

Der bovine Eileiter als temporäres in vivo Kultursystem für Eizellen und Embryonen aus in vitro Produktion

M. HÖLKER¹, U. BESENFELDER², V. HAVLICEK², F. RINGS¹, M. GILLES¹,
D. TESFAYE¹, D. JENNEN¹, E. THOLEN¹, J. GRIESE¹, U. JANNOWITZ³
und K. SCHELLANDER¹

¹ *Institut für Tierwissenschaften, Universität Bonn, Endenicher Allee 15, 53115 Bonn*

² *Institut für Tierzucht und Genetik, Tierärztliche Universität, A-1210 Wien, Austria*

³ *Rinder-Union West, Vardingholterstraße 21, 46325 Borken.*

Die IVP (In vitro Produktion) von Rinderembryonen besitzt ein enormes Potential für Landwirtschaft, Tierzucht und Forschung, doch ihr Einsatz ist noch immer mit Problemen behaftet da so erzeugte Rinderembryonen quantitativ und qualitativ nicht an die Entwicklung ex vivo gewonnener Embryonen heranreichen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb zu untersuchen ob eine temporäre In vivo Kultur im bovinen Eileiter das Entwicklungspotential von befruchtungsfähigen Eizellen aus der IVM (In vitro Maturation) und von frühen Embryonen aus der IVP (Embryonen im 8-Zell-Stadium) positiv beeinflusst. Zu diesem Zweck wurden in einem ersten Versuch 758 Embryonen aus der IVP im 8-Zell-Stadium mittels endoskopisch geleitetem Embryo Transfer unblutig in die Eileiter von 15 zyklussynchronen Rindern transferiert (43-59 Embryonen pro Tier), um sie an Tag 7 rückzuspülen und für weitere 24h in Kulturmedium (CR1, 5% CO₂, 20% O₂) zu verbringen. Als Kontrollgruppe dienten insgesamt 547 Embryonen im 8-Zellstadium (17 Kulturgruppen mit 25 - 41 Embryonen) die zeitgleich zu den transferierten Embryonen permanent bis zum 8. Tag In vitro kultiviert wurden. In einem 2. Versuch wurden 646 In vitro gereifte Kumulus-Oozyten-Komplexe (KOK) zusammen mit aufgetautem Tiefgefriersperma vorinkubiert (3h) und mittels endoskopisch geleitetem Embryo Transfer unblutig in die Eileiter von 12 zyklussynchronen Rindern transferiert (50-77 KOK pro Tier), um sie an Tag 7 rückzuspülen und für weitere 48h in Kulturmedium (CR1, 5% CO₂, 20% O₂) zu verbringen. Als Kontrollgruppe dienten hierbei insgesamt 441 Embryonen (8 Kulturgruppen mit 47-63 KOK's) die zeitgleich zu den transferierten KOK's In Vitro fertilisiert und permanent bis zum 9. Tag In vitro kultiviert wurden.

Embryonen, die zuvor als 4-8 Zeller in den Eileiter übertragen worden waren und an Tag 7 zurückgespült wurden (Findungsrate 84,0 %), zeigten sie im Vergleich zur permanent In vitro kultivierten Kontrollgruppe identische Blastozystenraten an Tag 7 ($23,7 \pm 7,27$ vs. $24,7 \pm 12,34$) und Tag 8 ($43,31 \pm 9,59$ vs. $46,8 \pm 14,04$). Wurden jedoch In vitro maturierte KOK's zusammen mit Spermien in die Eileiter zyklussynchroner Rinder transferiert und an Tag 7 zurückgespült, so zeigten diese eine signifikant höhere Blastozystenrate an Tag 7 ($16,31 \pm 6,89$ vs. $8,16 \pm 2,67$), Tag 8 ($28,34 \pm 9,15$ vs. $19,72 \pm 4,95$) und Tag 9 ($31,1 \pm 11,41$ vs. $24,31 \pm 3,99$). Zusätzlich zeigten die KOK's aus der Eileiterkultur eine wesentlich schnellere Entwicklung zum Blastozystenstadium als die in vitro Kontrollgruppe (D7/D9: $52,5 \pm 19,60$ vs. $33,6 \pm 10,02$).

Während die Eileiterkultur ab dem 8-Zell-Stadium zu keiner nennenswerten Steigerung der Blastozystenrate führte, konnte die Entwicklung zur Blastozyste quantitativ und qualitativ gesteigert werden, wenn sowohl die Fertilisation, als auch die Kultur im Eileiter stattfanden. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Milieu von der Fertilisation bis zum 8-Zell-Stadium einen stärkeren Einfluss auf die Qualität und Quantität der Embryonen ausübt als nach dem 8-Zell-Stadium und deuten an, dass die maximale Quantität der Blastozysten ab dem 8-Zell-Stadium festgelegt ist.