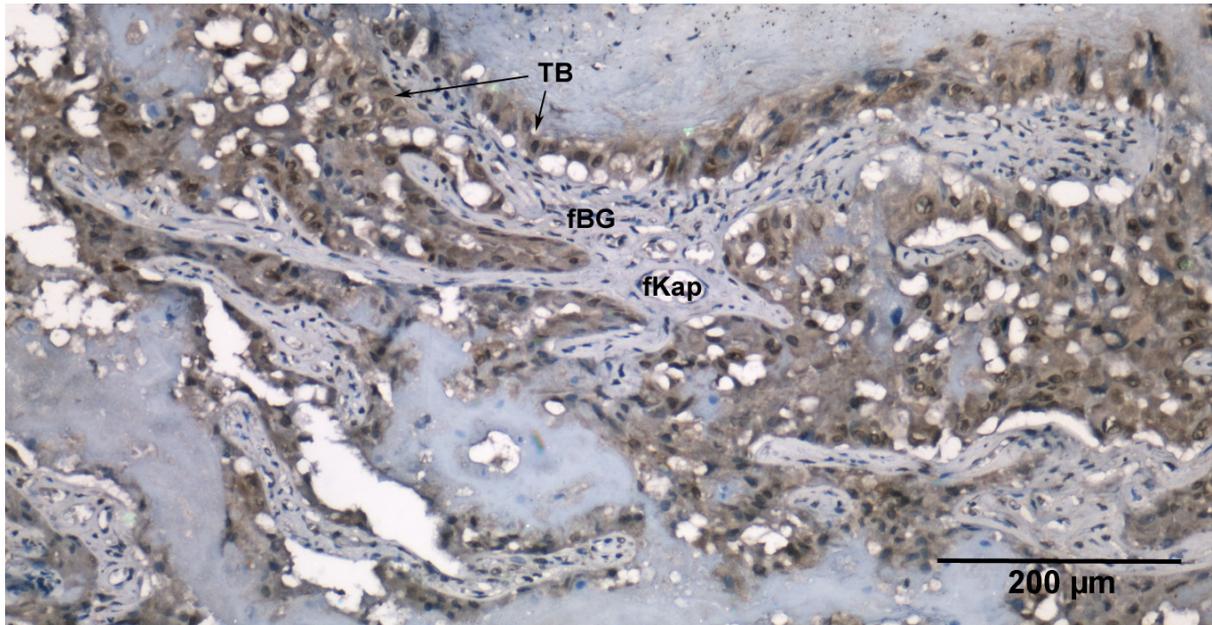


Abb. 94 Plazentares Allantochorion, hCG – Immunhistochemie im Bereich einer fetalen Labyrinthlamelle (BG). Die positiven Reaktionspräzipitate von brauner Färbung liegen im Zytoplasma des Trophoblasten. Eine Farbreaktion ist auch perinukleär sowie nukleär zu erkennen. (E2)

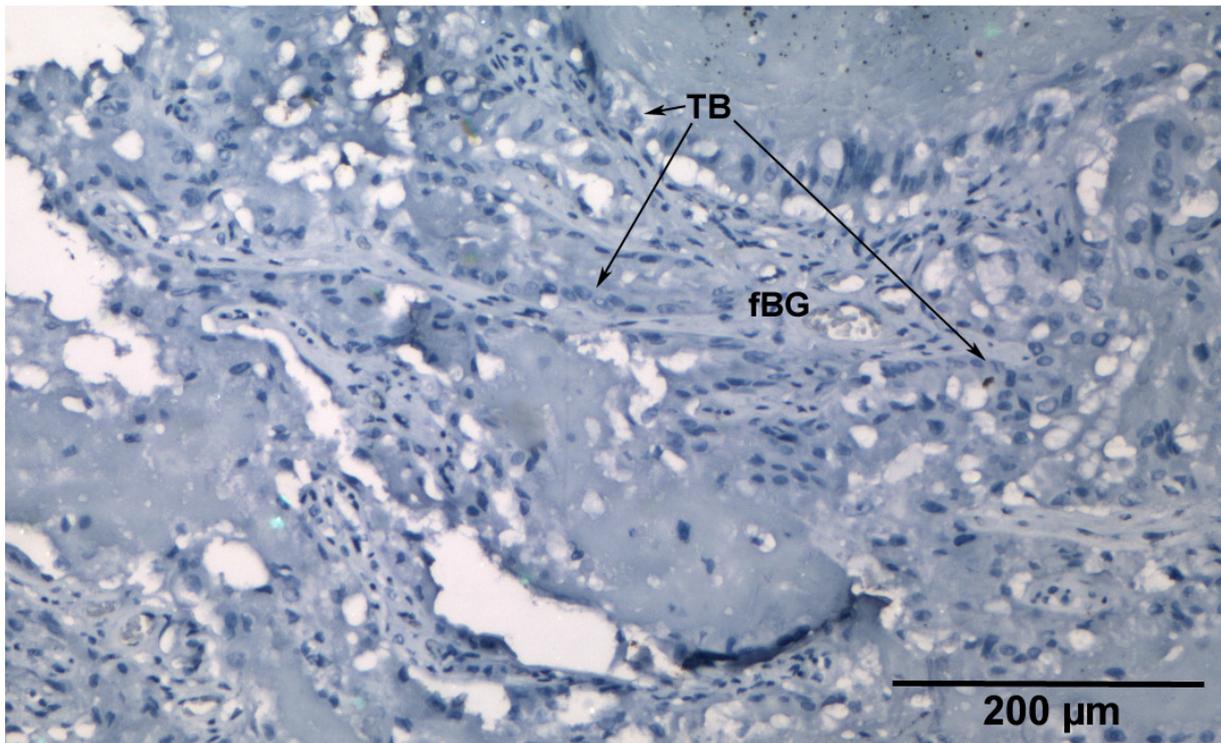


Abb. 95 Plazentares Allantochorion, ohne Primärantigen, mit Milchprotein inkubierte Negativkontrolle im korrespondierenden Schnitt (E2)

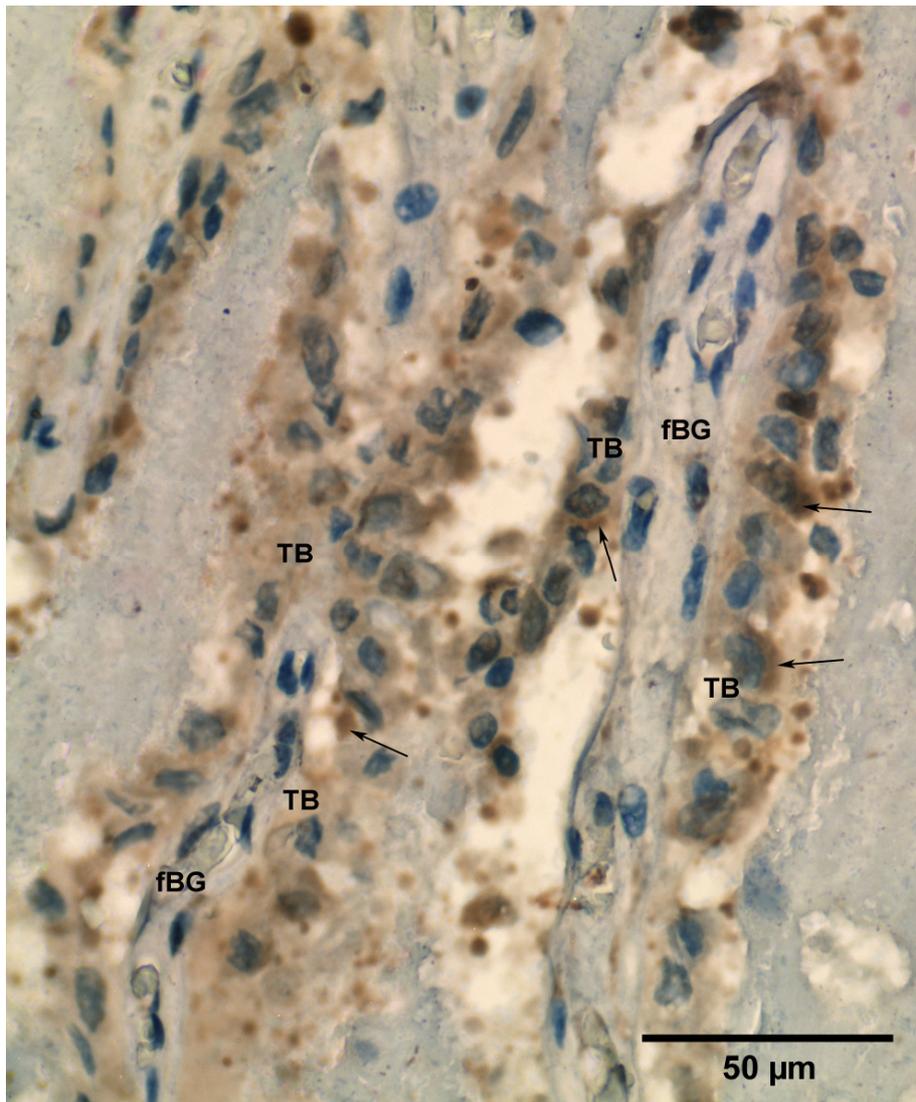


Abb. 96 Plazentares Allantochorion, hCG – Immunhistochemie. Die granulären Reaktionspräzipitate liegen im Zytoplasma der Trophoblastzellen (Pfeile) sowie perinukleär. (E1)

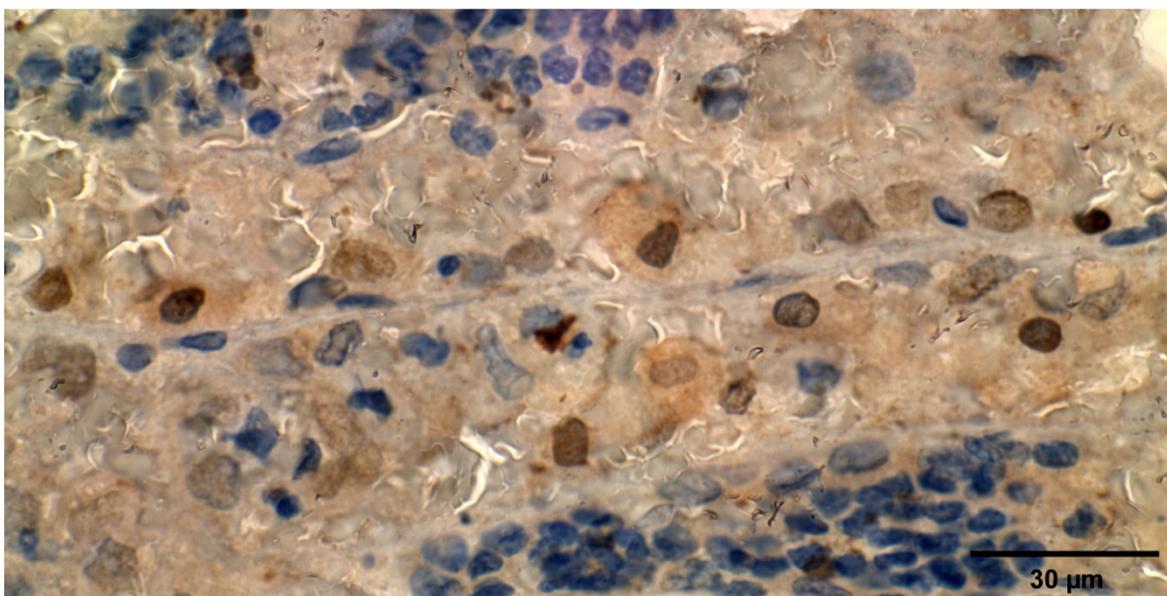


Abb. 97 EVZ, hCG – Immunhistochemie. Positive Farbreaktion sind im Zytoplasma, perinukleär und nukleär dargestellt. (E1)

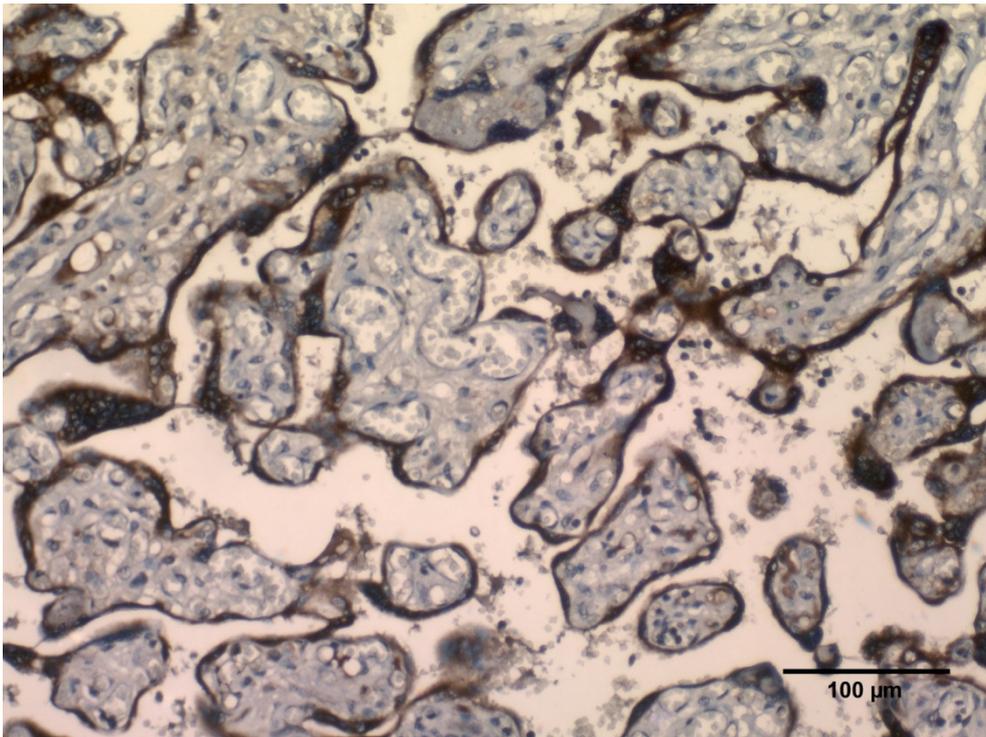


Abb. 98 Positivkontrolle an der humanen Plazentaprobe, hCG – Immunhistochemie. Es ist eine deutliche Farbreaktion im Zytoplasma der Trophoblastzellen zu erkennen.

5 Diskussion

5.1 Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war die makroskopische, licht- und elektronenmikroskopische Charakterisierung der fetalen Fruchthüllen der Plazenta des Asiatischen Elefanten. Hauptziel der Untersuchungen war die vergleichende licht- und rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung der fetalen Fruchthüllen. Des Weiteren wurde eine immunhistochemische Charakterisierung ausgewählter Anteile der fetalen Eihäute vorgenommen. Die Untersuchungsergebnisse bilden eine wesentliche Grundlage für das weitere Verständnis der Struktur-Funktions-Beziehungen und der Morphologie der fetalen Plazenta von *Elephas maximus*.

Erstmals konnten an vier ausgetragenen Plazenten vergleichende Untersuchungsverfahren zur lichtmikroskopischen und ultrastrukturellen Charakterisierung angewendet werden. Für den Asiatischen Elefanten beschrieben COOPER et al. (1964) an zwei und DAVIS u. BENIRSCHKE (1991) an drei ausgetragenen Plazenten die Morphologie basierend auf Ergebnissen lichtmikroskopischer und makroskopischer Untersuchungen.

Transmissionselektronenmikroskopische Ergebnisse und immunhistochemische Befunde wurden für den Afrikanischen Elefanten veröffentlicht (SOMA u. KAWAKAMI 1991, WOODING et al. 2005). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungsbefunde an der Plazenta sowohl des Asiatischen als auch des Afrikanischen Elefanten wurden noch nicht publiziert.

Eine vergleichende Analyse der Plazenten des Asiatischen und des Afrikanischen Elefanten war nicht Ziel der Untersuchungen.

5.2 Kritische Beurteilung des Probenmaterials und der Methoden

Im Europäischen Zuchtbuch für den Asiatischen Elefanten wurden im Zeitraum vom 01.01.2002 bis 31.08. 2007 in Deutschland 14 Geburten verzeichnet (BELTERMAN u. DORRESTEYN 2007). Vier dieser Plazenten standen für die hier beschriebenen und ausgewerteten Untersuchungen zur Verfügung.

Die vier Plazenten der Asiatischen Elefanten wurden nach der physiologischen Geburt eines überlebensfähigen weiblichen oder männlichen Kalbes durch die Mutterkuh selbstständig geboren. Die Elterntiere der geborenen Kälber stammen aus unterschiedlichen zoologischen Einrichtungen und Zuchtgruppen. Bei Geburten von Zoo- und Wildtieren ist das Eingreifen

durch den Menschen ohne medizinische Indikation störend und häufig nicht möglich. Die Entnahme der Nachgeburt während der Geburt oder aus der Stallung sofort nach der Geburt ist daher nicht möglich bzw. aus Gründen des Arbeitsschutzes und des Schutzes von Muttertier und Neugeborenem nicht praktikabel. Die Geburten, die Lagerung der Plazenten sowie die Zeiten bis zur Fixierung waren bis zur definitiven Probengewinnung sehr unterschiedlich. Umweltbedingte Einflüsse auf die Plazenten bis zur Fixierung, wie Temperatur, mechanische Belastungen, Verschmutzungen, müssen daher berücksichtigt werden.

Erstmalig wurden rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie der fetalen Plazenta des Asiatischen Elefanten durchgeführt. Eine vergleichende Betrachtung mit anderen, bereits vorliegenden transelektronenmikroskopischen Ergebnissen zur Ultrastruktur (SOMA u. KAWAKAMI 1991, WOODING et al. 2005) ist insbesondere unter Berücksichtigung der für ultrastrukturelle Untersuchungen suboptimalen Fixationsbedingungen nur bedingt möglich.

Die untersuchten Anteile der Placenta fetalis wiesen in den ausgewählten Regionen weder makroskopische noch wesentliche mikroskopische Unterschiede auf. Die erstmalig durchgeführte vergleichende licht- und ultrastrukturelle REM-Analyse von vier fetalen Plazenten liefert wertvolle Befunde über den Feinaufbau der fetalen Membranen und des plazentaren Gürtels. Die Art und Weise der Probengewinnung limitierte jedoch die ultrastrukturellen Analysen des Gewebes. Eine statistische Auswertung war aufgrund der relativ geringen Anzahl der Plazenten nicht Ziel dieser Arbeit.

Die immunhistochemisch untersuchten Plazentaprobe wiesen im Vergleich zueinander kein unterschiedliches Färbeverhalten auf. Verschieden lange Lagerungszeiten der Gewebeprobe in neutralgepufferten Formalin scheinen die untersuchten antigenen Proteinstrukturen im Hinblick auf das Reaktionsverhalten nicht maßgeblich zu beeinflussen. Immunhistochemische Untersuchungen zum Nachweis bestimmter Proteinstrukturen in der Elefantenzentente wurden bisher nur für den Afrikanischen Elefanten beschrieben (SOMA u. KAWAKAMI 1991, ALLEN et al. 2002, WOODING et al. 2005).

ALLEN et al. (2002) und WOODING et al. (2005) benutzen dabei frische, d.h. unfixiert gefrorene Gewebeprobe. Zum erfolgreichen immunhistochemischen Nachweis von Kalzium-Bindungsprotein und Glukose-Transportproteinen wurden von WOODING et al. (2005) fixierte Gewebeschnitte benutzt. Diese wurden in Bouin`s Fixanz oder einer Lösung aus 1% Glutardialdehyd und 3% Paraformaldehyd fixiert. Aus den Beschreibungen von SOMA u. KAWAKAMI (1991) zum Nachweis von hCG und saurer Phosphatase kann kein

Rückschluss auf die Untersuchungsbedingungen gezogen werden. Der Nachweis auf hCG und saurer Phosphatase verlief in ihren Untersuchungen negativ.

In den eigenen Untersuchungen konnte somit erstmalig gezeigt werden, dass immunhistochemische Untersuchungen an formalinfixiertem Gewebe der Elefantenplazenta grundsätzlich als Testverfahren möglich sind.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Makroskopische Beurteilung der Plazenta des Asiatischen Elefanten

Die vorliegende Arbeit bestätigt zum Teil die in der Literatur gemachten Angaben zum makroskopischen Erscheinungsbild der Plazenta des Asiatischen Elefanten. Es finden sich aber auch zahlreiche Differenzen (COOPER et al. 1964, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991, FLUEGGER et al. 2001). Es konnte gezeigt werden, dass der Asiatische Elefant eine Gürtelplazenta mit braungrün gefärbtem Randsaum ausbildet. Die Plazenta des Asiatischen Elefanten war massig und vollständig gürtelförmig und entspricht den Eigenschaften der Placenta zonaria. Das makroskopische Erscheinungsbild des Plazentargürtels ist – abgesehen von der Größe – vergleichbar mit dem der Canidae und Felidae. Ein Vergleich mit der Plazenta der Ordnung der Seekühe oder der Schleifer ist nur bedingt möglich, da beide Ordnungen keine Randhämatome am vollständigen Plazentargürtel ausbilden (AMOROSO u. PERRY 1964). Der Plazentargürtel des Asiatischen Elefanten wies in keiner der vollständigen Proben eine Unterbrechung auf.

Dieses Ergebnis unterscheidet sich von den von DAVIS u. BENIRSCHKE (1991) und COOPER et al. (1964) gemachten Beobachtungen an zwei bzw. drei untersuchten, ausgetragenen Plazenten, dass der Plazentargürtel in den überwiegenden Fällen unterbrochen bis mehrfach gelappt sei.

DAVIS u. BENIRSCHKE (1991) sagten aus, dass das Gewicht der ausgetragenen Plazenta des Afrikanischen Elefanten generell größer sei als das der asiatischen Elefantenplazenta. Die Autoren beziehen sich hierbei auf die von COOPER et al. (1964) gemachten Angaben zu zwei Proben mit einem Gewicht von 11,3 kg und 11,8 kg. Im Rahmen der eigenen Untersuchungen kann jedoch gezeigt werden, dass das Gewicht der Proben E1 und E2 mit durchschnittlich 19,5 kg fast das Doppelte der in der Literatur angegebenen Werte beträgt. Auch FLUEGGER et al. (2001) beschrieben das Gewicht von acht ausgetragenen Plazenten des Asiatischen Elefanten zwischen 10,0 kg bis 21,5 kg. Für die ausgetragene Plazenta des Afrikanischen Elefanten finden sich Gewichtsangaben von 10,5 kg und 13 kg (SOMA u. KAWAKAMI 1991).

Somit kann die von DAVIS u. BENIRSCHKE (1991) formulierte Behauptung, das Gewicht der ausgetragenen Plazenta des Afrikanischen Elefanten sei generell größer als das der asiatischen Elefantenplazenta, widerlegt werden. Angaben zu Zusammenhängen zwischen Plazentagewicht und Elefantenkalb lassen sich in der Literatur nicht finden und können auch im Rahmen dieser Arbeit nicht gegeben werden.

In den untersuchten Nabelsträngen sind fetalseitig drei Gefäße eingeschlossen, eine V. umbilicalis und zwei Aa. umbilicales. Dies passt zu den Befunden in der Literatur (COOPER et al. 1964, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991). Dagegen werden beim Afrikanischen Elefanten auch vier Gefäße beschrieben, je zwei Nabelarterien und -venen (AMOROSO u. PERRY 1964). Die Fusion der Venae umbilicales findet tierartsspezifisch in unterschiedlichen Bereichen des Nabelstranges statt. Beim Pferd und Schwein vereinigen sie sich im vom Amnion bescheideten Teil des Nabelstranges. Bei anderen Tierarten kommt es erst beim Eintreten in die Leibeshöhle zu einer Fusion (MCGEADY et al. 2006). Für den Elefanten sind diesbezüglich keine Daten veröffentlicht. AMOROSO u. PERRY (1964) beschrieben vier Nabelgefäße an einem 3 kg schweren und 109 cm großen Embryo. Der Unterschied zwischen den eigenen Ergebnissen und denen zum Afrikanischen Elefanten ist mit Sicherheit auf das unterschiedliche Alter der Frucht sowie die Probenlokalisierung zurückzuführen.

Die Differenzierung der inneren Fruchthüllen in Allantois und Amnion ist in den eigenen Untersuchungen nur in einigen Bereichen möglich. Die präpartalen räumlichen Verhältnisse der Membransysteme sind im fixierten, postpartalen Zustand teilweise nicht mehr nachvollziehbar und erschweren eine makroskopische Differenzierung zwischen Amnion und Allantois. Eine Abgrenzung zwischen Amnion und Allantois ist makroskopisch nur bedingt möglich. Eine Beschreibung der Morphologie der Amnionmembran ist in der Literatur nicht zu finden. Die Verbindung zwischen Allantois und Amnion an deren Kontaktstellen zum Allanto - Amnion (AMOROSO u. PERRY 1964) kann nicht ausgeschlossen werden. Somit müssten sich an den Fusionsstellen von Allantois und Amnion Reste von drei Membranen finden. Aufgrund der mehrfach erwähnten Zerreißen der Fruchthüllen unter der Geburt, ist die Differenzierung eines möglichen Allanto - Amnion nicht eindeutig möglich.

An den untersuchten Plazenten wurde gezeigt, dass die Allantois des Asiatischen Elefanten gekammert ist. In der Literatur wird die Allantois des Afrikanischen Elefanten als vaskularisierte Membran beschrieben, die sich in vier Kammern unterteilt (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, SOMA u. KAWAKAMI 1991, ALLEN et al. 2002, ALLEN et al. 2003b). Die Topographie der Allantoisblase ist mit hoher Wahrscheinlichkeit innerhalb der zwei Arten vergleichbar. Für den Afrikanischen Elefanten ist die Entstehung der vier

Kammern der Allantoisblase umfassend beschrieben (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, ALLEN et al. 2002, ALLEN et al. 2003b). Es ist davon auszugehen, dass auch beim Asiatischen Elefanten ein Ummanteln der Nabelgefäße durch die sich bildende Allantois zu einer quadrilokularen Fruchtblase führt. Die eigenen Untersuchungen zur Topographie der Fruchthüllen des Asiatischen Elefanten widerlegen die Hypothese, einer fehlenden Allantoisblase bedingt durch das Verschmelzen von Amnion, Allantois und Chorion (CHAPMAN 1880, ASSHETON u. STEVENS 1905).

ASSHETON u. STEVENS (1905) beschreiben nicht die Vollständigkeit der von ihnen untersuchten Plazenta. Für die mikroskopischen Untersuchungen standen ihnen nur einige kleine Stücke einer ausgetragenen Plazenta zur Verfügung. Daher sind ihre Aussagen zur Gestalt und Ausbildung der Allantoisblase kritisch zu beurteilen.

Die Übertragbarkeit der Topographie der Allantoisbildung beim Afrikanischen Elefanten auf den Asiatischen Elefanten gilt als sehr wahrscheinlich. Um diese Vermutung zu beweisen sind Studien in Anlehnung an die Untersuchungen von ALLEN et al. (2003b) nötig.

An den von mir untersuchten Proben waren die Topographieverhältnisse der Amnion- und der Allantoismembranen aufgrund der geburtsbedingten Zerreißen stark verändert. Unter Berücksichtigung makroskopisch unterschiedlicher Gewebestruktur wurden beide Membranen differenziert. Bei Hund und Katze reißt die Amnionblase nicht unter der Geburt. Die Fruchthülle wird aktiv durch das Belecken des Muttertieres entfernt. (ARNOLD 2000). An der Nachgeburt der fetalen Plazenta ist bei diesen Tieren somit keine Amnionmembran mehr zu finden. Ein ähnlicher Geburtsablauf beim Elefanten könnte ein mögliches Fehlen der Amnionmembran an der ausgetragenen Plazenta des Elefanten begründen.

Das makroskopische Erscheinungsbild der Allantoisbildungen erinnert sehr stark an Narbenbildung der äußeren Haut unter Bildung von Narbenkeloid. Der Begriff Pustel wird in der Dermatologie und Pathologie in einer festgeschriebenen Definition benutzt und bezeichnet einen kleinen, erhabenen, gut umschriebenen, mit Eiter gefüllten Hohlraum der Haut oder der Kornea (BLOOD u. STUDDERT 1999). In dieser Studie wird deshalb der Begriff „narbenzugähnliche Bildungen“ anstelle „Allantois Pusteln“ verwendet. Die Befunde zur Morphologie der narbenzugähnlichen Verdickungen auf dem Allantochorion stimmen mit den Beschreibungen der in der Literatur als „allantoic bodies“ bezeichneten (AMOROSO u. PERRY 1964, SOMA u. KAWAKAMI 1991), allantoidalen Bildungen überein. Die eigenen Untersuchungen konnten zeigen, dass die Allantoisbildungen diffus auf dem Allantochorion verteilt sind, und nicht wie von AMOROSO u. PERRY (1964) beschrieben, vor allem unterhalb des Plazentagürtels und entlang der Gefäße am Allantochorion zu finden sind. Diese

Diskrepanz ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass in der vorliegenden Studie ausgetragene Plazenten von *Elephas maximus* untersucht wurden; in den Untersuchungen von AMOROSO u. PERRY (1964) dagegen Plazenten unterschiedlicher Entwicklungsstadien von *Loxodonta africana*.

Das Vorkommen zottiger chorion-maternaler Kontaktstellen auf den Enden des Chorionsackes (OWEN 1857, TURNER 1876, CHAPMAN 1880, ASSHETON u. STEVENS 1905, MOSSMAN 1937, MOSSMANN 1987) kann in der vorliegenden Untersuchung makroskopisch nicht bestätigt werden.

5.3.2 Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung der inneren Fruchthüllen

Erstmals wurden vergleichende Untersuchungen der inneren Fruchthüllen auf lichtmikroskopischer und vorwiegend rastererelektronenmikroskopischer Ebene durchgeführt. Eine Differenzierung der Membranen von Allantois und Amnion wurde aufgrund der noch vorhandenen Topographie und der strukturellen Unterschiede vorgenommen. Die ausführlichste Beschreibung der Allantois des Elefanten findet sich bei AMOROSO u. PERRY (1964). Die Autoren gehen auf die Entwicklung und makroskopische Beschaffenheit der Allantois ein. Beschreibungen histologischer Charakteristika finden sich lediglich in Bezug auf in der Literatur als „Allantois Pusteln“ bezeichneten Bildungen (TURNER 1876, ASSHETON u. STEVENS 1905, AMOROSO u. PERRY 1964).

Im histologischen Schnitt erscheinen die narbenzugähnlichen Bildungen der Allantois als kollagene Bindegewebskissen, ohne einen Anteil an elastischen Fasern und Muskelzellen. Gefäße sind nur basal, d.h. chorionseitig zu finden. Für die von AMOROSO und PERRY (1964) als Amnion Pusteln bezeichneten Zubildungen berichten die Autoren von einem proliferierten Epithel vergrößerter und vakuolisierter Epithelzellen. Diese Epithelbereiche unterschieden sich deutlich von den übrigen.

In den von mir untersuchten Proben stellten sich die narbenzugähnlichen Bildungen epithellos mit diskontinuierlicher Basalmembran dar. Mechanische Einwirkungen während der Trächtigkeit, unter der Geburt oder bei der Probengewinnung und Präparation könnten zu dem Verlust des Epithels im Bereich der epithellosen Allantoisbildungen geführt haben. In Anlehnung an die Befunde von AMOROSO und PERRY (1964) für die Amnion Pusteln ist auch ein entwicklungs- und proliferationsbedingter Epithelverlust denkbar.

Die Möglichkeit der Entstehung der narbenzugähnlichen Bildungen aus der Adventitia der placentaren Gefäße, wie von AMOROSO u. PERRY (1964) postuliert, ist aufgrund der diffusen Anordnung, ohne erkennbares Verteilungsmuster nicht sehr wahrscheinlich. Dagegen spricht außerdem, dass die Gefäße und deren Wände im basalen Bereich der

Allantoisbildungen regelrecht aufgebaut sind. Eine übermäßige lokale Produktion kollagener Fasern durch mesodermale Fibrozyten (AMOROSO u. PERRY 1964) ist ein möglicher Erklärungsversuch. Die Funktion dieser Allantois Bildungen ist bisher ungeklärt. Eine Analogie dieser Strukturen mit denen beim Pferd als Hippomanes bezeichneten Bildungen (TURNER 1876) ist nicht vollständig ausgeschlossen. Hippomanes sind jedoch meist gestielt an der inneren Allantois oder als große freie Gebilde in der Allantoisblase lokalisiert. Eine Erhöhung der Stabilität der Allantoismembran des Allantochorions, in Form von proliferativen Reaktionen des Bindegewebes auf übermäßige, lokale, mechanische Reize durch den Fetus ist als Möglichkeit in Betracht zu ziehen.

Eine Analogie der beschriebenen narbenzugähnlichen Bildungen mit „Amniotic Plaques“ (AMOROSO 1952, AMOROSO u. PERRY 1964, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991) ist auszuschließen. Zum einen konnten an als Amnion angesprochenen Membranen makroskopisch keine derartigen Strukturen nachgewiesen werden. Zum anderen entspricht der mikroskopische Aufbau der narbenzugähnlichen Bildungen nicht dem der von SINHA et al. (2005) beschriebenen Amniotic Plaques. Die Autoren beschrieben die „Amniotic Plaques“ des Weißwedelhirsches, als zwischen 2 bis 4 mm große, aus bis zu 15 Zelllagen bestehende Strukturen. Im basalen Bereich der Plaques sind Mitosen der Epithelzellen nachvollziehbar. Mikroskopisch wurden die Amnionbildungen mit dem histologischen Erscheinungsbild der äußeren Haut verglichen. Die Autoren betonen, dass die „Amniotic Plaques“ des Weißwedelhirsches sich deutlich von der „Allantochorionpusteln“ des Afrikanischen Elefanten (AMOROSO u. PERRY 1964) unterscheiden. Diese Aussagen werden als Bestätigung der eigenen Schlussfolgerungen angesehen.

Das Allantois- und Amnionepithel ist einheitlich einschichtig und ein iso- bis hochprismatisches Epithel. Das Allantoisepithel im Bereich des Allantochorion erscheint dagegen meist hochprismatisch. Die Epithelzellen beider Membranen zeigen zytoplasmatische Zellausstülpungen. In einigen der Zellprotrusionen der Allantoisepithelzellen sind Zellkerne eingeschlossen. Dies wurde jedoch am Amnion nicht gefunden.

Am Amnionepithel sind die Protrusionen rein zytoplasmatisch und stellen sich rasterelektronenmikroskopisch als blindsackartige Vorwölbungen ohne Oberflächenmodifikationen dar. Blindsackartige Vorwölbungen konnten auch am Allantoisepithel im Bereich des Allantochorions dokumentiert werden. Die im TEM und REM erstmalig nachgewiesenen morphologischen Korrelate, die auf einen möglichen transzellulären Transportweg hindeuten, sowie die Zelloberflächenmodifikationen sind sehr hinweisend für

die Beteiligung der Amnion- und Allantoisepithelzellen an Stoffwechselprozessen innerhalb der Elefantenplazenta. Zytoplasmaausstülpungen der Epithelzellen stehen mit hoher Wahrscheinlichkeit mit Sekretionsvorgängen in Verbindung. Die Protrusionen ohne darin liegenden Zellkern stehen sehr wahrscheinlich mit apokriner Sekretion der Epithelzellen und Beteiligung an der Produktion der Amnion- oder Allantoisflüssigkeit in Zusammenhang. Freie blindsackartige Amnionepithelzellausstülpungen und deren rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesenen Ablösungsränder sind als Nachweis für Sekretionsprozesse mit partiellem Zytoplasmaverlust anzusehen.

Zytoplasmaausstülpungen mit Zellkern können möglicherweise in Verbindung mit selektiven Regenerationsprozessen des Epithels gesehen werden. Es könnten auch holokrine Sekretionsvorgänge einzelner Epithelzellen ursächlich an den Zytoplasmaprotrusionen beteiligt sein. Dafür spricht das Auftreten kernloser Zellreste, bei denen die Protrusion am Stiel abgelöst ist. Das Entstehen dieses Zustandes aufgrund mechanischer Beanspruchung des Gewebes unter der Geburt, während der Präparation, ist in Betracht zu ziehen. Gegen Zellregeneration als Begründung der Zellausstülpungen spricht der in den Protrusionen stets unverändert vorliegende Zellkern. Rasterelektronenmikroskopisch vergleichbare Strukturen sind für die Epithelzellen der Drüsenkammern der Hundep plazenta im zweiten Trächtigkeitsdrittel beschrieben (GRETHER et al. 1998). Funktionell deuten die Autoren die Protrusionen als apokrine Sekretionsvesikel. Abschnürungen von Zellkernen wurden in der Studie von GRETHER et al. (1998) nicht beschrieben. Dagegen zeigten die Autoren das gemeinsame Auftreten von apokriner und merokriner Sekretion an einer Epithelzelle. Für das Amnion und die Allantois des Asiatischen Elefanten werden aufgrund eigener mikroskopischer Analysen apokrine sowie holokrine Sekretionsprozesse postuliert.

Die Ausbildung eines Allantoamnions in bestimmten Bereichen der fetalen Plazenta konnte nicht bewiesen werden, ist aber nicht auszuschließen. Wenn das Amnion sich mit der Allantois an gemeinsamen Kontaktstellen verbindet und die Epithelien beider Membranen morphologisch different sind, wäre das daraus resultierende Ergebnis eine Membran mit unterschiedlichem Epithel auf jeder Seite.

In den eigenen Untersuchungen ist das Epithel der freien Membranen auf beiden Seiten identisch, was gegen die oben genannte Hypothese spricht. In den eigenen licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde für beide Epithelien eine ähnlichen Charakteristik beschrieben: einschichtig, iso- bis hochprismatisch, Zytoplasmaprotrusionen. Bei den untersuchten inneren Fruchthüllen konnte zwischen den beiden Epithellagen lockeres Bindegewebe gesehen werden. Im Zentrum der Membran waren größere Arteriolen und

Venolen eingebettet. In diesen Bereichen konnte sehr häufig eine Divergenz des benachbarten Gewebes gesehen werden, ohne dass das subepitheliale Bindegewebe und das Epithel artifiziell verändert waren. Mechanische Zerreißungsprozesse erscheinen daher als mögliche Ursache sehr unwahrscheinlich. Die Verschmelzung beider Eihäute zum Allantoamnion und die daraus resultierende lockere Gewebestruktur im Bereich der ehemaligen Kontaktzone beider Epithelien ist aufgrund der lichtmikroskopischen Befunde möglich.

AMOROSO u. PERRY (1964) beschreiben die Allantoiskammerwände als Allantoisdoppel-lamellen, die durch das Einstülpen der Umbilikalgefäße entstehen. Diese Aussagen bekräftigen den als sicher anzusehenden Befund, dass in den vorliegenden Proben der Hauptanteil der freien Membranen als freie Allantoissepten angesprochen werden müssen. Die Unterschiede in der Zellmorphologie sind mit großer Sicherheit auf Unterschiede der Epithelzellen in ihrer Funktion, wie Resorption und Sekretion, zurückzuführen. In der vorliegenden Studie beschriebene zottenartige Gebilde am Allantoisepithel dienen möglicherweise der Oberflächenvergrößerung und somit einer verstärkten Stoffwechsellleistung des Epithels. Für diese Vermutung sprechen die zahlreichen subepithelialen Kapillaren.

5.3.3 Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung des paraplazentaren Allantochorions

Alle für die Lichtmikroskopie an verschiedenen Lokalisationen des extraplazentaren Allantochorion entnommenen Proben weisen Zotten unterschiedlicher Morphologie auf. Die Zottendichte ist in den samtartigen Bereichen höher verglichen mit den eihautartigen Arealen. Ein spezifisches Verteilungsmuster der Zotten oder der Zottenmorphologie wurde nicht gefunden.

Dieser Befund steht im Gegensatz zu fast allen Angaben für den Afrikanischen Elefanten, für den die paraplazentare Zone als vollständig zottenfrei charakterisiert ist und auch im Gegensatz zu den Angaben zum Asiatischen Elefanten, für den nur Zotten an den Sackenden beschrieben werden (OWEN 1857, ASSHETON u. STEVENS 1905, AMOROSO u. PERRY 1964). Einzig LUDWIG u. BAUER (1967) beschreiben die paraplazentare Zone der nicht geburtsreifen Plazenta des Afrikanischen Elefanten als von kurzen stummelförmigen Zotten gebildete Membran. Die Chorionzotten sind häufig in amorphes Material eingebettet, das als Geburtsdetritus angesehen werden muss. Sie besitzen ein bindegewebiges Zentrum mit Blutgefäßen. Die Kapillaren drängen sich an das Epithel, das dort abgeflacht erscheint. In einigen Bereichen finden sich auch Kapillaren im Epithelverband. Beide Mechanismen führen zu einer Reduktion der Diffusionsstrecke zwischen fetalen Gefäßen und der Uteruswand bzw.

maternalen Blutgefäßen. Eine Verschmälerung der Schichten muss als Erleichterung von Stoffwechsel- und Stoffaustauschvorgängen interpretiert werden.

Für die Placenta diffusa incompleta des Schweins ist eine morphologisch - strukturelle Optimierung der Absorptionsbedingungen beschrieben (FRIESS et al. 1980, LEISER u. DANTZER 1988). Intraepitheliale Kapillaren sind für die epitheliochoriale Placenta diffusa des Alpaca „Lama pacos“ am Ende der Trächtigkeit in Zusammenhang mit erhöhtem Stoffaustausch beschrieben worden (OLIVERA et al. 2003a, OLIVERA et al. 2003b). Die Autoren führen diese morphologischen Veränderungen auf den erhöhten Sauerstoffbedarf des Fetus unter Lebensbedingungen in extremen Höhen zurück.

Es ist davon auszugehen, dass auch im Bereich des paraplazentaren Allantochorions des Asiatischen Elefanten ein histiotropher Stoffaustausch zwischen maternalem und fetalem Blut stattfindet. Die Bedeutung und der Anteil an der Versorgung des Elefantenfetus bleiben ungeklärt.

Ultrastrukturell können Modifikationen der Oberfläche des kontinuierlich als Zytotrophoblast ausgebildeten Epithels nachgewiesen werden. Mikrovilli, Mikroplicae und einfache Zytoplasmaausstülpungen sprechen für die aktive Resorptionsfähigkeit der Zellen. In weiten Bereichen des paraplazentaren Allantochorions ist rasterelektronenmikroskopisch eine gyrus- bis plattenartig strukturierte Oberfläche zu erkennen. In diesen Bereichen ist das Epithel fast vollständig abgelöst und die dargestellten Oberflächen sind als subepitheliale Basallamina, mit unterlagertem Bindegewebe anzusprechen. Während der Geburt kommt es zu einer Lösung des Trophoblastepithels von der Uterusschleimhaut. Da geburtsnah eine Verbindung zwischen Plazenta- und Uterusepithel besteht, kann die Ablösung des Epithels vom Untergrund geburtsbedingt sein. Eine präparationsbedingte Zerstörung des Chorionepithels ist ebenfalls nicht unwahrscheinlich.

Die Abschnitte des Trophoblasten, die von einem Bürstensaum bedeckt werden, bezeichnet LUDWIG (1968) als „enteroide Stellen“. Dagegen zeichnen sich Regionen mit Epithelplatten durch Diffusionsstoffwechsel aus und werden als „nephropneumoide Regionen“ bezeichnet. Die Paraplazenta des Asiatischen Elefanten ist aufgrund der Oberflächenmorphologie ihres Epithels (Mikroplicae, Mikrovilli, intraepitheliale Kapillaren) mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit als ein aktiv resorbierendes „enteroides Epithel“ zu definieren. Für den Hund sind ebenfalls Oberflächenmodifikationen der Trophoblastzellen in der Freipolarzone beschrieben. Man geht von einer Beteiligung dieser Region am Stoffwechsel der Plazenta bei Hund und Katze aus (LEISER u. ENDERS 1980a, LEISER u. ENDERS 1980b, STOFFEL et al. 1998).

Weitere Hinweise auf aktive Stoffwechselbeteiligung des Chorionepithels des Asiatischen Elefanten im extraplazentaren Bereich sind die zahlreichen zytoplasmatischen Einschlüsse, die von der Zelloberfläche bis an die Basalmembran nachvollziehbar sind, wie auch die Vesikelbildung am endoplasmatischen Retikulum. Die transelektronenmikroskopisch nachweisbaren Spalträume zwischen den Trophoblastzellen, lassen interzelluläre Transportvorgänge sehr wahrscheinlich erscheinen. Degenerative Gewebsveränderungen und Präparationsartefakte sind nicht auszuschließen.

Es ist daher möglich, dass die geschilderten Befunde nicht den morphologisch physiologischen Charakter der untersuchten plazentaren Strukturen widerspiegeln. Aufgrund der Befunde der vorliegenden Studie muss dennoch eine Beteiligung des extraplazentaren Allantochorion am Stoffaustausch während der Trächtigkeit als sehr wahrscheinlich angesehen werden. Die Diskrepanz der eigenen Untersuchungen mit den Ergebnissen von AMOROSO u. PERRY (1964) ließe sich mit den verschiedenen Reifegraden der Plazenten erklären. Während in der frühen Trächtigkeit der Nährstoffbedarf durch den Stoffaustausch im Plazentagürtel gedeckt werden kann, kommt es womöglich zum Ende der Trächtigkeit aufgrund des erhöhten Nährstoffbedarfs zur Nutzung aller stoffwechselfähigen Oberflächen.

Die plaqueartigen Auflagerungen auf dem Chorion wurden in der vorliegenden Studie erstmalig beschrieben. Sie sind vergleichbar mit den als „Amniotische Plaques“ bezeichneten Plattenepithelinseln an der inneren Amnionauskleidung (SINHA et al. 2005). Sie finden sich bei anderen Spezies, ohne die Gravidität oder Geburt zu beeinflussen (BAUTZMANN u. SCHRÖDER R. 1955, WOODING u. FLINT 1994, SINHA et al. 2005). Sie wurden auch für den Weißwedelhirsch (SINHA et al. 2005) beschrieben. Aussagen über die Physiologie oder Pathologie dieser keratinisiert erscheinenden Herde können nicht getroffen werden. Ihre Funktion ist unbekannt.

5.3.4 Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung des plazentaren Allantochorions

Der Plazentargürtel ist deutlich in zwei Schichten unterteilt. Aufgrund didaktischer Überlegungen und funktioneller Gesichtspunkte wurde der den Gürtel flankierende Randsaum (EVZ) als Region separat beschrieben. Dabei handelt es sich um eine willkürliche Einteilung. Der Randsaum ist morphologisch und funktionell ein Teilstück des plazentaren Allantochorions. Somit besteht der Plazentargürtel aus drei Zonen:

Die maternal orientierte (distale) Zone des aufgelockerten Plazentarlabrynth,

Die fetal orientierte (proximale) Zone des stark verdichteten Plazentarlabrynth,

Die Extravasatzone (EVZ), deren Befunde unter 5.3.5 diskutiert werden.

Die Zone I nimmt das distale Drittel des Plazentargürtels ein und tritt mit der Uterusschleimhaut in Verbindung. Chorionzotten, die aus Plazentalamellen hervorgehen stellen eine innige Verbindung zwischen Placenta fetalis und Placenta maternalis her. Im Vergleich mit den Plazentalamellen zeigen die Zotten einen geringeren Verzweigungsgrad. Dies ist möglicherweise mit einem verstärkten Längenwachstum der distalen Labyrinthlamelle während der Plazentaentwicklung zu begründen (ALLEN et al. 2003b). Zwischen den Lamellen sind große Mengen an Plasmainsudationen mit zellulären Bestandteilen eingeschlossen.

Diese Befunde stimmen zum Teil mit den Beschreibungen durch AMOROSO u. PERRY (1964) überein. Die Autoren beschreiben für den Bereich des Grenzzytotrophoblasten relativ viele mütterliche Blutlakunen, die von dem Lamellensystem eingeschlossen werden. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die aufgelockerte Labyrinthstruktur des maternal orientierten Gürtelbereiches nicht durch Einblutungen oder Transsudationsvorgänge unter der Geburt entsteht, sondern ein schon präpartales Charakteristikum darstellt. Eine funktionelle Bedeutung der Plasmainsudationen oder Blutleckagen wird in der Literatur nicht eindeutig beschrieben.

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen bleibt ein strukturell–funktioneller Zusammenhang weitgehend offen. Es ist wahrscheinlich, dass das Material vom Trophoblast aufgenommen und dem Plazentarstoffwechsel zugeführt wird. Eine Analogie mit der Funktion der Extravasatzone ist möglich.

Die Lamellen und Gefäße im fetalen Bindegewebe schließen, wie auch im extraplazentaren Allantochorion, keine elastischen Fasern ein. Dagegen besitzen zwischen den Lamellen gelegene, größere Gefäße elastische Faseranteile in ihrer Wand und sind in allen Schichten des Plazentargürtels zu finden. Es handelt sich bei diesen Gefäßen mit Sicherheit um maternale Gefäße. Nach den Angaben von ALLEN et al.(2003b), findet zu keiner Zeit eine maternale zelluläre Immunreaktion auf den Trophoblasten statt. In eigenen Untersuchungen wurden lokale Lymphozytenansammlungen in maternalen Gefäßen gefunden. In der oben genannten Publikation beschrieben ALLEN et al.(2003b) Plazenten von getöteten Elefanten. In der vorliegenden Arbeit wurden dagegen ausgetragene, geburtsreife Plazenten untersucht. Lymphozytenansammlungen in der ausgetragenen Plazenta sind mit Sicherheit geburtsbedingt vorhanden. Eine pathologische Immunreaktion ist unwahrscheinlich.

Die Zone II nimmt die fetal orientierten, der Allantois zugewandten zwei Drittel des Plazentargürtels ein. Hier gehen die Plasmainsudationen vollständig verloren und die Labyrinthlamellen liegen den maternalen Gefäßen direkt an. Die Unterteilung des

Plazentalabyrinth wird mit der Darstellung der Basallaminae noch deutlicher. Während im apikalen Drittel die Morphologie der Basalmembranen der fetalen wie maternalen Gefäße einheitlich ist, kommt es in den basalen zwei Dritteln zur unregelmäßigen Verdickung der maternalen Basalmembranen. Ursächlich hierfür ist der erosive oder digestive Charakter des Chorionepithels (WISLOCKI u. AMOROSO 1956, AMOROSO u. PERRY 1964). Während der Trophoblast die Kollagenfasern der Basallamina angreift und deren Integrität verloren geht, werden durch die maternalen Endothelzellen kontinuierlich neue Basalmembrankollagene nachgebildet. Verdickte Basalmembranen der maternalen Gefäße werden auch in der Plazenta der Fleischfresser beobachtet und als „intermediate Membrane“ oder „Zwischenmembran“ bezeichnet (WOODING u. FLINT 1994, ALLEN et al. 2003b).

Lichtmikroskopisch, wie auch ultrastrukturell, ist der Trophoblast im gesamten Chorion als Zytotrophoblast ausgebildet. Zwar scheinen die Zellgrenzen transelektronenmikroskopisch im basalen Teil nicht kontinuierlich nachvollziehbar, jedoch sind reproduzierbar Zellmembrandoppellamellen und Zell-Zell-Kontakte, vorwiegend Desmosomen, nachweisbar. Ein partieller Verlust von Zellmembranen ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit bedingt durch die Verhältnisse unter der Geburt, die Präparation und die anschließende technische Bearbeitung der Proben.

Die Ausbildung eines Synzytiotrophoblasten beim Asiatischen Elefanten wie von AMOROSO u. PERRY (1964) beschrieben, kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die eigenen Untersuchungen in diesem wesentlichen Punkt bestätigen die Befunde neuerer Literaturangaben beim Afrikanischen Elefanten (SOMA u. KAWAKAMI 1991, ALLEN et al. 2003b, WOODING et al. 2005). Interzellularräume zwischen den Trophoblastzellen dienen dem Stofftransport oder sind artifiziell entstanden. Für eine erhöhte Stoffwechselaktivität der Trophoblastzellen spricht auch das lokal zu Zisternen erweiterte endoplasmatische Retikulum (ROHEN u. LÜTJEN-DRECOLL 1990), das als glattes endoplasmatisches Retikulum angesprochen werden muss. Auch hier ist eine artifiziell entstandene Strukturänderung der Trophoblastzelle nicht auszuschließen.

Die eigenen Analysen zeigen, dass sich der Zytotrophoblast dicht an maternale Gefäße anlagert und zum Teil lokal in deren Basalmembran vordringt. Die Trophoblastzellen sind isoprismatisch bis abgeflacht. Fetale Kapillaren lagern sich auf der basalen Seite dicht an die Trophoblastzellen, und drängen in einigen Bereichen zwischen das Epithel. Fetale und maternale Gefäße kommen so in engen Kontakt miteinander. Intraepitheliale Kapillaren sind ein auffallendes Merkmal in der geburtsreifen Plazenta des Elefanten (AMOROSO u. PERRY 1964). Ein direkter Kontakt zwischen fetalen und maternalen Kapillaren konnte nicht

nachgewiesen werden. Eigene Untersuchungen zeigen, dass zwischen fetalen und maternalen Gefäßen stets ein schmaler Zytoplasmasaum des Trophoblasten erhalten bleibt. Die Grenzstrukturen der Plazentarschranke einer endotheliochorialen Plazenta bleiben in allen untersuchten Regionen erhalten. Verdickte Basalmembranen maternaler Gefäße können von fingerförmigen Zytoplasmafortsätzen der Trophoblastzellen unterbrochen werden. Diese Befunde decken sich mit denen von WOODING et al. (2005) für den Afrikanischen Elefanten. Die verkleinerte Diffusionsstrecke von ca. 1 - 2 µm verbessert die Stoffaustauschbedingungen zwischen fetalem und maternalem Blut.

Die Plazenta des Asiatischen Elefanten kann auf Grundlage der eigenen Untersuchungen und in Übereinstimmung mit den meisten Literaturangaben als Placenta endotheliochorialis definiert werden.

5.3.5 Lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Beurteilung der Extravasatzone (EVZ)

Labyrinthlamellen des zentralen Gürtelbereiches gehen kontinuierlich in das Lamellensystem der EVZ über. Der Zytotrophoblast ist als ein iso- bis hochprismatisches Epithel ausgebildet. ALLEN et al. (2003b) beschreiben einen hochprismatischen Zytotrophoblasten in diesem Bereich. Eine gewisse Diskrepanz ist möglicherweise mit der unterschiedlichen Reife der Plazenten und der damit verbundenen unterschiedlichen Stoffwechselaktivität des Trophoblasten zu begründen. Auch der Übergang in das extraplazentare Allantochorion ist fließend. Verfärbungen im Bindegewebe der Lamellen sind in der Literatur beschrieben (ASSHETON u. STEVENS 1905).

Ein Zusammenhang der Verfärbungen mit Leukozyten wie von ASSHETON u. STEVENS (1905) angenommen, konnte in den eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Die spezifische Zusammensetzung der Ablagerungen wurde von den Autoren nicht untersucht. Nach BENIRSCHKE (2008), COOPER et al. (1964), WOODING et al. (2005) ist eisenhaltiges Pigment als Ursache der Verfärbungen sehr wahrscheinlich. Dies würde den in der eigenen Untersuchung dargestellten, in der HE-Färbung grünbraunen, intrazytoplasmatischen Ablagerungen der Trophoblastzellen entsprechen. Zwischen den Labyrinthlamellen konnten Plasmainsudationen und Blutansammlungen in größerem Umfang dargestellt werden. Im lichtmikroskopischen Bild erscheinen die Plasmainsudationen als eosinophile, fibrinoide Masse. Dies passt zu den Befunden von AMOROSO u. PERRY (1964), die ein vermehrtes Auftreten von Fibrin in den maternalen Gefäßen und den interlamellären Räumen zum Ende der Trächtigkeit beschreiben. Eventuelle fibrinöse Veränderungen der feto-maternalen Kontaktstellen am Trächtigkeitseende und ein Zusammenhang zwischen den lichtmikroskopischen Ergebnissen der Extravasatzone sowie

dem maternal orientierten plazentaren Allantochorions und der anstehenden Geburt sind möglich (NOAKES et al. 2001, MCGAVIN u. ZACHARY 2007).

Der Vorgang der Plazentalösung von der Uteruswand ist für den Elefanten noch nicht beschrieben. Die in der vorliegenden Arbeit als Extravasatzone bezeichnete Region entspricht der durch AMOROSO u. PERRY (1964) beschriebenen Zone des Grenzzytotrophoblasten. Eine Homologie mit der von ASSHETON u. STEVENS (1905) beschriebenen Region B ist unwahrscheinlich, da die Autoren die Region im zentralen Bereich der Plazenta definierten.

Die Diskrepanz zwischen ASSHETON u. STEVENS (1905) und AMOROSO u. PERRY (1964) und den entsprechenden eigenen Untersuchungen liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit am Probenumfang. ASSHETON u. STEVENS (1905) untersuchte nur einige Teilstücke einer ausgetragenen Elefantenplazenta. Es ist also sicher anzunehmen, dass eine räumliche Zuordnung dieser Plazentateilstücke für die Autoren nur schwer bis gar nicht möglich war. ASSHETON u. STEVENS (1905) konnten auch keine eingehende makroskopische Beschreibungen der Elefantenplazenta vornehmen.

Eosinophile Massen und viele Blutzellen wurden zwischen den Lamellen und im direkten Kontakt mit dem Zytotrophoblast gefunden und dokumentiert. Es kann sehr sicher postuliert werden, dass es sich hierbei um freies maternales Blut handelt. Die Entstehung der Blutlakunen wurde von PERRY (1974) und ALLEN et al. (2003b) ausführlich für den Afrikanischen Elefanten beschrieben. Eine offene Verbindung zwischen maternalen Gefäßen und den Blutlakunen konnte in den eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Diese Diskrepanz wird wahrscheinlich funktionell verursacht, da sich unter der Geburt am Ende der Trächtigkeit die maternalen Gefäße verschließen (PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b).

Im Zytoplasma der Trophoblastzellen sind vermehrt Vakuolen zu finden. Als Ursache wurde die aktive Aufnahme von Blutbestandteilen und die damit verbundene Beteiligung an der hämatotrophen und histiotrophen Ernährung des Fetus beschrieben (AMOROSO u. PERRY 1964, PERRY 1974, ALLEN et al. 2003b, WOODING et al. 2005). Elektronmikroskopische Untersuchungen des Randhämatoms der Katzenplazenta zeigten eine aktive Aufnahme von Erythrozyten durch die Trophoblastzellen (LEISER u. ENDERS 1980a, MALASSINÈ 1982). Pseudopodenartige Zellmembranmodifikationen der Trophoblastzellen umschließen dabei die freien maternalen Erythrozyten. Phagolysosomale Verdauung und eine Teilung der Erythrolysosomen führt zur Entstehung von kleinen Phagolysosomen mit elektronen-dichtem Inhalt.

In den Trophoblastzellen wurden Hämosiderin Ablagerungen im Zytoplasma und basal gelegene, membrangebundene „dense bodies“ beschrieben. Letztere enthielten

Ferritinpartikel. MALASSINÈ (1982) verweist in diesem Zusammenhang auf die Bedeutung der maternalen Erythrophagozytose und der Verstoffwechslung maternalen Hämoglobins als hauptsächliche Eisenquelle des Fetus. Das in den eigenen Untersuchungen gezeigte schaumig, vakuoläre Zytoplasma der iso- bis hochprismatischen Trophoblastzellen ist sehr wahrscheinlich durch Phagolysosomen bedingt. Eine Aufnahmephase, wie von MALASSINÈ (1982) beschrieben, konnte nicht gezeigt werden, jedoch ist die Phagozytose und Pinozytose von maternalen Blutbestandteilen als sehr wahrscheinlich anzusehen. Die in der eigenen Arbeit beschriebenen intrazytoplasmatischen, chromaffinen Ablagerungen stützen diese Hypothese. Die Eisenversorgung des Elefantenfetus ist bisher nicht ausreichend geklärt. Auf Grundlage der eigenen Ergebnisse und der vorliegenden Literatur ist der Extravasatzone der Elefantenplazenta eine bedeutende Rolle bei der Eisen- und Nährstoffversorgung des Fetus zuzuschreiben.

5.3.6 Beurteilung der immunhistochemischen Ergebnisse

Phosphatasen nehmen eine zentrale Position in Stoffwechsel- und Stofftransportvorgängen der Zelle ein (HEMPEL u. GEYER 1969, LÖFFLER u. PETRIDES P.E. 1997, KRAFT u. DÜRR 1999). Ein Nachweis der Expression von Phosphatasen im epithelialen Plazentagewebe gibt somit einen Rückschluss auf die Stoffwechselleistung der Trophoblast- und Allantoisepithelzellen. COOPER et al. (1964) berichten von einem positiven histochemischen Nachweis für alkalische Phosphatase in den Trophoblastzellen des Labyrinths des Indischen Elefanten. Der Autor geht dabei jedoch weder auf die genaue Lokalisation im Labyrinth noch auf Qualität und Quantität des Enzymnachweises ein.

Zur Beurteilung eventueller Unterschiede in der zellulären Stoffwechselaktivität der einzelnen Plazentaregionen und zur Beschreibung der Stoffwechselaktivität der Plazenta zum Zeitpunkt der Geburt wurden in der vorliegenden Arbeit weiterführende Untersuchungen zum Vorkommen der Plazentaren Alkalischen Phosphatase (PLAP) durchgeführt. Unter Verwendung der ABC-Technik waren im Zytoplasma der Trophoblast- und Allantoisepithelzellen positive Reaktionsprodukte nachweisbar. In den Allantoisepithelzellen ist eine schwächere Farbreaktion im Zytoplasma festzustellen als im Zytoplasma der Trophoblastzellen. Ein weniger stark ausgebildetes Reaktionsmuster lässt auf einen geringeren PLAP Gehalt schließen. Die granulären Reaktionsprodukte treten lokal zum Teil apikal oder basal konzentriert in der Zelle auf. Ein generell membrangebundenes Auftreten der PLAP, wie von KRAFT u. DÜRR (1999) beschrieben, konnte nicht dokumentiert werden. Die Plazenta des Asiatischen Elefanten ist bis zur Geburt des Kalbes ein stoffwechselaktives Organ, dessen Epithelien aktiv Stoffe durch ihr Plasmalemm aufnehmen und abgeben. Der

Anteil an immunhistochemisch PLAP-positiven Trophoblastzellen an der Gesamtzellzahl der Trophoblastzellen ist mittel- bis hochgradig. Eine spezifische Aktivitätsverteilung wurde nicht beobachtet. Das Reaktionsmuster der Trophoblastzellen auf den PLAP-Antikörper lässt nur bedingt auf die komplexen Stoffwechselfvorgänge der Zelle schließen. Das gleichartige Reaktionsverhalten der plazentaren und paraplazentaren Trophoblastzellen deutet auf eine äquivalente Stoffwechselaktivität. Eine aktive Beteiligung des gesamten Trophoblasten an der Versorgung des Fetus ist anzunehmen.

Im geburtsreifen Zustand findet sich in der menschlichen Plazenta ein höherer Phosphatasegehalt als zu einem früheren Funktionszustand, bedingt durch den gesteigerten Stoffaustausch am Schwangerschaftsende (HEMPEL u. GEYER 1969). Ein Übertragen dieses Sachverhaltes auf den Asiatischen Elefanten ist sehr wahrscheinlich, kann jedoch auf Grundlage der vorliegenden Untersuchungen nicht bewiesen werden.

Der physiologische Gehalt von Enzymen, die als Indikator für stoffwechselaktive Prozesse gesehen werden können (z.B. die Plazentare Alkalische Phosphatase), kann möglicherweise als Kriterium bei der pathologischen Beurteilung von Plazenten nach Aborten oder Todgeburten genutzt werden. Die untersuchten Proben dieser Studie stammen von asiatischen Elefantenkälbern, die ausgetragen und lebend geboren wurden und in der Aufzucht überlebten. Die oben beschriebenen Ergebnisse können somit als physiologische Daten betrachtet und bei der Beurteilung von pathologischen Veränderungen herangezogen werden.

Choriongonadotropine sind Glykoproteinormone. Sie regen den Gelbkörper zur Produktion von Steroidhormonen an und tragen so zum Erhalt der Schwangerschaft bei. Choriongonadotropine (CG) bestehen aus 2 Untereinheiten. Sie unterscheiden sich jedoch in ihrem Aufbau. Die α -Untereinheit des equinen CG besteht aus 96 AS und die β -Untereinheit aus 149 Aminosäuren. Beim Menschen wurden für die α -Kette 92 Aminosäuren und für die β -Kette 102 bis 145 Aminosäuren beschrieben (ROSER 1999, BIRKEN et al. 1999). Auch ist der Glycosylierungsgrad der Proteine unterschiedlich. Das equine CG ist im Gegensatz zum humanen CG am C-Terminus mit einem Glycosylrest ausgestattet (ROSER 1999). Die Homologie zwischen equinen CG und humanen CG liegt zwischen 70-80 %. Der hohe Glycosylierungsgrad befähigt das hCG an die apikale Zellmembran des Synzytiotrophoblasten zu binden und in den maternalen Kreislauf abgegeben zu werden (EVAÏN-BRION u. MALASSINÈ 2003).

Mit dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass in den Zellen der ausgetragenen Plazenta des Asiatischen Elefanten eine Kreuzreaktion mit β -hCG Antikörpern stattfindet. Wie oben

beschrieben werden die gonadotropinen Proteinstrukturen des hCG und des eCG im endoplasmatischen Retikulum der Trophoblastzellen mit Kohlenhydratseitenketten versehen. Somit ist ein intrazytoplasmatisches Reaktionsmuster zu erwarten. In den eigenen immunhistologischen Untersuchungen war im Zytotrophoblast meist ein zytoplasmatischer Nachweis mit perinukleärer Konzentration möglich. Es konnten auch nukleäre Reaktionspräzipitate in den Trophoblastzellen, vereinzelt in den Endothelzellen der fetalen und maternalen Gefäße und in den Bindegewebszellen gesehen werden.

Das Vorkommen eines choriongonadotropen Hormons beim Elefanten ist umstritten und konnte bisher nicht belegt werden. In den eigenen Untersuchungen wurde somit versucht mit einem definierten Antikörper ein noch nicht bekanntes Antigen in für diese Fragestellung unbekanntem Gewebe zu detektieren. Die Konzentration des Reaktionsmusters auf das Trophoblastepithel spricht für eine spezifische Reaktion des Antikörpers mit einer in den Trophoblastzellen vorkommenden Proteinstruktur. Bei der Interpretation der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die Probengewinnung – und damit der Erhalt des Gewebes – für immunhistochemische Untersuchungen suboptimal war. Unter Berücksichtigung der Fragestellung und den Untersuchungsvoraussetzungen wurden die Proben jedoch nach maximalen Möglichkeiten der immunhistochemischen Untersuchung zugeführt. Es muss davon ausgegangen werden, dass in der Zeit bis zur Fixierung des Gewebes Lyseprozesse mit der Folge von Gewebe- und Proteinveränderungen stattgefunden haben. Es besteht somit die Möglichkeit einer unspezifischen Proteinmarkierung.

Wird aber unter experimentellen Bedingungen versucht in einem Gewebe ein Antigen in unbekannter Lokalisation mit einem noch nicht als spezifisch definiertem Antikörper nachzuweisen, so müssen positive Ergebnisse mit großer Vorsicht akzeptiert werden (POLAK u. VAN NOORDEN 1997). Absorptionskontrollen mit gereinigtem Antigen, verwandten und nicht verwandten Antigenen und Aminosäuren sind nötig, um ein positives Ergebnis zu validieren. Weisen verschiedene Antikörper das zu untersuchende Antigen in derselben Gewebelokalisation nach, kann das als Bestätigung des Antigennachweises gewertet werden (POLAK u. VAN NOORDEN 1997). Ein derartiges Nachweisverfahren und derartiger Versuchsaufbau war unter Berücksichtigung der Fragestellung dieser Arbeit und der zur Verfügung stehenden Ressourcen nicht möglich.

Es ist zu vermuten, dass vor allem Proteinstrukturen im endoplasmatischen Retikulum mit den β -hCG Antikörpern reagierten, und dadurch eine perinukleäre Darstellung der Reaktionsprodukte entstand. Die nukleären Reaktionspräzipitate können ein unspezifisches Reaktionsmuster darstellen. Es ist aber auch möglich, dass perinukleäre Präzipitate in den Kern

projiziert werden, da in der Lichtmikroskopie entsprechend den Schichtdicken der Gewebeschnitte immer ein Summationsbild vorliegt. Die positive immunhistologische Anfärbung einzelner Endothelzellen kann ebenfalls unspezifisch sein.

Wird jedoch postuliert, dass in der Elefantenplazenta ein Choriongonadotropin gebildet wird, würde ein positives Ergebnis für eine exokrine Hormonsekretion in das maternale Gefäßsystem sprechen. Die positiven Reaktionsprodukte der immunhistologischen Reaktion mit dem β -hCG Antikörper verteilen sich im Bereich des Gürtels innerhalb der Trophoblastzellen unterschiedlich. Die Häufung intrazytoplasmatisch markierter, granulärer Reaktionspräzipitate in der maternal orientierten Region des Gürtels könnte auf eine vermehrte Abgabe der Proteinstrukturen aus diesem Bereich der Plazenta hindeuten. Eine mögliche luteotrope Funktion und Wirkung wäre somit möglich. Rückschlüsse auf funktionelle Besonderheiten der unterschiedlichen Gürtelregionen lassen sich allerdings nicht sicher ziehen.

Damit wurde für den Elefanten erstmalig der Nachweis einer mit β -hCG Antikörpern kreuzreagierenden Proteinstruktur in den Trophoblastzellen erbracht.

Die Plazenta des Afrikanischen Elefanten wurde als endokrinologisch vollständig inaktiv beschrieben (ALLEN et al. 2002). Die Autoren benutzten für ihre Versuche Gewebshomogenisate von 2,5 – 11 Monate entwickelten Plazenten. Mit Hilfe verschiedener Testverfahren versuchten ALLEN et al. (2002) FSH, eCG, und equines hypophysäres LH nachzuweisen; jedoch ohne Erfolg. Der Altersunterschied der Plazenten und die unterschiedlichen Testverfahren und Antiseren können als mögliche Gründe für die verschiedenen Ergebnisse angesehen werden. SOMA u. KAWAKAMI (1991) berichteten von einem negativen Reaktionsergebnis beim immunistochemischen Nachweis von hCG an der Plazenta des Afrikanischen Elefanten. Es finden sich jedoch keine Angaben über die Art des Antikörpers, über das Detektionsverfahren oder die Lokalisation der Probenentnahme. Hier können Gründe für die Diskrepanz zu den eigenen Ergebnissen liegen.

Ein Unterschied zwischen den Spezies ist eher unwahrscheinlich, da eine Paarung zwischen Asiatischen und Afrikanischen Elefanten und die Geburt eines lebenden und lebensfähigen Kalbes beschrieben worden ist (HOWARD 1979, BENIRSCHKE 2008). Die Plazenten der beiden Arten müssten im Hinblick auf diesen endokrinologischen Aspekt funktionell gleichartig sein. Im Serum trächtiger Elefantenkühe wurden von SUKUMURA PILLAY (1976) gonadotrope Aktivitäten nachgewiesen. HODGES (1998) bezweifelt das Vorkommen von Gonadotropin beim Elefanten, da die wenigen existierenden Daten innerhalb der untersuchten Tiere nicht übereinstimmen oder auf ungenauen Trächtigkeitzeitpunkten

beruhen. Der gescheiterte Versuch, die Existenz plazentarer Gonadotropinaktivität an Plazentaprobe von fünf Afrikanischen Elefantenplazenten nachzuweisen (ALLEN et al. 1996, ALLEN et al. 2002) stützt seine Hypothese. Auch BROWN (2008) weist darauf hin, dass es keine Beweise für einen gonadotropinartigen Faktor in der Elefantenplazenta gibt. Die Bildung neuer Follikel und Corpora lutea im vierten bis fünften Trächtigsmonat beim Afrikanischen Elefanten (HILDEBRANDT et al. 2000) macht weiterführende Untersuchungen für das Verständnis der postkonzeptionalen endokrinen Funktionen nötig (BROWN 2008).

Durch die Entwicklung humaner Trophoblastzellkulturen konnte in der Plazenta des Menschen die Produktion von Neuropeptiden nachgewiesen werden (EVAIN-BRION u. MALASSINÈ 2003). Derartige Forschungsergebnisse zeigen, dass auch die menschliche Plazenta in ihrer funktionellen Besonderheit noch nicht vollständig verstanden wird. Es muss zukünftiger Forschung vorbehalten bleiben, weitere Erkenntnisse zur hormonellen und enzymatischen Ausstattung der fetalen Plazenta des Elefanten zusammen zu tragen.

Die Plazenta des Elefanten muss über einen Zeitraum von bis zu 660 Tagen die Versorgung des Fetus sicherstellen. Bis zum Zeitpunkt der Geburt erreichen die Kälber ein Körpergewicht von über 100 kg. Die hohe stoffwechselaktive Leistung kann nur durch spezifische morphologisch-funktionelle Strategien gewährleistet werden. So hat das gesamte Chorion der Plazenta des Asiatischen Elefanten eine resorptive Funktion. Das Vorkommen intraepithelialer Kapillaren verkleinert die Diffusionsstrecke der Plazentarschranke und steigert so die Effizienz des Stoffaustausches. Eine mögliche Produktion von plazentarem Gonadotropin könnte die lange Persistenz der Gelbkörper unterstützen und würde so den Fortbestand der Trächtigkeit sichern.

Basierend auf den eigenen lichtmikroskopischen und ultrastrukturellen Ergebnissen der physiologischen Plazentarstrukturen, könnte zukünftig eine Beurteilung pathologischer Vorgänge während der Trächtigkeit und der Geburt möglich sein. Die vergleichenden licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Fruchthüllen des Asiatischen Elefanten sollen einen Beitrag zum weiteren Verständnis der Reproduktionsbiologie und Plazentation des Elefanten leisten.

Damit ist diese Dissertationsschrift insbesondere für Zootierärzte und für auf dem Gebiet der Erhaltung von Elefantenherden in Zoologischen Gärten und in Nationalen Parks tätige Wissenschaftler relevant.

6 Zusammenfassung

Verfasser: Shenja Loderstedt

Thema: Makroskopische, lichtmikroskopische und ultrastrukturelle Charakterisierung der Plazenta fetalis des Asiatischen Elefanten (*Elephas maximus*)

Institut: Veterinär-Anatomisches Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Mai 2008

Bibliographische Angaben:

126 Seiten, 98 Abbildungen, 7 Tabellen, Literaturangaben, Anhang

Schlüsselwörter: Asiatischer Elefant, Plazenta, Allantois, Chorion, Lichtmikroskopie, Elektronenmikroskopie

Erkenntnisse über die Morphologie und Physiologie der Plazenta des Asiatischen Elefanten sind nur im begrenzten Umfang vorhanden (Owen, 1857; Mossman (1937), Cooper et al., 1964, Davis et al., 1991). Ziel dieser Untersuchung ist die erstmalige systematische Untersuchung und Charakterisierung der unter physiologischen Bedingungen ausgetragenen Placenta fetalis von gesunden, vitalen Asiatischen Elefantenkälbern. Im Mittelpunkt der Untersuchung stehen die morphologisch - strukturelle Charakterisierung des Gewebes, sowie die immunhistochemische Untersuchung der unterschiedlichen Plazentaanteile.

Für die Untersuchung standen vier Nachgeburten von in zoologischen Einrichtungen gehaltenen Asiatischen Elefanten zur Verfügung. Die Plazenten wurden vollständig, oder in Form repräsentativer Proben dem Veterinär-Anatomisches Institut überstellt. Aus morphologisch unterschiedlichen Bereichen der einzelnen Fruchthüllen wurden Proben zur weiteren lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchung entnommen. Weiterhin wurde das Ansprechverhalten des Gewebes auf Antikörper von humanen Choriongonadotropin (hCG) und plazentarer alkalischer Phosphatase (PLAP) analysiert.

Amnion und Allantois werden von einem einschichtigen, iso- bis hochprismatischen Epithel mit kopfsteinpflasterartiger Oberfläche bekleidet. Die Epithelzellen tragen auf ihrer Zellmembranoberfläche Mikrovilli und Mikroplicae. Es können Zytoplasmaprotrusionen unterschiedlichen Ausprägungsgrades ausgebildet werden. Die chorionseitige Oberfläche des extraplazentaren Allantoichorions erscheint makroskopisch heterogen und bildet auf der gesamten Oberfläche mikroskopisch differenzierbare Chorionzotten unterschiedlicher Größe

aus. Die Zytotrophoblastzellen tragen Oberflächenmodifikationen. Der Gürtel kann mikroskopisch anhand der Gefäßbasalmembranmorphologie und der Plasmainsudationen in zwei Schichten eingeteilt werden. Das Trophoblastepithel wird von intraepithelialen Kapillaren durchbrochen, und die Plazentarschranke ist bis auf ca. 2µm reduziert. Im Zytoplasma der Trophoblastzellen der Extravasatzone finden sich chromaffine, granuläre Ablagerungen unterschiedlicher Größe. Die Trophoblastzellen reagieren positiv auf den immunhistochemischen Nachweis von hCG und PLAP.

Am vorliegenden Material wurden erstmals systematische morphologische Untersuchungen auf makroskopischer, lichtmikroskopischer und ultrastruktureller Ebene durchgeführt. Der Asiatische Elefant bildet eine vollständige Gürtelplazenta mit braun grün gefärbtem Randsaum aus. Das Allantois- und Amnionepithel ist einheitlich einschichtig. Die Epithelzellen beider Membranen zeigen zyttoplasmatische Zellausstülpungen. Für die Hundplazenta werden rasterelektronenmikroskopisch vergleichbare Strukturen als apokrine Sekretionsvesikel beschrieben (Grether et al., 1998). Das extraplazentare Allantochorion weist auf seiner gesamten Oberfläche Zotten unterschiedlicher Morphologie auf. Intraepitheliale Kapillaren kommen vor. Der Trophoblast ist in seiner Gesamtheit als Zytotrophoblast ausgebildet. Im Bereich des proximalen Plazentalabyrinthes finden sich unregelmäßig verdickte Basalmembranen maternaler Gefäße. Das Zytoplasma der Trophoblastzellen in der Extravasatzone erscheint vakuolär und schließt chromaffine Granula ein. In den Trophoblastzellen werden positive Reaktionspräzipitate mit PLAP-Ak, sowie hCG-Ak gebildet.

Schlussfolgernd wird festgestellt:

1. Der Asiatische Elefant bildet eine Placenta zonaria, endothelio-chorialen Charakters aus.
2. Allantois- und Amnionepithel sind im Aufbau ähnlich und sekretorisch aktiv.
3. Es ist von einer Beteiligung des paraplazentaren Allantochorion am Stoffwechsel der Plazenta auszugehen (Stoffel et al., 1998, Olivera et al., 2003).
4. Der Plazentargürtel kann in drei Zonen eingeteilt werden.
5. Der Trophoblast ist als Zytotrophoblast ausgebildet und in seiner Gesamtheit funktionell resorptiv. Es kommen intraepitheliale Kapillaren vor, wobei die Plazentarschranke entsprechend des endothelio-chorialen Plazentatyps erhalten bleibt.
6. Die endokrinologische Aktivität der Elefantenplazenta muss Schwerpunkt fortführender Forschungsarbeit sein.

7 Summary

- Author: Shenja Loderstedt
- Title: Macroscopic, light microscopic and ultra structural characterization of the Placenta fetalis of the Asian Elephant (*Elephas maximus*)
- Institution: Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig
- Submitted in May 2008
- Bibliography: 126 pages, 98 figures, 7 tables, references, appendix
- Keywords: Asian Elephant, Placenta, Allantois, Chorion, Light microscopy, Electron microscopy

There is very little detailed knowledge regarding the structure and physiology of the placenta of the Asian Elephant (OWEN 1857, MOSSMAN 1937, COOPER et al. 1964, MOSSMANN 1987, DAVIS u. BENIRSCHKE 1991). The aim of this thesis is the systematic analysis and characterization of the term placenta fetalis of the Asian Elephant from healthy, vital Elephant calves born under physiological circumstances. The study focuses on the morphological characterization of the placental tissue, and on the immunohistochemical investigation of different placental locations.

Four Placentae fetalis were collected from Asian Elephants kept in zoos. The complete placentas or representative parts were sent to the Institute of Veterinary-Anatomy of the University of Leipzig. Samples were collected from different anatomical regions of the fetal placenta for further light- and electron microscopic Investigation. The immunohistochemical responses of the tissue to human gonadotropin (hCG) antibody and to placental alkaline phosphatase (PLAP) antibody were tested.

Amnion and Allantois are covered by a single layer of iso- or columnar epithelium with a cobblestone like surface. The epithelial cells show microvilli, microplicae and cytoplasmic protrusions in different stages on their cell membrane surface. The extraplacental chorionic membrane appears macroscopically heterogenic. Villi can be seen throughout the whole chorion. The epithelial cells show modifications of the cell membranes. The girdle can be divided in two zones microscopically, because of the basal membrane morphology of maternal blood vessels and plasma insudation into the tissue. The trophoblast epithelium is invaded by intraepithelial capillaries and the blood-placental barrier is reduced to approximately 2µm. Trophoblast cells in the haemophagus zone display chromaffin granules

of different size in the cytoplasm. The trophoblast cells show a positive immunohistochemic reaction to hCG and PLAP.

For the first time, a systematic macroscopic, light microscopic and ultra structural morphologic investigation was carried out on the term Placenta fetalis of the Asian Elephant. The Asian Elephant has a placental belt with a green brown haemophagus zone on each side. The Allantois- and Amnionepithelium are single layered and show protrusions of the cytoplasm. Scanning electron microscopic investigations revealed comparable structures to the dog (GRETHER et al. 1998). The whole extra placental Chorion has a villous membrane surface. Intraepithelial capillaries can be shown. The trophoblast is shaped completely as cytotrophoblast. In the proximal part of the labyrinth, thickened basal membranes can be seen on maternal capillaries. The cytoplasm of the epithelial cells in the haemophagus zone appears vacuolar and encloses chromaffin granules. Positive immunohistochemistry reactions can be seen in the cytotrophoblast with PLAP-Antibody and hCG-Antibody.

Conclusively, it can be stated:

1. The Asian Elephant has a Placenta zonaria, endotheliochorialis.
2. Allantois- and Amnionepithelium have a similar morphology and are secretically active.
3. An involvement of the paraplacental Chorion in the metabolism of the placenta can be postulated (STOFFEL et al. 1998, OLIVERA et al. 2003a).
4. The placental labyrinth can be divided in two zones.
5. The trophoblast is shaped completely as cytotrophoblast and has resorptive functional. In spite of the intraepithelial capillaries, the blood-placenta barrier stays entirely intact.
6. The endocrinology of the placenta of the Asian elephant requires further investigations.

Allen WR. Ovulation, pregnancy, placentation and husbandry in the African elephant (*Loxodonta africana*). *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2006;361:821-34.

Allen WR, Carter AM, Chavatte-Palmer P, Dantzer V, Enders AC, Freyer C et al. Comparative placentation - A workshop report. *Placenta*. 2003a;24:S100-S103.

Allen WR, Hamilton DW, Moor RM. Origin of equine endometrial cups. 2. Invasion of the endometrium by trophoblast. *Anatomical Record*. 1973;177:485-502.

Allen WR, Mathias S, Ford M. Placentation in the African elephant, *Loxodonta africana*. IV. Growth and function of the fetal gonads. *Reproduction*. 2005;130:713-20.

Allen WR, Mathias S, Skidmore JA, Wooding FBP, van Aarde RJ. Fetoplacental function in the African elephant. In: Stone G, Evans G, editors. Sydney, Australia: 1996. p. 9-10.

Allen WR, Mathias S, Wooding FBP, van Aarde RJ. Placentation in the African elephant (*Loxodonta africana*): II - Morphological changes in the uterus and placenta throughout gestation. *Placenta*. 2003b;24:598-617.

Allen WR, Mathias SS, Wooding FBP, Skidmore JA, van Aarde RJ. Placentation in the African elephant, *Loxodonta africana*. I. Endocrinological aspects. *Reproduction*. 2002;105-16.

Allen WR, Moor RM. Origin of the equine endometrial cups. 1. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1972;29:313-6.

Amoroso EC. Allanto-Chorionic Differentiations in the Carnivora. *Journal of Anatomy*. 1952;86:481-2.

Amoroso EC. Comparative Anatomy of the Placenta. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1959;75:855-72.

Amoroso EC, Perry JS. Foetal Membranes + Placenta of African Elephant (*Loxodonta Africana*). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 1964;248:1-&.

Anderson JW. Ultrastructure of Placenta and Fetal Membranes of Dog .I. Placental Labyrinth. *Anatomical Record*. 1969;165:15-&.

Archibald JD. Timing and biogeography of the eutherian radiation: fossils and molecules compared. *Mol Phylogenet Evol*. 2003;28:350-9.

Arnold S. Weiblicher Geschlechtsapparat. In: Niemand HG, Suter PF, editors. *Praktikum der Hundeklinik*. 8 ed. Berlin: Parey; 2000. p. 611-56.

Ascheim S, Zondek B. Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons. *Klinische Wochenschrift*. 1928;7:1404-11.

Assheton R. The Morphology of the Ungulate Placenta, particularly the Development of that Organ in the Sheep, and Notes upon the Placenta of the Elephant and Hyrax. *Philosophical Transactions of the Royal Society Series B-Biological Sciences*. 1906;198:143-220.

- Assheton R, Stevens TG. Notes on the structure and the development of the elephant's placenta. *Quart J Micro Sci.* 1905;49:1-37.
- Balke JME, Boever WJ, Eilersieck MR, Seal US, Smith DA. Anatomy of the Reproductive-Tract of the Female African Elephant (*Loxodonta-Africana*) with Reference to Development of Techniques for Artificial Breeding. *Journal of Reproduction and Fertility.* 1988;84:485-92.
- Bautzmann H, Schröder R. Vergleichende Studien über Bau und Funktion des Amnions. Das Amnion der Säuger am Beispiel des Schafes (*Ovis aries*). *Z Zellforschung.* 1955;43:48-63.
- Belterman R, Dorresteyn T. *European Studbook 2007 Asian Elephant (Elephas maximus) 2007*
- Benirschke K. Comparative Placentation. 2008 (zitiert am 21 01 2008), <http://placentation.ucsd.edu/homefs.html>
- Birken S, O'Connor J, Lobel L, Canfield R. Chorionic Gonadotropin, Human. In: Anon. *Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press; 1999. p. 587-601.
- Blood DC, Studdert VP. *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary.* 2 ed. London: WB Saunders; 1999.
- Böker E. Zur Kenntnis des Baues der Placenta von *Elephas indicus*. *Arch mikr Anat.* 1907;71:324.
- Brown JL. Reproductive Endocrinology. In: Fowler ME, Mikota SK, editors. *Biology, Medicine and Surgery of Elephants.* First ed. Blackwell Publishing; 2008. p. 377-88.
- Carter AM. Evolution of the placenta and fetal membranes seen in the light of molecular phylogenetics. *Placenta.* 2001;22:800-7.
- Carter AM, Blankenship TN, Kunzle H, Enders AC. Structure of the definitive placenta of the tenrec, *Echinops telfairi*. *Placenta.* 2004a;25:218-32.
- Carter AM, Enders AC. Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2:46.
- Carter AM, Enders AC, Kunzle H, Oduor-Okelo D, Vogel P. Placentation in species of phylogenetic importance: the Afrotheria. *Animal Reproduction Science.* 2004b;82-83:35-48.
- Chapman HC. *The Placenta and Generative Apparatus of the Elephant.* Journ Acad Nat Sci Philadelphia. 1880;8.
- Cooper RA, Wellings SR, Connell RS. Placenta of Indian Elephant *Elephas Indicus*. *Science.* 1964;146:410-2.
- Craig GC. Foetal mass and date of conception in African elephants: a revised formula. *South African Journal of Science.* 1984;80:512-6.
- Davis S, Benirschke K. Observations on the placenta of elephants. *Symposium Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere, Liberica, CSR: Akademie Verlag Berlin;* 1991. p. 39-45.

Douady CJ, Chatelier PI, Madsen O, de Jong WW, Catzeflis F, Springer MS et al. Molecular phylogenetic evidence confirming the Eulipotyphla concept and in support of hedgehogs as the sister group to shrews. *Mol Phylogenet Evol.* 2002;25:200-9.

Enders AC. A Comparative Study of the Fine Structure of the Trophoblast in Several Hemochorial Placentas. *American Journal of Anatomy.* 1965;116:29-68.

Enders AC, Carter AM. What can comparative studies of placental structure tell us? A review. *Placenta.* 2004;25:S3-S9.

Evain-Brion D, Malassinè A. Human placenta as an endocrine organ. *Growth Hormon and IGF Research.* 2003;13:34-7.

Finn CR, Wooding FBP, Flint APF, Butt WR, Chard T, Iles R. *Marshall's Physiology of Reproduction.* fourth edition ed. London: Chapman & Hall; 1994.

Fluegger M, Goritz F, Hermes R, Isenbugel E, Klarenbeek W, Schaftenaar W et al. Evaluation of physiological data and veterinary medical experience in 31 Asian elephant (*Elephas maximus*) birth in six zoos. *Proceedings of the Institute for Zoo and Wildlife Research, H. Hofer;* 2001. p. 123-33.

Franklin KJ. *The foetal circulation.* Oxford: 1944.

Friess AE, Sinowatz F, Skolek-Winnisch R, Träumer W. The Placenta of the Pig. I. Finestructural changes of the placental barrier during pregnancy. *Anatomy and Embryology.* 1980;158:179-91.

Fujimoto E, Koto N, Imori T, Nakama S. Gonadotrophin in Urine of A Pregnant Indian Elephant - A Case Report. *Zoologica-New York.* 1970;55:73-&.

Grether BM, Friess AE, Stoffel MH. The glandular chambers of the placenta of the bitch in the second third of pregnancy (day 30-44): An ultrastructural, ultrahistochemical and lectin histochemical investigation. *Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C.* 1998;27:95-103.

Grosser O. *Eihäute der Placenta.* Wien, Leipzig: 1909.

Grosser O. *Frühentwicklung, Eihautbildung und Placentation des Menschen und der Säugetiere.* München: 1927.

Hempel E, Geyer G. Submicroscopic Distribution of Alkaline Phosphatase in Human Placenta. *Acta Histochemica.* 1969;34:138-&.

Hildebrandt T, Drews B, Gaeth AP, Goeritz F, Hermes R, Schmitt D et al. Foetal age determination and development in elephants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences.* 2007;274:323-31.

Hildebrandt T, Göritz F, Pratt NC, Brown JL, Montali RJ, Schmitt DL et al. Ultrasonography of the urogenital tract in elephants (*Loxodonta africana* and *Elephas maximus*): An important tool for assessing female reproductive function. *Zoo Biol.* 2000;19:321-32.

Hill JP. The developmental history of the Primates. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences.* 1932;221:45-178.

- Hill JP, Burne RH. The foetal membranes and placentation of *Chiromys madagascariensis*. Proceedings of the Zoological Society London. 1922;1145-70.
- Hodges JK. Endocrinology of the ovarian cycle and pregnancy in the Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephant. *Animal Reproduction Science*. 1998;53:3-18.
- Hofman W. Vergleichend-Morphologische Untersuchungen Über Das Vorkommen Elastischer Fasern in den Zottengefassen Von Geburtspacenten. *Acta Anatomica*. 1967;66:67-&.
- Howard AL. "Motty" - birth aof an African/ Asian elephant at Chester Zoo. *Elephant*. 1979;1:36-41.
- Jones CJP, Wooding FBP, Mathias SS, Allen WR. Fetomaternal glycosylation of early placentation events in the African elephant *Loxodonta africana*. *Placenta*. 2004;25:308-20.
- Koch E, Elsaesser F, Boer M, Dittrich L, Ellendorff F. Contribution to Pregnancy Diagnosis in Asian and African Elephants. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 1988;95:111-4.
- Kraft W, Dürr UM. *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 5 ed. Stuttgart, New York: Schattauer; 1999.
- Leiser R. Blastocyst Implantation in the Domestic Cat - Light and Electron-Microscopic Investigation. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe C-Journal of Veterinary Medicine Series C-Anatomia Histologia Embryologia*. 1979a;8:79-96.
- Leiser R. Light and Electron-Microscopy of Blastocyst Implantation in Cats. *Acta Anatomica*. 1979b;105:115-6.
- Leiser R, Dantzer V. Structural and functional aspects of porcine placental microvasculature. *Anatomy and Embryology*. 1988;177:409-19.
- Leiser R, Enders AC. Light-Microscopic and Electron-Microscopic Study of the Near-Term Paraplacenta of the Domestic Cat .2. Paraplacental Hematoma. *Acta Anatomica*. 1980a;106:312-26.
- Leiser R, Enders AC. Light-Microscopic and Electron-Microscopic Study of the Near-Term Paraplacenta of the Domestic Cat .1. Polar Zone and Paraplacental Junctional Areas. *Acta Anatomica*. 1980b;106:293-311.
- Leiser R, Kohler T. The Blood-Vessels of the Cat Girdle Placenta - Observations on Corrosion Casts, Scanning Electron Microscopical and Histological Studies .1. Maternal Vasculature. *Anatomy and Embryology*. 1983;167:85-93.
- Leiser R, Kohler T. The Blood-Vessels of the Cat Girdle Placenta - Observations on Corrosion Casts, Scanning Electron Microscopical and Histological Studies .2. Fetal Vasculature. *Anatomy and Embryology*. 1984;170:209-16.
- Leiser R, Krebs C, Ebert B, Dantzer V. Placental Vascular Corrosion Cast Studies: A Comparison Between Ruminants and Humans. *Microscopy Research and Technique*. 1997;38:76-87.

Löffler G, Petrides P.E. Biochemie und Pathobiochemie. 5 ed. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag; 1997.

Ludwig KS. Zur vergleichenden Histologie des Allantochorion. *Revue Suisse de Zoologie*. 1968;75:819-31.

Ludwig KS, Baur R. Zur Struktur der Geburtsplacenta und der unreifen Placenta des afrikanischen Elefanten (*Loxodonta africana*). *Acta Anatomica*. 1967;68:612.

Maaß S. Hepatopathien beim angeborenen portosystemischen Shunt des Hundes - Histopathologische und immunhistologische Untersuchungen vor und nach partieller Ligatur der Shuntgefäße [Dissertation med. vet]. Leipzig: Universität Leipzig; 2003.

Malassinè A. Scanning and Transmission Electron-Microscopic Observation of the Hemophagous Organ of the Cat Placenta. *Bibliotheca anat*. 1982;22:108-16.

McGavin MD, Zachary JF. Pathologic Basis of Veterinary Disease. fourth ed. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier; 2007.

McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT. Veterinary Embryology. 1st ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2006.

Michel G. Kompendium der Embryologie der Haustiere. Stuttgart: 1986.

Mossman HW. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contrib Embryol*. 1937;26:129-246.

Mossman HW. The fetal membranes of the aard vark. *Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft, Bern*. 1957;Neue Folge 14:119-28.

Mossmann HW. Vertebrate Fetal Membranes. Houndmills: 1987.

Murphy WJ, Eizirik E, O'Brien SJ, Madsen O, Scally M, Douady CJ et al. Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian phylogenetics. *Science*. 2001;294:2348-51.

Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8th ed. Edinburgh, London, New York: Saunders; 2001.

Olivera L, Zago D, Leiser R, Jones C, Bevilacqua E. Placentation in the alpaca *Lama pacos*. *Anatomy and Embryology*. 2003a;207:45-62.

Olivera LVM, Zago DA, Jones CJP, Bevilacqua E. Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. *Anatomy and Embryology*. 2003b;207:317-31.

Owen R. Description of the Foetal Membranes and Placenta of the Elephant (*Elephas indicus* Cuv.) with Remarks of the Value of Placental Characters in the Classification of the Mammalia. *Philosophical Transactions of the Royal Society London*. 1857.

Perry JS. The Reproduction of the African Elephant, *Loxodonta-Africana*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 1953;237:93-&.

- Perry JS. Structure + Development of Reproductive Organs of Female African Elephant. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 1964;248:35-&.
- Perry JS. Implantation, Fetal Membranes and Early Placentation of African Elephant, *Loxodonta-Africana*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 1974;269:109-&.
- Polak JM, Van Noorden S. *Introduction to Immunocytochemistry*. second ed. Oxford: Bios Scientific Publisher; 1997.
- Pschyrembel W. *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. 258 ed. Berlin: de Gruyter; 1998.
- Ramsey EM. *The Placenta of Laboratory Animals and Man*. New York: Rinehart & Winston; 1975.
- Rohen JW, Lütjen-Drecoll E. *Funktionelle Histologie*. 2 ed. Stuttgart New York: Schattauer Verlag; 1990.
- Roser JF. Equine Chorionic Gonadotropin. In: Anon. *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press; 1999. p. 29-37.
- Schnorr B, Kressin M. *Embryologie der Haustiere*. 5. ed. Stuttgart: Enke Verlag; 2006.
- Sinha AA, Seal US, Erickson AW. Ultrastructure of the Amnion and Amniotic Plaques of the White-tailed Deer. *American Journal of Anatomy*. 2005;127.
- Soma H, Kawakami S. Parturition and Placentation in African Elephant (*Loxodonta Africana*). *Verh Ber Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere* 1991:47-51
- Stark D. *Embryologie*. 2 ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1965.
- Stoffel MH, Gille U, Friess AE. Scanning electron microscopy of the canine placenta. *Ital J Anat Embryol*. 1998;103:291-300.
- Strahl H. Die Embryonalhüllen der Säugetiere und die Placenta. In: Hertwig, editor. *Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere*. Jena: Fischer; 1906.
- Sukumura Pillay KR. A note on the diagnosis of pregnancy in elephants. *Indian Veterinary Journal*. 1976;53:19-21.
- Turner W. On the structure of the diffused, the polycotyledonary, and the zonary forms of the placenta. *J Anat*. 1875;10:127-77.
- Turner W. *Lectures of the Comparative Anatomy of the Placenta*. London. 1876.
- Urwin VE, Allen WR. Pituitary and chorionic gonadotrophin control of ovarian function during early pregnancy in equids. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 1982;32:371-82.
- von Baer KE. *Untersuchungen über die Gefäßverbindung zwischen Mutter und Frucht*. Leipzig. 1828.

- Waddell PJ, Kishino H, Ota R. A phylogenetic foundation for comparative mammalian genomics. *Genome Inform.* 2001;12:141-54.
- Wislocki GB. On an unusual placental form in the Hyracoidea: its bearing on the theory of the phylogeny of the placenta. *Contrib Embryol Carnegie Inst.* 1930;21:118-33.
- Wislocki GB. On the placentation of the Primates with a consideration of the phylogeny of the placenta. *Contrib Embryol.* 1929;20:51-80.
- Wislocki GB. The placentation of the manatee *Trichechus latirostris*. *Mem Mus Comp Zool Harvard College.* 1935;54:159-78.
- Wislocki GB, Amoroso EC. The placenta of the wolverine (*Gulo gulo luscus* (Linnaeus)). *Bull Mus Comp Zool, Harvard Univ.* 1956;114:91-100.
- Wislocki GB, Enders RK. The placentation of the bottle-nosed porpoise. *American Journal of Anatomy.* 1941;68:97-125.
- Wislocki GB, van der Westhuysen OP. The placentation of the *Procavia capensis* with a discussion of the placental affinities of the Hyracoidea. *Contrib Embryol Carnegie Institute Washington.* 1940;28:65-8.
- Wooding FBP, Flint APF. Placentation. In: Flammig GE, editor. *Marshall's Physiology of Reproduction.* 4 ed. London: Chapman and Hall; 1994. p. 230-466.
- Wooding FBP, Stewart F, Mathias S, Allen WR. Placentation in the African elephant, *Loxodonta africanus*: III. Ultrastructural and functional features of the placenta. *Placenta.* 2005;26:449-70.
- WWF Fachbereich Biodiversität AuT, Homes V. Asiatischer Elefant, Bestandsgröße, Hintergrundinformation. 2006 (zitiert 21 01 2008), <<http://www.wwf.de>> <http://www.incentivs.uni-mainz.de/downloads/AnnualMeeting2006/AM2006_homes.pdf>

Internet – Seiten

- Benirschke K. Comparative Placentation. 2008 (zitiert am 21 01 2008), <<http://placentation.ucsd.edu/homefs.html>>
- WWF Fachbereich Biodiversität AuT, Homes V. Asiatischer Elefant, Bestandsgröße, Hintergrundinformation. 2006 (zitiert 21 01 2008), <<http://www.wwf.de>> <http://www.incentivs.uni-mainz.de/downloads/AnnualMeeting2006/AM2006_homes.pdf>

Anamnesebogen „Plazenta“
-Kooperation zwischen dem ... und dem Veterinär-Anatomischen Institut der
Universität Leipzig

Angaben zur Trächtigkeit, Geburt, Neugeborenen und Plazenta im Fall des geborenen asiatischen Elefanten ...

- Tierart
- Zoo-internes Kennzeichen (Nummer)

Angaben zur **Geburt**

- Geburtsdatum:
- Geburtszeit:
- Geburtsverlauf
 - Normalgeburt
 - Schweregeburt

Angaben zur **Plazenta**

- Wann aufgefunden (im Verhältnis zur Geburt)?:
- Wie gefunden?
 - vollständig
 - unvollständig /beschädigt
- Fixierlösung:
- Transport zum Veterinär-Anatomischen Institut
 - Datum:
 - durch:

Angaben zum **Muttertier**

- Name:
- Alter:
- Krankheiten
 - keine
 - ja, und zwar...
- bisherige Trächtigkeiten
 - primipara
 - multipara
 - Schweregeburten
 - Retentio secundinarum

Angaben zum **Neonaten**

- Gewicht:
- Krankheiten
 - keine
 - ja, und zwar...
- Allgemein- und Entwicklungszustand
 - gut
 - mindergut
 - schlecht
- Personen für eventuelle Rückfragen:

Versuchsprotokoll – Immunhistochemie

- verwendete Puffer: 0,1M TBS (ph 4,7)
0,05M Tris (pH 7,6)

1. Schnittherstellung

- Schnitte am Mikrotom anfertigen (5µm) und auf beschichteten Objektträger aufziehen
- Schnitte über Nacht bei 37°C trocknen (optional: 1h bei 60°C)

2. Entparaffinieren

- 3 x 5 min Xylol (frisch)
- 2 x 5 min Ethanol 100%
Dampfgarer vorheizen: Küvette mit Citratpuffer befüllen und 20min vorheizen

- 2 x 5 min Ethanol 96%
- 5 min Ethanol 70%
- dest. spülen (ca. 1 min)

3. Antigendemaskierung im Dampfgarer

- Schnitte in die vorgeheizte Küvette stellen, für 20 min „garen“
- Küvette mit Schnitten für 30 min bei RT abkühlen lassen
- spülen mit Leitungswasser
H₂O₂ ansetzen

4. Blockade der endogenen Peroxidase

- 3% H₂O₂ (180ml A dest: + 20 ml 30%ige H₂O₂-Lsg.) 30 min RT
- 10 min TBS
- 2 x 10 min TBS/ Triton
- kurz in TBS spülen
- Schnitte absaugen oder trocken wischen
- mit PapPen Stift markieren

5. Blockade der unspezifischen Gewebsproteine (Hintergrundfärbung)

- 5% Milch (5 g Magermilchpulver in 100 ml TBS) 1 h, RT, Schüttler
- kurz in TBS spülen
- Schnittträger trocknen
- Protein Free Serum (Dako) 30 min, RT, Schüttler
- nicht spülen, nur abdekantieren
- **Inkubation des Primär-Antikörpers** in ausgetesteter Konzentration über Nacht, 4°C, Schüttler (optional: 2h, 37°C, Schüttler)
- Antikörper mit Milch verdünnen, Negativkontrolle mit Milch inkubieren
- 2 x 10 min TBS
- 10 min TBS/ Triton
- kurz in TBS spülen
- Schnittträger trocknen
- **Inkubation des Sekundär-Antikörpers** in ausgetesteter Konzentration, 1h, RT, Schüttler (optional: 2-3h, 4°C, Schüttler)
Ansetzen ABC-Komplex

- 3 x 5 min TBS

6. Inkubation mit Avidin-Biotinylierten-Meerrettichperoxidase-Complex (ABC)

- ABC-Herstellung mit Vectastain-Kit: pro 1 ml TBS werden 8 μ l biotinylierte Meerrettichperoxidase und 8 μ l Avidin vermischt, Complex vortexen und mindestens 30 min reagieren lassen, RT
 - ABC 30 min, RT, Schüttler
 - 2 x 5 min TBS
 - 5 min TRIS
- 7. Farbreaktion mit DAB als Chromogen**
- 10 ml TRIS (=Färbepuffer) werden mit 6 μ l H₂O₂ (30%) und 5 mg Diaminobenzidin (20 mg/ml = 250 μ l) versetzt
 - Inkubation des DAB unter mikroskopischer Kontrolle, bis eine dunkle Färbung auftritt
 - Abstoppen der Reaktion mit TBS, kurz spülen in TBS
- 8. Gegenfärbung der Reaktion**
- Kerne mit Methyleneblau (CAVE!!! geringe Konzentration, keine Überlagerung der spezifischen Markierung) 20-30 sec, oder mit Hämatoxylin 5 - 10 min
 - Entsalzen durch 2-maliges Spülen mit A. dest.
 - Trocknen auf Wärmeplatte, equilibrieren in Toluol, eindecken mit Entellan/ Toluol
 - oder dehydrieren in 2 x 10 sec. in je 95% und 100%igem Ethanol, equilibrieren in Xylol 2 x 10 sec, eindecken mit Entellan/ Xylol

Verwendete Antikörper

beta-Chorionic Gonadotrophin (beta-hCG), human
Fa. Biogenesis Ltd, England
www.biogenesis.co.uk
cat No: 2090-1404
batch No: 920302F
Pack Size: 50 µl
Antibody
Type: polyclonal
Host: rabbit
Immunogen: native, purified

eingesetzte Konzentrationen:

- Probe – 1:200
- Positivkontrolle – 1:600

Sekundärantikörper

- biotinylierter anti-Rabbit – Antikörper
- eingesetzte Konzentration 1:500

Alkaline Phosphatase, placental & bone, human
Fa. Biogenesis Ltd, England
www.biogenesis.co.uk
cat No: 0300-1909
batch No: D970428
Pack Size: 1 ml
Antibody
Type: polyclonal
Host: sheep
Immunogen: native placental AP

eingesetzte Konzentrationen:

- Probe – 1:2000
- Positivkontrolle – 1:2000

Sekundärantikörper

- biotinylierter anti-Sheep – Antikörper
- eingesetzte Konzentration 1:500

ABB. 1 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG PLAZENTARER STRUKTUREN DES KLIPPSCHLIEFERS (PROCAVIA CAPENSIS) DIE ALLANTOIS WIRD DURCH SEPTENBILDUNG IN VIER KAMMERN GETEILT (NACH WISLOCKI 1930, CARTER U. ENDERS 2004).....	- 8 -
ABB. 2 ZONEN DES PLAZENTAGÜRTELS (NACH AMOROSO U. PERRY 1964).....	- 11 -
ABB. 3 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES GENITALTRAKTS VON A) PFERD UND B) ELEFANT (NACH ALLEN ET AL. 2003B)	- 16 -
ABB. 4 DER QUERSCHNITT DURCH DEN TRÄCHTIGEN UTERUS (GRAU) ZEIGT DIE RÄUMLICHE ORIENTIERUNG DER BLASTOZYZE (ROT) WÄHREND DER ZENTRALEN IMPLANTATION. DIE KEIMSCHIBE IST DER SCHLEIMHAUTSEITENFALTE ZUGEWANDT.	- 17 -
ABB. 5 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER MORPHOLOGISCHEN VERÄNDERUNGEN WÄHREND DER BILDUNG DER GÜRTELPLAZENTA BEIM ELEFANTEN (NACH ALLEN ET AL. 2003B).....	- 19 -
ABB. 6 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER GÜRTELPLAZENTA DES ELEFANTEN MIT EINER ÜBERSICHT ZUR DARSTELLUNG DER STELLEN DER PROBENENTNAHME. VERGLEICHE AUCH ABB. 8. DIE MAKROSKOPISCHE FOTOGRAFIE ENTSPRICHT DER SCHEMATISCHEN DARSTELLUNG DER ZIRKUMFERENZ DES PLAZENTAGÜRTELS.....	- 29 -
ABB. 7 DARSTELLUNG DES PROBENBESATZES DER OBJEKTTRÄGER	- 31 -
ABB. 8 DIE NABELSCHNUR (PFEIL) ZWEIGT SICH IN VIER GEFÄßSTRÄNGE (STERNE) AUF UND STÜLT DIE ALLANTOISMEMBRAN EIN, WODURCH SICH VIER ALLANTOISKAMMERN FORMEN, WELCHEN GEBURTSBEDINGT NICHT MEHR INTAKT SIND.	- 36 -
ABB. 9 NABELGEFÄßE DES NABELSTRANGES. DIE VENA UMBILICALIS (PFEIL) ZWEIGT SICH IN DAS ERSTE VENENPAAR AUF. AA. UMBILICALES ZEICHNEN SICH DURCH EINE SRÄRKERE GEFÄßWAND AUS.	- 36 -
ABB. 10 EINBLICK IN DIE ERÖFFNETEN FRUCHTHÜLLEN. ALLANTOISMEMBRANEN (ALL) FORMEN VIER ALLANTOISKAMMERN. VERSUCH DER REKONSTRUKTION EINER ALLANTOISKAMMER. AM ALLANTOCHORION (ALL-CHR) SIND „NARBENZUGÄHNLICHE“ BILDUNGEN DEUTLICH ZU ERKENNEN (PFEILE).....	- 37 -
ABB. 11 REKONSTRUKTIONSVERSUCH EINER UNTER DER GEBURT ZERRISSENEN ALLANTOISKAMMER. GUT SICHTBAR IST DER HOHE GRAD AN VASKULARISATION DER ALLANTOISMEMBRANEN.....	- 37 -
ABB. 12 NARBENZUGÄHNLICHE BILDUNGEN DER ALLANTOIS AUF DER FETALEN SEITE DES ALLANTOCHORIONS (PFEILE). DIE GEFÄßE DES ALLANTOCHORIONS HABEN EINE BLAULILA FARBE UND SIND DEUTLICH VOM UMLIEGENDEN GEWEBE ZU UNTERSCHIEDEN.	- 38 -
ABB. 13 ALLANTOIS MIT HOCHPRISMATISCHEM EPITHEL UND ZELLPROTRUSIONEN. DIE BASALMEMBRAN IST DEUTLICH DARGESTELLT UND GRENZT DAS EPITHEL VOM DARUNTER LIEGENDEN KOLLAGENEN BINDEGEWEBE AB. (E3 ,HE)	- 40 -
ABB. 14 ALLANTOISEPITHEL MIT HOCHPRISMATISCHEM UND IN EINIGEN BEREICHEN ZWEIREIHIGEM ERSCHEINUNGSBILD. ZELLPROTRUSIONEN MIT APIKAL GELEGENEN ZELLKERNEN (E4, HE, DIC).....	- 40 -
ABB. 15 GESTIELTE ALLANTOISEPITHELZELLE (PFEIL). DER ZELLKERN IST IN DIE PROTRUSION EINBEZOGEN. DANEBEN SIND ZELLEN MIT ABGELÖSTEN PROTRUSIONEN DARGESTELLT. (E4, HE, DIC).....	- 41 -
ABB. 16 NARBENZUGÄHNLICHE BINDEGEWEBSVERDICKUNG. DAS ALLANTOISEPITHEL IST UNTERBROCHEN (PFEILE). KAPILLAREN UNTERLAGERN DAS BINDEGEWEBSKISSEN (STERNE), (E1, TRICHROM-MASSON-GOLDNER-FÄRBUNG).....	- 41 -
ABB. 17 ALLANTOISEPITHELZELLEN MIT LICHTMIKROSKOPISCH DEUTLICH DARSTELLBAREN DURCH MIKROVILLI GEBILDETEN BÜRSTENSAUM (PFEILE). DAS EPITHEL IST LEICHT HORONZITAL ANGESCHNITTEN, WODURCH DER FALSCH EINDRUCK EINER MEHRSCHICHTUNG DES EPITHEL (LINKE BILDSEITE) UND LANGER MIKROVILLI (RECHTS UNTER DEN ZWEI PFEILEN) ENTSTEHT (E4, HE, DIC).	- 42 -
ABB. 18 HOCHPRISMATISCHES ALLANTOISEPITHEL. KORRESPONDENZ ZWISCHEN LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN BEFUNDEN (E3, HE).....	- 44 -
ABB. 19 HOCHPRISMATISCHES ALLANTOISEPITHEL MIT SUBEPITHELIALEN BINDEGEWEBSFASERN. AUFSICHT AUF EINE GEWEBSBRUCHFLÄCHE (E2, REM).....	- 44 -
ABB. 20 ÜBERSICHT AUF DAS ALLANTOISEPITHEL. DIE KOPFSTEINPFLASTERARTIGE ALLANTOISEPITHELOBERFLÄCHE UND ZELLOBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN. (E2, REM) -	45 -
ABB. 21 ALLANTOISZOTTEN MIT VERSTRICHENEN ZELL-ZELL-GRENZEN (STERNE). GESTIELTE EPITHELZELLE (PFEIL) (E4, REM).....	- 45 -

ABB. 22 KOPFSTEINPFLASTERARTIGE EPITHELOBERFLÄCHE MIT UNTERSCHIEDLICH HOHEN ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN (STERN) UND DEUTLICHEN ZELL-ZELL-GRENZEN (PFEILE) (E3, REM)	- 46 -
ABB. 23 DETAIL AUS ABB. 22. OBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN SIND BIS IN DIE TIEFE DER INTERZELLULARSPALTEN ZU VERFOLGEN. AN KONTAKTSTELLEN BENACHBARTER ZELLEN SIND ZELLGRENZEN (PFEILE), ALS ZELLOBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN SIND MIKROPLICA E UND MIKROVILLI (PFEILKÖPFE) DEUTLICH NACHZUVOLLZIEHEN. (E3, REM)	- 46 -
ABB. 24 ZELL-ZELL-KONTAKTE DES ALLANTOISEPITHEL SIND IN FORM VON ZONULAE ADHAERENTES UND VEREINZELTEN DESMOSOMEN (PFEILE) DARSTELLBAR. IM ZYTOPLASMA SIND MULTIVESICULAR BODIES (PFEILKÖPFE) VON APIKALER BIS BASALER ZELLMEMBRAN SOWIE DENSE BODIES (STERN) NACHVOLLZIEHBAR. (E2, TEM, X1200).....	- 47 -
ABB. 25 QUERANSCHNITT BENACHBARTER EPITHELZELLEN, ZELL-ZELL-KONTAKTE IN FORM VON DESMOSOMEN (PFEILE) UND ZELLMEMBRANINVAGINATIONEN (RECHTS OBEN). MULTIVESIKULAR BODIES SIND IM ZYTOPLASMA SOWIE BEIM ZELLMEMBRANDURCHTRITT ZU BEOBACHTEN (PFEILKÖPFE). (E2, TEM, X1600).....	- 47 -
ABB. 26 GESTIELTE ALLANTOISEPITHELZELLE, KORRESPONDENZ ZWISCHEN LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN BEFUNDEN. DIE ZELLPROTRUSION ENTHÄLT DEN ZELLKERN. (E4, HE, DIC)	- 48 -
ABB. 27 ALLANTOISEPITHEL DES ALLANTOCHORIONS. OBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN (MIKROPLICA E UND MIKROVILLI) SIND AUF DER GESAMTEN GESTIELTEN ZELLPROTRUSION NACHVOLLZIEHBAR. VERLUST DER OBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN SOWIE BLINDSACKARTIGE ZYTOPLASMAAUSSTÜLPUNGEN SIND AUF EINIGEN EPITHELZELLEN ZU ERKENNEN. (E4, REM).....	- 48 -
ABB. 28 ZELLPROTRUSION UND ABGERISSENER ALLANTOISEPITHELZELLSTIEL. EIN ERYTHROZYT LIEGT ZWISCHEN ZWEI BENACHBARTEN EPITHELZELLEN. (E2, REM).....	- 49 -
ABB. 29 AMNIONMEMBRAN. DAS UNGEORDNETE BINDEGEWEBE SCHLIEßT GRÖßERE GEFÄßE EIN UND IST BEIDERSEITS MIT EINEM EINSCHICHTIGEN, ISO- BIS HOCHPRIMATISCHEN EPITHEL BEKLEIDET. (E4, HE).....	- 52 -
ABB. 30 ISOPRISMATISCHES AMNIONEPITHEL. DIE OBERFLÄCHE ERSCHEINT KOPFSTEINPFLASTERARTIG. UNTER DEM EPITHEL LIEGT UNGEORDNETES KOLLAGENES BINDEGEWEBE MIT KAPILLAREN UND FIBROBLASTEN. (E2, HE).....	- 53 -
ABB. 31 AMNIONEPITHEL MIT APIKALEN ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN (E3, HE, DIC).....	- 53 -
ABB. 32 KOPFSTEINPFLASTERARTIGE EPITHELOBERFLÄCHE. INTERZELLULARSPALTEN SIND SEHR WEIT. VEREINZELT LIEGT NICHT ZUM EPITHEL GEHÖRIGES MATERIAL AUF DER OBERFLÄCHE. (E3, REM)	- 54 -
ABB. 33 OBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN – MIKROPLICA E, ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN, ABGELÖSTE, WALLFÖRMIGE PROTRUSIONSMEMBRAN (PFEILE) (E3, REM).....	- 54 -
ABB. 34 ÜBERSICHTSAUFNAHME DER AMNIONMEMBRAN. ISOPRISMATISCHES EPITHEL MIT ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN SITZT KOLLAGENEM BINDEGEWEBE AUF. (E3, REM).....	- 55 -
ABB. 35 DETAIL AUS ABB. 34. RELIEF EINER AUFGEBROCHENE AMNIONEPITHELZELLE, MIT FREILIEGENDEM NUKLEUS UND ZYTOPLASMATISCHEN EINDRÜCKEN VON ZELLORGANELLEN. (E3, REM)	- 55 -
ABB. 36 LICHTMIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG VON ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN AM AMNIONEPITHEL, KORRESPONDIEREND ZU ABB. 38 (E3, HE, DIC)	- 56 -
ABB. 37 BACKPFLAUMENARTIGE ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN OHNE OBERFLÄCHENMODIFIKATIONEN. AN DER BRUCHKANTE LINKS IM BILD IST EINE AUFGEBROCHENE EPITHELZELLE MIT DARGESTELTEM NUKLEUS, NUKLEOLUS SOWIE ZELLORGANELLEN ZU ERKENNEN. (DETAIL SIEHE ABB. 41) (E3, REM).....	- 56 -
ABB. 38 EPITHELOBERFLÄCHE MIT EINGESENKTER EPITHELREGION. ZELLEN UNTERHALB DES NORMALEN EPITHELNIVEAUS ZEIGEN DEUTLICH MEHR SUPRAEPITHELIALE STRUKTUREN. (E3, REM)	- 57 -
ABB. 39 DETAIL AUS ABB. 38. BACKPFLAUMENARTIGE ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN, MIKROVILLI, FILIFORME ZYTOPLASMAFORTSÄTZE MIT AUFGETRIEBENEN ENDEN, DIE ZUM TEIL FREI DEM EPITHEL AUFLIEGEN (E3, REM)	- 57 -
ABB. 40 AUFGEBROCHENE ZELLE MIT HERAUS GEBROCHENEM ZELLKERN. TUBULÄRE IMPRESSIONEN DES ENDOPLASMATISCHEN RETIKULUMS (PFEILSPITZEN), BASALMEMBRAN (PFEILE) (E3, REM)	- 58 -
ABB. 41 DETAIL ZU ABB. 37. IN DER AUFGEBROCHENEN ZELLE MIT AUFGEBROCHENEM ZELLKERN UND KERNKÖRPERCHEN (STERN) SIND ZELLORGANELLEN UND DEREN	

- ZYTOPLASMATISCHEN IMPRESSIONEN (PFEILE) SOWIE ZELL-ZELLGRENZEN (PFEILSPITZEN) ZU ERKENNEN. (E3, REM)..... - 58 -
- ABB. 42 PLAZENTA AUF DEM QUERUMFANG DES GÜRTELS (PFEIL) LIEGEND. EXTRAPLAZENTARES ALLANTOCHORION IN FORM DES ALLANTOCHORIONSACKE, IST AUSGEBREITET UND ZEIGT REGIONEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN OBERFLÄCHEN (A, B). AM ÜBERGANG ZWISCHEN GÜRTEL UND CHORION LAEVE IST DIE EXTRAVASATZONE SICHTBAR (STERN). - 60 -
- ABB. 43 GRANULÄRE BIS PLAQUEARTIGE, OBERFLÄCHENERHABENE AUFLAGERUNGEN AUF DEM CHORION (PFEILE). DEUTLICH ZU ERKENNEN IST DIE UNTERSCHIEDLICHE GEWEBECHARAKTERISTIK IM VERGLEICH MIT BILD B..... - 60 -
- ABB. 44 FLÄCHIGE AUSDEHNUNG SAMTARTIGER CHORIONBEREICHE (STERNE), DAZWISCHEN EIHAUTARTIGE, GLATTE BEREICHE..... - 61 -
- ABB. 45 PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION. CHORIONEPITHEL IST ZUM TEIL ABGELÖST (PFEILSPITZEN). ZUSAMMENHÄNGENDE EPITHELVERBÄNDE SIND NUR NOCH SEHR VEREINZELT VORHANDEN. ALLANTOIS MIT ZYTOPLASMAPROTRUSIONEN. (E4, HE).... - 64 -
- ABB. 46 VORWIEGEND EPITHELLOSE CHORIONOBERFÄCHE. AN MECHANISCH GESCHÜTZTEN STELLEN SIND NOCH EPITHELINSELN DARSTELLBAR, HIER IN EINER VERTIEFUNG DER CHORIONOBERFÄCHE. KORRESPONDIEREND ZU ABB. 47 (E4, HE)..... - 64 -
- ABB. 47 CHORIONZOTTEN (CZ) MIT SCHLANKER ZOTTENMORPHOLOGIE. AUF DER GEGENÜBERLIEGENDEN SEITE IST DAS ALLANTOCHORION MIT ALLANTOISEPITHEL BEKLEIDET. (E2, HE)..... - 65 -
- ABB. 48 ÜBERSICHT AUF DIE OBERFLÄCHE DES CHORION. CHORIONZOTTEN (PFEIL) SIND ZUM TEIL IN DETRITUS (STERN) EINGESCHLOSSEN. KORRESPONDENZ ZU ABB. 49 (E4, REM). - 65 -
- ABB. 49 STARK VASKULARISIERTE, PLUMPE CHORIONZOTTEN, EINGEBETTET IN AMORPHES MATERIAL UND ZELLDETRITUS. DER TROPHOBLAST (TB) IST IN VIELEN BEREICHEN VON BASALMEMBRAN UND ZOTTENSTOCK ABGELÖST. DIE GEGENÜBERLIEGENDE MEMBRANOBERFLÄCHE WIRD VON ALLANTOISEPITHEL BEKLEIDET. (E3, HE)..... - 66 -
- ABB. 50 HOCHPRISMATISCHER BIS STARK ABGEFLACHTER ZYTOTROPHOBLAST (TB) MIT INTRAEPITHELIALEN KAPILLAREN. FETALE KAPILLAREN (FKAP) DRÄNGEN DICHT UNTER UND ZWISCHEN DAS TROPHOBLASTEPITHEL. (E3, HE)..... - 66 -
- ABB. 51 UNVERZWEIGTE MIKROZOTTEN MIT ABGELÖSTEM TROPHOBLASTEN. MIKROZOTTEN WEISEN EINEN HOHEN GRAD AN VASKULARISATION AUF (FETALE KAPILLAREN GEKENNZEICHNET MIT STERN). DAS UNTENLIEGENDE ALLANTOISEPITHEL ZEIGT ZAHLREICHE GESTIELTE ZELLEN. (E2, HE)..... - 67 -
- ABB. 52 UNVERZWEIGTE MIKROZOTTE MIT FAST VOLLSTÄNDIG ABGELÖSTEM TROPHOBLAST (TB) (E4, REM)..... - 67 -
- ABB. 53 DETAIL AUS ABB. 52. DIE ZELLOBERFLÄCHE DES ZYTOTROPHOBLASTEN WEIST MIKROPLICA E UND MIKROVILLI AUF. DIE TROPHOBLASTZELLEN SIND UNTERSCHIEDLICH STARK IN AMORPHE SUBSTANZ (DETRITUS) EINGEBETTET. (E4, REM) - 68 -
- ABB. 54 INTRAEPITHELIALE KAPILLAREN (FKAP) IM BEREICH DES TROPHOBLASTEN (PFEILE) AN DER BASIS EINER EXTRAPLAZENTAREN CHORIONZOTTE. (E2, HE)..... - 68 -
- ABB. 55 EINE FETALE KAPILLARE (FKAP) DRÄNGT AUS DEM BINDEGEWEBE DES EXTRAPLAZENTAREN ALLANTOCHORIONS ZWISCHEN DEN ZYTOTROPHOBLASTEN (TB). EOSINOPHILE, AMORPHE MASSEN (STERN) SIND BESTANDTEIL DER MAKROSKOPISCH BESCHRIEBENEN AUFLAGERUNGEN. (E2, TRICHRUM MASSON-GOLDNER FÄRBUNG).... - 69 -
- ABB. 56 DARSTELLUNG DER BASALMEMBRAN (PFEIL) IM BEREICH EINER CHORIONPUSTEL (CP). DEUTLICH ERKENNBAR IST DER KONTINUITÄTSVERLUST DER BASALMEMBRAN UNTERHALB DER AUFLAGERUNGEN (STERNE). (E2, PAS – FÄRBUNG) - 69 -
- ABB. 57 CHORIONPUSTEL (CP) AUF DEM PARAPLAZENTAREN CHORION (ALL-CHR). IM BASALEN ABSCHNITT SIND MITOSEFIGUREN (PFEIL) IN TROPHOBLASTZELLEN (TB) ZU ERKENNEN. (E2, HE) - 70 -
- ABB. 58 MITOSEFIGUR (PFEIL) EINER TROPHOBLASTZELLE AN DER BASIS EINER CHORIONPUSTEL. (E2, HE) - 70 -
- ABB. 59 CHORIONZOTTEN (PFEILE) AUF DER OBERFLÄCHE DER EPITHELLOSEN CHORIONPLATTE, SOWIE IN DETRITUS EINGEBETTETE TROPHOBLASTZELLEN (STERN) (E3, REM) - 73 -
- ABB. 60 CHORION MIT NAHEZU VOLLSTÄNDIG ABGELÖSTEM TROPHOBLAST. ES SIND NUR NOCH VEREINZELTE EPITHELZELLEN DARSTELLBAR (PFEILKÖPFE). UNTER DER FREILIEGENDEN BASALLAMINA STELLEN SICH DEUTLICH KAPILLÄRE GEFÄßE MIT DARIN ENTHALTENEN ERYTHROZYTEN DAR (PFEILE). (E3, REM) - 73 -

- ABB. 61 TROPHOBLASTZELLEN (TB) MIT VAKUOLÄREN ZYTOPLASMAEINSCHLÜSSEN (PFEILE) UND MIKROVILLI (STERNE) ALS OBERFLÄCHENMODIFIKATION. INTERZELLULARRÄUME ZWISCHEN DEN EPITHELZELLEN (E1, TEM)..... - 74 -
- ABB. 62 FIBROZYT (FZ) UND MAKROPHAGE (STERN) MIT GROBEM ZELLKERN (ZK) IM BINDEGEWEBESSTROMA DES ALLANTOCHORIONS (E1, TEM)..... - 74 -
- ABB. 63 AUFSICHT AUF DEN GÜRTEL UND DAS EXTRAPLAZENTARE ALLANTOCHORION. DER GÜRTEL WIRD IN SEINER BREITE (PFEILKÖPFE) VON DER EVZ (STERNE) EINGEGRENZT. DER NABELSTRANG (PFEIL) RAGT AUS DER ERÖFFNETEN FRUCHTHÜLLE. - 76 -
- ABB. 64 MARKANTER ÜBERGANG ZWISCHEN DISTALEM UND PROXIMALEM ABSCHNITT DES PLAZENTARGÜRTELS. IM AUFGELOCKERTEN, DISTALEN DRITTEL STELLEN SICH PLASMAINSUDATIONEN (STERNE) ZWISCHEN DEN PLAZENTARLAMELLEN (PFEILE) DAR. (E1, HE)..... - 78 -
- ABB. 65 UNTERSCHIEDLICHE BASALLAMINAMORPHOLOGIE IM DISTALEN UND PROXIMALEN ABSCHNITT. PROXIMAL (UNTERE BILDABSCHNITT) IST DIE VERDICKUNG DER BASALMEMBRANEN DER MATERNALEN BLUTGEFÄßE DEUTLICH ERKENNBAR. (E2, PAS-FÄRBUNG, KORRESPONDIEREND ZU ABB. 72) - 79 -
- ABB. 66 DETAIL AUS ABB. 73. DIE VERDICKTEN BASALMEMBRANEN DER MATERNALEN GEFÄßE (MKAP) SIND KRÄFTIG ANGEFÄRBT. IM VERGLEICH DAZU DIE DEUTLICH SCHMALEREN BASALLAMINAE DER FETALEN GEFÄßE (STERN). (E2, PAS) - 79 -
- ABB. 67 FETALE LABYRINTHLAMELLE IM PROXIMALEN GÜRTELBEREICH MIT BINDEGEWEBSZELLEN (STERNE). DIE FETALEN KAPILLAREN (FKAP) LEGEN SICH UNTERSCHIEDLICH DICHT AN UND ZWISCHEN DEN ZYTOTROPHOBLAST (TB). (E3, HE). - 80 -
- ABB. 68 TROPHOBLASTLAMELLE (TBL) IM BEREICH DES DISTALEN GÜRTELBEREICHES. SIE WIRD UMLAGERT VON PLASMAINSUDATIONEN (STERNE). (E3, HE)..... - 80 -
- ABB. 69 EINFACHE, FILIGRANE ZOTTE IM BEREICH DER CHORIONGÜRTELOBERFLÄCHE. DAS EPITHEL IST NAHEZU VOLLSTÄNDIG ABGELÖST. EINZELNE EPITHELZELLEN SIND IN DETRITUS EINGESCHLOSSEN. (E4, REM)..... - 83 -
- ABB. 70 DETAIL AUS ABB. 69. CHORIONEPITHELZELLEN SIND MIT DETRITUS BEDECKT. (E4, REM) - 83 -
- ABB. 71 PLAZENTARLABYRINTH AUS DEM DISTALEN GÜRTELBEREICH. DEUTLICH ERKENNBAR DIE AUFGELOCKERTE STRUKTUR. AUS DEN RÄUMEN ZWISCHEN DEN PLAZENTARLAMELLEN IST DAS MATERNALE BLUT PRÄPARATIONSBEDINGT HERAUS GEWASCHEN. (E4, REM) - 84 -
- ABB. 72 PLAZENTARLABYRINTH AUS DEM PROXIMALEN GÜRTELBEREICH. DIE PLAZENTARLAMELLEN UND MATERNALEN GEFÄßE LIEGEN SEHR VIEL DICHTER, VERGlichen MIT DEM DISTALEN BEREICH (ABB. 84) (E3, REM)..... - 84 -
- ABB. 73 DIE MATERNALE GEFÄßBASALLAMINA IST DEUTLICH ALS VERDICKTE MEMBRAN ZU CHARAKTERISIEREN. FETALE KAPILLAREN (FKAP) DRÄNGEN ZWISCHEN DIE TROPHOBLASTZELLEN (TB). IM MATERNALEN GEFÄß (MKAP) SIND ZWEI EOSINOPHILE MONONUKLEÄRE ZELLEN DARGESTELLT (STERNE), DIE WAHRSCHEINLICH ALS JUNGE EOSINOPHILE GRANULOZYTEN ANGESPROCHEN WERDEN KÖNNEN (E3, HE)..... - 85 -
- ABB. 74 MATERNALES GEFÄß IM PROXIMALEN GÜRTELABSCHNITT. DAS GEFÄß WIRD UMSCHLOSSEN VON EINER VERDICKTEN BASALLAMINA, DARAN ANGRENZENDEN TROPHOBLASTEPITHELZELLEN UND FETALEN KAPILLAREN. KORRESPONDENZ ZU ABB. 86 (E3, HE)..... - 85 -
- ABB. 75 PLAZENTARSCHRANKE (PFEILE). KORRESPONDIERENDE LICHTMIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG ZU ABB. 89 (E3, HE) - 86 -
- ABB. 76 PLAZENTARSCHRANKE. MATERNALES UND FETALES GEFÄß WERDEN VOM TROPHOBLASTÄREM ZYTOPLASMA SAUM GETRENNT. AN DER GEFÄßWAND DES MÜTTERLICHEN GEFÄßES (MKAP) MIT DER VERDICKTEN BASALLAMINA (PFEILE) IST EINE ENDOTHELZELLE (EZ) DARGETELT. DIE ZELLGRENZEN ZWISCHEN ZWEI TROPHOBLASTZELLEN SIND DEUTLICH DARGESTELLT (STERN). (E3, REM)..... - 86 -
- ABB. 77 MATERNALE KAPILLARE (MKAP) MIT VERDICKTER BASALLAMINA. IN DER ANGRENZENDEN TROPHOBLASTEPITHELZELLE IST DER TROPHOBLASTZELLKERN (ZK) MIT NUKLEOLUS DEUTLICH ZU ERKENNEN. DAS ZYTOPLASMA ENTHÄLT VAKUOLÄRE VESIKEL. ANGRENZEND LIEGT DAS FETALE BINDEGEWEBE (FBG). (E1, TEM)..... - 87 -
- ABB. 78 EXTRAVASATZONE (ZWISCHEN DEN PFEILENKÖPFEN) FLANKIERT DEN PLAZENTARGÜRTEL UND IST FREI VON CHORIONZOTTEN UND GRENZT AN DAS EXTRAPLAZENTARE ALLANTOCHORION. - 88 -
- ABB. 79 PLAZENTARLABYRINTH IM BEREICH DER EXTRAVASATZONE. BLUTLAKUNEN (STERN) DRÄNGEN DIE PLAZENTARLAMELLEN AUSEINANDER. - 91 -

ABB. 80 DAS FETALE BINDEGEWEBE DER PLAZENTARLAMELLEN IST GRÜN GEFÄRBT UND SCHLIEßT FETALE KAPILLAREN (PFEILKÖPFE) EIN. DIE EINBLUTUNGEN (STERNE) STELLEN SICH ROT DAR. KORRESPONDIEREND ZU ABB. 90 (E1, TRICHROM MASSON-GOLDNER FÄRBUNG).....	- 91 -
ABB. 81 ÜBERSICHT DER OBERFLÄCHE DER EXTRAVASATZONE. DIE LABYRINTHLAMELLEN (PFEILE) WERDEN VON FREIEM BLUT IN BLUTLAKUNEN UND PLASMAINSUDATIONEN UMSCHLOSSEN (STERNE). (E3, REM).....	- 92 -
ABB. 82 CHROMAFFINE ABLAGERUNGEN (GRÜN-BRAUNE FÄRBUNG) SIND IN DAS ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN EINGELAGERT. (E4, HE, DIC)	- 92 -
ABB. 83 TROPHOBLASTEPITHEL IM BEREICH EINER PLAZENTARLAMELLE ODER CHORIONSEPTE (CS). DAS ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLE (STERN) IST STARK VAKUOLISIERT. FREIE ERYTHROZYTEN LIEGEN ARTIFIZIELL, PRÄPARATIONSBEDINGT AUF DER GEWEBEOBERFLÄCHE. (E3, REM).....	- 93 -
ABB. 84 DETAIL AUS ABB. 83. TROPHOBLASTEPITHELZELLE MIT STARK VAKUOLISIERTEM ZYTOPLASMA UND DEUTLICHEM ZELLKERN (ZK). MIT STERN GEKENNZEICHNET SIND ZWEI ERYTHROZYTEN. (E3, REM).....	- 94 -
ABB. 85 ALLANTOISEPITHEL, PLAP – IMMUNHISTOCHEMIE. GUT SICHTBAR SIND GRANULÄRE, INTRAZYTOPLASMATISCHE REAKTIONSPRÄZIPITATE (PFEILE). (E1, METHYLENBLAUFÄRBUNG).....	- 95 -
ABB. 86 POSITIVKONTROLLE AN DER HUMANEN PLAZENTAPROBE, PLAP – IMMUNHISTOCHEMIE. DIE REAKTIONSPRÄZIPITATE KONZENTRIEREN SICH AUF DEN APIKALEN ZELLBEREICH.	- 95 -
ABB. 87 PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION, PLAP – IMMUNHISTOCHEMIE IM BEREICH EINER QUER GESCHNITTENEN CHORIONZOTTE (FBG). DIE POSITIVEN PRÄZIPITATE (PFEIL) LIEGEN GRANULÄR IM ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN (TB). (E2).....	- 96 -
ABB. 88 PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION, OHNE PRIMÄRANTIKÖRPER, MIT MILCHPROTEIN INKUBIERTE NEGATIVKONTROLLE IM KORRESPONDIERENDEN SCHNITT. DER SPALTRAUM ZWISCHEN TROPHOBLAST UND FETALEN BINDEGEWEBE IST ARTIFIZIELL PRÄPARATIONSBEDINGT ERWEITERT. (E2)	- 96 -
ABB. 89 PLAZENTARES ALLANTOCHORION, PLAP – IMMUNHISTOCHEMIE. DIE GRANULÄREN REAKTIONSPRÄZIPITATE LIEGEN IM ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN (PFEILE). (E2).....	- 97 -
ABB. 90 PLAZENTARES ALLANTOCHORION, MIT MILCHPROTEIN INKUBIERTE NEGATIVKONTROLLE IN KORRESPONDIERENDEM SCHNITT (E2).....	- 97 -
ABB. 91 EVZ, PLAP – IMMUNHISTOCHEMIE. GRANULÄRE REAKTIONSPRÄZIPITATE IM ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN. (E2).....	- 98 -
ABB. 92 PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION, HCG – IMMUNHISTOCHEMIE. DIE POSITIVEN REAKTIONSPRÄZIPITATE IN DEN TROPHOBLASTZELLEN SIND BRAUN ANGEFÄRBT (PFEILE). (E2)	- 99 -
ABB. 93 PARAPLAZENTARES ALLANTOCHORION, OHNE PRIMÄRANTIKÖRPER, MIT MILCHPROTEIN INKUBIERTE NEGATIVKONTROLLE IM KORRESPONDIERENDEN SCHNITT (E2).....	- 99 -
ABB. 94 PLAZENTARES ALLANTOCHORION, HCG – IMMUNHISTOCHEMIE IM BEREICH EINER FETALEN LABYRINTHLAMELLE (BG). DIE POSITIVEN REAKTIONSPRÄZIPITATE VON BRAUNER FÄRBUNG LIEGEN IM ZYTOPLASMA DES TROPHOBLASTEN. EINE FARBREAKTION IST AUCH PERINUKLEÄR SOWIE NUKLEÄR ZU ERKENNEN. (E2)	- 100 -
ABB. 95 PLAZENTARES ALLANTOCHORION, OHNE PRIMÄRANTIGEN, MIT MILCHPROTEIN INKUBIERTE NEGATIVKONTROLLE IM KORRESPONDIERENDEN SCHNITT (E2).....	- 100 -
ABB. 96 PLAZENTARES ALLANTOCHORION, HCG – IMMUNHISTOCHEMIE. DIE GRANULÄREN REAKTIONSPRÄZIPITATE LIEGEN IM ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN (PFEILE) SOWIE PERINUKLEÄR. (E1).....	- 101 -
ABB. 97 EVZ, HCG – IMMUNHISTOCHEMIE. POSITIVE FARBREAKTION SIND IM ZYTOPLASMA, PERINUKLEÄR UND NUKLEÄR DARGESTELLT. (E1).....	- 101 -
ABB. 98 POSITIVKONTROLLE AN DER HUMANEN PLAZENTAPROBE, HCG – IMMUNHISTOCHEMIE. ES IST EINE DEUTLICHE FARBREAKTION IM ZYTOPLASMA DER TROPHOBLASTZELLEN ZU ERKENNEN.....	- 102 -

TAB. 1 KLASSIFIKATIONSMÖGLICHKEITEN DER PLAZENTEN (MODIFIZIERT NACH AMOROSO 1952, FINN ET AL. 1994, SCHNORR U. KRESSIN 2006)	- 5 -
TAB. 2 EIGENSCHAFTEN DER PLAZENTATION DER ÜBERORDNUNG DER AFROTHERIA (NACH CARTER ET AL. 2004B)	- 21 -
TAB. 3 VARIATIONEN DES TROPHOBLASTEN IM BEREICH DER PLAZENTARSCHRANKE DER CHOROALLANTOIDEN PLAZENTA (NACH CARTER U. ENDERS 2004).....	- 22 -
TAB. 4 ZU ERWARTENDE REAKTIONSMUSTER DER VERWENDETEN ANTIKÖRPER (KRAFT U. DÜRR 1999).....	- 31 -
TAB. 5 GRADUELLE EINTEILUNG DER QUANTITATIVEN SCHÄTZUNG DER ANTIGEN EXPRIMIERENDEN ZELLEN	- 32 -
TAB. 6 ANGABEN ZUR GEBURT UND ZU DEN PLAZENTEN	- 34 -
TAB. 7 AUSMAßE DES PLAZENTARGÜRTELS DER BEIDEN ELEFANTENPLAZENTEN E1 UND E2, DIE LÄNGENANGABEN SIND GERUNDET UND BEZIEHEN SICH AUF DEN FIXIERTEN ZUSTAND	- 75 -

Ich danke Prof. Dr. med. vet. habil. Johannes Seeger für die Überlassung des Dissertationsthemas. Er gab mir die die Möglichkeit, Erfahrungen und Fähigkeiten im wissenschaftlichen Arbeiten zu erlangen und war ein unentbehrlicher Ansprechpartner und hilfreicher Betreuer. Ganz besonders möchte ich ihm für sein Verständnis und sein außerordentliches Engagement in der Zeit der Fertigstellung der Dissertationsschrift danken. Mein Dank gebührt außerdem **Dr. med. vet. Anke Hoffmann**, die mir mit ihrer Erfahrung bei der Erarbeitung der methodischen Grundlagen hilfreich zur Seite stand. Ihre konstruktiven und kritischen Anregungen und Vorschläge bei der Auswertung und der Diskussion der Ergebnisse waren stets eine verlässliche Hilfestellung.

An dieser Stelle möchte ich auch den Mitarbeitern des Veterinär-Anatomischen Instituts für die kooperative und freundschaftliche Mitarbeit im Rahmen meiner Arbeit danken. Sie waren mit ihren Erfahrungen eine große Hilfe und Unterstützung.

Das Arbeiten an den elektronenmikroskopischen Mikroskopen konnte oftmals nur durch die Zusammenarbeit mit **Dr. rer. nat. habil. Johannes Kacza** möglich gemacht werden. Seine Kenntnisse zu technischen Fragestellungen waren unverzichtbar.

Mein Dank gilt weiterhin den Mitarbeitern des histologischen Labors. Für ihre praktische Hilfe und für die zuverlässige Zusammenarbeit bei der Anfertigung dieser Dissertation möchte ich **Gabriele Lindner** danken.

Letztlich war die Arbeit nur auf Grundlage der guten Zusammenarbeit mit den Zootierärzten **Dr. med. vet. Michael Flügger** und **Prof. Dr. med. vet. habil. K. Eulenberger** möglich.

Mein ganz persönlicher Dank gilt all den Frauen meiner Familie, die mich immer wieder zur Erarbeitung und Fertigstellung dieser Arbeit ermutigten. Das dem Vorhaben und meiner Arbeit entgegenbrachte Verständnis und nicht zuletzt die materielle Unterstützung gaben mir die Möglichkeit, die Dissertationsarbeit anzufertigen und zu beenden.

Erreicht zu haben, den letzten Satz unter meine Dissertationsschrift zuschreiben, verdanke ich meiner Mutter **Ingrid Loderstedt** und meiner Freundin **Nicole Kramer**. - Danke!