Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin Laboratorium Prof. Dr. G. Böhme

# DIE POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS DES KATERS (FELIS CATUS)

## **Inaugural-Dissertation**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

# vorgelegt von **Gesine Krefft** Tierärztin aus Hamburg

Berlin 1999 Journal-Nr. 2284 Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin Laboratorium Prof. Dr. G. Böhme

# DIE POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS DES KATERS (FELIS CATUS)

## **Inaugural-Dissertation**

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

# vorgelegt von **Gesine Krefft** Tierärztin aus Hamburg

Berlin 1999 Journal-Nr. 2284 Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan:Univ.-Prof Dr. K. HartungErster Gutachter:Univ.-Prof Dr. G. BöhmeZweiter Gutachter:Univ.-Prof Dr. Dr. habil. P. S. Glatzel

Tag der Promotion: 10. 08. 1999

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit

ABKÜRZUNGEN		
1. EINLEITUNG	4	
2. LITERATURÜBERSICHT	5	
2.1 DIE PRÄNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS	5	
2.2 DIE POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS	8	
2.3.1 Die Topographie und makroskopische Anatomie des Hodens	9	
2.3.2 Die Architektur des Hodens	10	
2.3.3 Die SERTOLIzellen	19	
2.3.4 Die Keimzellen	23	
2.3.5 Die Lamina limitans	27	
2.3.6 Die LEYDIGschen Zwischenzellen	29	
2.3.7 Das Interstitium und die Leitungsstrukturen	32	
2.3.8 Der Hormonspiegel und morphometrische Daten	33	
3. MATERIAL UND METHODEN	37	
3.1 MATERIAL	37	
3.2 HISTOLOGISCHEN METHODEN	38	
3.3 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG	38	
3.4 DARSTELLUNG DER BLUT-HODEN-SCHRANKE	39	
3.5 MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNG UND STATISTISCHE		
AUSWERTUNG	39	
3.6 BLUTUNTERSUCHUNG	41	

			Inhaltsverzeichnis
4.	ERGI	EBNISSE	45
Z	4.1 DI	E POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS	45
	4.1.1	Die Architektur des Hodens	45
	4.1.2	Die SERTOLIzellen	61
	4.1.3	Die Keimzellen	68
	4.1.4	Die Lamina limitans	74
	4.1.5	Die LEYDIGschen Zwischenzellen	77
	4.1.6	Das Interstitium und die Leitungsstrukturen	80
	4.1.7	Der Hormonspiegel und morphometrische Daten	81
5.	DISK	USSION	93
4	5.1 DI	SKUSSION DER METHODIK	93
4	5.2 DI	SKUSSION DER BEFUNDE	97
6.	ZUSA	MMENFASSUNG	112
7.	SUM	MARY	114
8.	ANH	ANG	116
9.	LITE	RATURVERZEICHNIS	119

# ABKÜRZUNGEN

А.	Arteria
Abb.	Abbildung, Abbildungen
ABP	Androgenbindendes Protein
CHP	Chromalaunhämatoxilin-Phloxin
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
HE	Hämatoxylin-Erythrosin
ICSH	Interstitial-cell stimulating hormone
Kap.	Kapitel
LH	Luteinisierendes Hormon
Lig., Ligg.	Ligamentum, Ligamenta
Mon.	Monat, Monate
MW	Mittelwert
N. A. V.	Nomina Anatomica Veterinaria
N. H.	Nomina Histologica
ng	Nanogramm
OsO <sub>4</sub>	Osmiumtetroxyd
p. n.	post natum
PAS	Periodicacid-Schiff-Reagenz
RIA	Radioimmunassay
r <sub>s</sub>	Korrelationfaktor nach Spearman
S.	Seite
SSL	Scheitel-Steiß-Länge
TEM	Transmissionselektronenmikroskop(ische)

Abkürzungen, die ausschließlich in den Abbildungen verwendet werden, sind dort erklärt.

### 1. EINLEITUNG

Die Entwicklung des Hodens ist in der Vergangenheit wiederholt Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen gewesen. Hierbei fanden vor allem kleine Labornager (Ratte, Maus, Hamster), landwirtschaftliche Nutztiere (Rind, Schwein, Schaf, Pferd) und der Mensch Beachtung.

Die Katze als Haustier hat in den letzten Jahren besonders in den Ballungszentren immer mehr an Bedeutung zugenommen. Damit rücken auch die Züchtung und die Besonderheiten der männlichen und weiblichen Geschlechtsorgane dieser Spezies weiter in den Vordergrund. Dennoch existieren über den Hoden des Katers und im besonderen über dessen Entwicklung nur wenig Publikationen. Darüber hinaus wurden oft nur Teilaspekte oder einzelne Gewebskomponenten untersucht, ohne diese in einen Zusammenhang zum gesamten Organ zu stellen.

Ziel der Arbeit ist es daher, ein möglichst lückenloses Bild der Entwicklung des Hodens des Katers auf licht- und elektronenoptischem Niveau zu erstellen. Die gleichzeitige Untersuchung verschiedener Strukturen des Hodens soll es ermöglichen, auch Zusammenhänge und Einflüsse zwischen der Entwicklung einzelner Gewebskomponenten erkennen zu lassen. Ergänzt werden die deskriptiv erfaßten morphologischen Veränderungen während der Entwicklung durch die morphometrische Erfassung einzelner Gewebskomponenten. Des weiteren wird die Plasmatestosteronkonzentration der Kater verschiedenen Alters ermittelt.

Die Ergebnisse der morphologischen Untersuchung, die morphometrischen Parameter und der Hormonstatus der Tiere werden zueinander in Bezug gesetzt. Hierbei findet besondere Beachtung, inwieweit sich die qualitativen und die quantitativen Merkmale ergänzen oder gar erklären. Zum anderen soll geprüft werden, ob die Plasmatestosteronkonzentration mit dem morphologischen/morphometrischen Entwicklungsstand des Tieres korreliert.

# 2. LITERATURÜBERSICHT

#### 2.1 DIE PRÄNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS

Das Geschlecht wird bei den Säugetieren mit der Befruchtung, also syngam durch die Verschmelzung der weiblich determinierten Eizelle und dem männlich oder weiblich determinierten Spermium festgelegt.

Dennoch wird während der embryonalen Entwicklung zunächst eine indifferente Gonade angelegt. Dies beginnt mit der Wucherung des Coelomepithels und der subepithelialen Mesodermschicht am ventromedialen Rand der Urniere. Auf diese Weise entstehen die Genitalleisten, die beim Schaffetus mit einer SSL von 15 mm (ca. 20. Tag p. c.), beim Katzenfetus mit einer Scheitel-Steiß-Länge (SSL) von ca. 24 mm (ca. 22. Tag p. c.) erkennbar sind (GÜNTHER, 1994). Die Gonade erstreckt sich zunächst vom 6. Thorakalsegment bis zum 2. Sakralsegment. In die Genitalleisten wandern Urgeschlechtszellen (Keimzellen, Primordialzellen, Gonozyten) aus der Dottersackwand über das Darmgekröse ein. Es handelt sich dabei um große, amöboid bewegliche Zellen, die sich schon früh während der Keimentwicklung von den übrigen Zellen des Embryo trennen. Für den Menschen gibt WITSCHI (1948) zum Beispiel das 13-Somitenstadium an.

Schon GALTON (1872) und vor allem RUBASCHKIN (1909) sahen in den Urgeschlechtszellen die Vorläufer der Spermatogonien, was durch Untersuchungen von WEISMANN (1885), NUSSBAUM (1914) und STARCK (1955) gestützt, von anderen hingegen angezweifelt wurde (z. B. STIEVE, 1927; SANTAMARINA u. REECE, 1957). Inzwischen wird die "Keimbahnlehre" nicht mehr in Frage gestellt.

Die amöboide Wanderung der Urgeschlechtszellen erfolgt vermutlich auf einen chemotaktischen Reiz hin. EDDY (1984) fand in der Keimleiste und in der Urniere Steroide und Glykoproteine, die seiner Meinung nach Signalfunktion für die Keimzellen haben.

In die weitere Differenzierung wird nur ein Teil der Genitalleiste einbezogen. Die kranialen und kaudalen Abschnitte bilden sich zu den Keimdrüsenbändern (Lig.

suspensorium testis, Lig. testis proprium und Lig. caudae epididymidis) zurück.

Der sich progressiv entwickelnde Teil der Keimleiste erstreckt sich über 3 bis 4 Segmente. Hier wachsen die Zellen des Coelomepithels in der weiteren Entwicklung von der Oberfläche her in das mesenchymale Zentrum der Gonadenanlage ein und ordnen sich zusammen mit den Urgeschlechtszellen im männlichen Fetus zu radiär verlaufenden Strängen an. Jetzt ist erstmals eine morphologische Geschlechtsunterscheidung möglich (STARCK, 1955). Beim Katzenfetus ist die Gonade am 25. Tag p. c. als Hoden diagnostizierbar, beim Schaffetus mit einer SSL von 30 mm ca. am 29. Tag p. c. (GÜNTHER, 1994).

Im weiteren Verlauf werden die so entstandenen Keimstränge zunächst durch eine Basalmembran, später zusätzlich durch eine mehrschichtige Lamina limitans<sup>1</sup> vom Interstitium abgegrenzt (STARCK, 1955).

Im Hoden bildet sich eine sehr deutliche Tunica albuginea, was ein weiteres Charakteristikum des Hodens gegenüber dem Ovar darstellt (FRANCHI u. MANDL, 1964). Dies erfolgt beim menschlichen Fetus mit einer SSL von 23 mm (42. Tag p. c.). Zur selben Zeit ordnen sich in den Keimsträngen die ovoiden Zellkerne der Abkömmlinge des Coelomepithels senkrecht zur Basalmembran an (STARCK, 1955; VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1965). Bei den Abkömmlingen des Coelomepithels handelt es sich um SERTOLIzellvorläufer, die im fetalen Hoden 80 % der Zellen in den Keimsträngen ausmachen (STIEVE, 1930). Darüber hinaus werden als Ursprung für die SERTOLIzellen das Urogenitalmesenchym (s. u.) und die Einwanderung von Zellen aus der Urniere diskutiert.

Die Primordialzellen liegen eher zentral. Beide Zellarten zeigen Mitosen und Degeneration (SAPSFORD, 1962; FRANCHI u. MANDL, 1964).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Die Abgrenzung der Tubuli seminiferi convoluti durch peritubuläre Fibrozyten (Myofibroblasten), vielfach als Lamina propria bezeichnet, wird in den N. A. V. von 1994 als Lamina limitans bezeichnet. Im folgenden wird daher immer der Begriff "Lamina limitans" verwendet, sofern sicher ist, daß der zitierte Autor die entsprechende Struktur beschrieben hat.

Durch starke Zellproliferation vor allem der SERTOLIzellvorläufer wachsen die soliden Keimstränge in die Länge und beginnen sich von der Hodenperipherie nach zentral aufzuknäueln. Aus diesen Strängen entstehen später die Tubuli seminiferi convoluti. Aus den Teilungen der Primordialzellen gehen Spermatogonien (STIEVE, 1930) beziehungsweise Präspermatogonien (MIETHING, 1989) hervor.

Die extratubulär gelegenen Hodenzellen stammen aus dem Urogenitalmesenchym, welches das gemeinsame Ursprungsgewebe für die Urniere, die Nebennierenrinde und die Gonade darstellt. Nur die Hodengefäße sprießen direkt aus der Urniere in die Hodenanlage ein (LARIOS-MERCHANT, 1984). Aus den Mesenchymzellen entstehen sowohl die Zellen der Tunica albuginea, die Myofibroblasten der Lamina limitans, die Fibrozyten des intertubulären Bindegewebes, als auch freie Zellen und LEYDIGsche Zwischenzellen. Inwieweit sich LEYDIGsche Zwischenzellen auch aus dem Epithel der Hodenstränge ableiten ist umstritten (STARCK, 1955). LEYDIGsche Zwischenzellen werden 3. im menschlichen Hoden erstmals im Schwangerschaftsmonat sichtbar (VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1965).

Pränatal findet unter dem Einfluß maternaler Gonadotropine eine starke Proliferation der LEYDIGschen Zwischenzellen mit gleichzeitiger zunehmender Testosteronproduktion statt (ENGLE, 1932; WISLOCKI, 1933; DE ROSAS u. RUSSO, 1971; GONDOS et al., 1975). Die LEYDIGschen Zwischenzellen nehmen in diesem Zeitraum den Hauptanteil am Interstitium ein. Bis zur Geburt sinkt die Zahl der LEYDIGschen Zwischenzellen jedoch wieder, so daß bei der Geburt das Verhältnis zwischen Parenchym und Stroma ca. 50:50 beträgt.

Durch Proliferation des zentralen Reteblastems, das sich aus den medialen Keimsträngen ableitet (RÜSSE, 1991), entstehen zum einen das Rete testis und zum anderen die Tubuli seminiferi recti (STARCK, 1955). Das Reteblastem durchzieht die Hodenanlage in ihrer Längsachse und überragt am kranialen Pol die Gonade (extragonadales Rete). Hier nimmt das Rete testis Kontakt zu den Urnierenkanälchen auf, aus denen sich die Ductuli efferentes entwickeln. Letztere stellen wiederum die Verbindung zum Ductus epididymidis her. Der Nebenhoden entsteht aus dem WOLFFschen Gang, während sich der MÜLLERsche Gang beim männlichen Tier

-7-

unter Einfluß des von den SERTOLIzellen gebildeten anti-MÜLLER-Hormons zurückbildet (RÜSSE, 1991).

Die Tubuli seminiferi recti, das Rete testis, die Tubuli efferentes und der Ductus epididymidis haben bei unseren Haussäugetieren und dem Menschen schon vor der Geburt ein Lumen ausgebildet. Im Gegensatz dazu stellen sich die Keimstränge als Vorläufer der Tubuli seminiferi convoluti noch bis nach der Geburt als solide Stränge dar (VAN WAGENEN u. SIMPSON 1954), mit Ausnahme des Menschen, bei dem schon pränatal eine Lumenbildung erfolgt (KYRLE, 1915; MICHEL, 1986). Diese erfolgt zunächst nur peripher, also in den subtunikal gelegenen Keimsträngen.

Während der Entwicklung der Keimdrüsen erfolgt auch ihre Verlagerung nach kaudal (Descensus). Beim männlichen Tier wird die Gonade bis in das Skrotum verlagert. Der Descensus testis kann, wie beim Kater, bereits vor der Geburt abgeschlossen sein (SCOTT u. SCOTT, 1957). Bei anderen Spezies (z. B. Hund) liegt der Hoden bei der Geburt erst im Inguinalkanal (WENSING, 1968; BAUMANS et al., 1981). Die Verlagerung der Keimdrüse erfolgt durch die Rückbildung des kranialen Keimdrüsenbandes (Lig. suspensorium testis) bei gleichzeitiger Verkürzung des kaudalen Keimdrüsenbandes (Ligg. testis proprium und caudae epididymidis, Gubernaculum testis). Hierfür sind nach ENGLE (1932) und WISLOCKI (1933) intrauterin wirksame Gonadotropine verantwortlich.

### 2.2 DIE POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS

Bezüglich der postnatalen Hodenentwicklung gibt es zum einen tierartliche Unterschiede, zum anderen werden vergleichbare Beobachtungen unterschiedlich interpretiert. Im folgenden soll ein Überblick über die Entwicklung einzelner Strukturen bei verschiedenen Tieren vermittelt werden. Die Verhältnisse der jeweiligen Strukturen im Hoden von Neugeborenen werden der Darlegung der Differenzierungsprozesse vorangestellt, während ihr die Schilderung der Situation im Hoden geschlechtsreifer Tiere folgt.

### 2.3.1 Die Topographie und makroskopische Anatomie des Hodens

Der Hoden befindet sich im Skrotum, das beim Kater ventral des Afters und dorsal des kaudal gerichteten Penis liegt. Der Hodensack ist in lange Wollhaare eingebettet und zumeist dunkel pigmentiert (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS, 1987). Die Skrotalhaut weist eine speziell differenzierte Unterhaut, die Tunica dartos, auf. Als weitere Hodenhüllen folgen die Fascia spermatica externa und die Fascia spermatica interna, die Abspaltungen der äußeren beziehungsweise inneren Rumpffaszie sind. Die innerste Hodenhülle bildet die Tunica vaginalis, eine Ausstülpung des Peritoneum, dessen Lamina parietalis (auch Periorchium) zusammen mit der Fascia spermatica interna den Processus vaginalis bildet. Die Lamina visceralis (auch Epiorchium) liegt dem Hoden direkt an (VOLLMERHAUS et al., 1994; N. A. V., 1994).

Im Processus vaginalis peritonei ist der Hoden über das Ligamentum caudae epididymidis verankert, dessen distale Fortsetzung das Ligamentum scroti darstellt, welches in die Tunica dartos einstrahlt. Die Extremitas capitata des Hodens ist nach kranioventral und seine Extremitas caudata nach kaudodorsal gerichtet. Nebenhodenkopf und -schwanz sind hier fest mit dem Hoden verwachsen beziehungsweise über das Ligamentum testis proprium mit ihm verbunden. Der Margo epididymidis, an dem der Nebenhodenkörper über das Mesorchium distale locker fixiert ist, weist nach kraniodorsal (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS, 1987). Das Mesorchium distale und das Mesepididymis bilden die seitlich zugängliche Bursa testicularis. Das Mesorchium proximale zieht von der dorsalen Bauchwand lateral der Nieren zur Gonade (VOLLMERHAUS et al., 1994). Die geschilderten anatomischen Verhältnisse resultieren aus dem Descensus testis, der, nach Angaben in der Literatur, beim Kater zum Zeitpunkt der Geburt bereits abgschlossen ist. Inwieweit die oben dargelegten, beim geschlechtsreifen Kater vorliegenden Verhältnisse jedoch auch auf den neugeborenen beziehungsweise juvenilen Kater zutreffen, ist aus der Literatur nicht ersichtlich. Eine neue Untersuchung des Descensus testis beim Kater zeigt jedoch, daß sich der Hoden innerhalb des Processus vaginalis bis zum 29. Tag nach der Geburt bewegt (ZGOLL, 1996). Das Hodengewicht beträgt nach SCOTT u.

#### 2.3.2 Die Architektur des Hodens

Neben den Hodenhüllen und Adnexen besitzt der Hoden eine Organkapsel, die Tunica albuginea, die bereits beim Neugeborenen zweischichtig ist. SPANGARO (1902) beschreibt für den Säugling eine äußere, straff-bindegewebige (Stratum fibrosum) und eine innere, gefäßreiche Schicht (Stratum vasculosum)<sup>2</sup>. Die Bindegewebsschicht enthält viele kollagene und wenige elastische und retikuläre Fasern sowie glatte Muskelzellen und einige venöse Spalträume (STIEVE, 1930). Während der postnatalen Entwicklung nimmt die Tunica albuginea an Dicke zu, wobei ein stärkeres Wachstum der inneren, gefäßreichen Schicht festzustellen ist, beziehungsweise das Auftreten großer Gefäße das Verhältnis zwischen Stratum vasculosum und Stratum fibrosum verschiebt (GOYAL u. DHINGRA, 1973). Beim 3 bis 4 Wochen alten Bullkalb erreicht die Tunica albuginea eine Dicke von 362 µm (GOYAL u. DHINGRA, 1973). Für den Menschen gibt STIEVE (1930) eine Dicke der Tunica albuginea von 400 bis 600 µm beim Erwachsenen an. Er beschreibt zudem, daß die Schichtung der reifen Tunica albuginea nicht mehr so deutlich wie im juvenilen Zustand ist. Beim Büffel ist die Differenzierung der Tunica albuginea am Ende des ersten Lebensjahres abgeschlossen (GOYAL u. DHINGRA, 1973). Von der Hodenkapsel strahlen bindegewebige Septen in das Hodenparenchym ein, was bei einigen Spezies bereits zum Zeitpunkt der Geburt zu sehen ist (z. B. Mensch, STIEVE, 1930). Beim Miniaturschwein fand McFEE (1967) dagegen erst ab dem 3. Lebensmonat eine Septenbildung und eine damit einhergehende Gliederung des Hodens in bis zu 250 Läppchen.

Die Bildung der Septen erfolgt von der Peripherie aus auf das Mediastinum testis zu. Das zentral liegende, bindegewebige Mediastinum beherbergt das Rete testis.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Im Folgenden werden die beiden Schichten als Stratum fibrosum und Stratum vasculosum, ihre Gesamtheit als Tunica albuginea bezeichnet In den gültigen N. H. von 1994 finden die beiden Schichten als Tunica albuginea und als Tunica vasculosa Berücksichtigung.

In den Hodenläppchen, die beim Neugeborenen durch die Septula testis mehr oder weniger gut abzugrenzen sind, liegen mäßig gewundene Keimstränge. Sie beginnen und enden am Rete testis und haben beim Menschen zum Zeitpunkt der Geburt einen Durchmesser von 60 bis 80 µm (STIEVE, 1930), beim Rind von 42 µm (SANTAMARINA u. REECE, 1957) und beim Kater von 89 µm (SANCHEZ et al., 1993a). Zwischen den Keimsträngen liegt interstitielles Gewebe. Die Dichte der Keimstränge innerhalb der Läppchen wird beim neugeborenen Rind als gleichmäßig beschrieben (SANTAMARINA u. REECE, 1957). Beim 4 Wochen alten Kalb errechneten SINOWATZ et al. (1983) einen Tubulusanteil von ca. 44 % vom gesamten Hodengewebe. Demgegenüber beschreiben sowohl FOSSLAND und SCHULTZE (1961) als auch DOSTAL (1988) beim Rind eine stärkere Aufknäuelung der Keimstränge in peripheren Bereichen. Dadurch ist das Verhältnis der Keimstränge zum Interstitium subtunikal größer als in retenahen Bereichen. Das Gewebe erscheint in der Läppchenperipherie kompakter. Diese regionalen Unterschiede vermindern sich während der Entwicklung, so daß sie ab der 78. Lebenswoche nahezu aufgehoben sind (DOSTAL, 1988). Die Beobachtungen von SINOWATZ et al. (1985), die in der 16. Woche große Aggregate LEYDIGscher Zwischenzellen in der Nähe des Mediastinums fanden, decken sich somit mit den Ausführungen bezüglich der ungleichen Verteilung der Keimstränge innerhalb der Hodenläppchen. Von SANTAMARINA und REECE (1957) hingegen wurden keine regionalen Unterschiede der Gewebsverteilung im Kälberhoden gefunden.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung winden sich die Keimstränge zunehmend auf, was aus ihrem Längenwachstum resultiert. Beim geschlechtsreifen Menschen findet man 1 bis 4 Tubuli mit einer Länge von bis zu 80 cm pro Läppchen (DYM, 1988). Beim Schwein nimmt die Gesamttubuluslänge des Hodens von 800 m beim juvenilen um mehr als das 10fache auf 8700 m zu (DORST u. SAJONSKI, 1974a). Die Zunahme beträgt beim Rind hingegen nur das 6,75fache (ATTAL u. COUROT, 1963). Das Wachstum bis zur Geschlechtsreife erfolgt beim Schwein sehr schnell (DORST u. SAJONSKI, 1974a).

Die absolute Zunahme des Tubulusanteils und die relative Abnahme des

Interstitiums begründet sich nicht ausschließlich im Längenwachstum der Keimstränge beziehungsweise der Tubuli, sondern auch in deren zunehmendem Durchmesser. Wie die Länge der Tubuli nimmt auch ihr Durchmesser beim Schwein während der Entwicklung rasch von 50  $\mu$ m auf 200  $\mu$ m zu (DORST u. SAJONSKI, 1974a). Beim Rind, Miniaturschwein und Zwergschaf erfolgt die Zunahme zunächst langsam und erst kurz vor der Geschlechtsreife sehr schnell (ATTAL u. COUROT, 1963; McFEE, 1967; AIRE, 1973). Eine vorübergehende Abnahme des Tubulusdurchmessers postnatal gegenüber dem fetalen Durchmesser beschreiben VAN WAGENEN und SIMPSON (1954) beim Rhesusaffen. Beim Kater erfolgt eine Zunahme von 60 bis 90  $\mu$ m auf 225  $\mu$ m (SCOTT u. SCOTT, 1957).

Die Verbindung zwischen gewundenen Tubuli seminiferi convoluti und dem im Mediastinum testis liegenden Rete testis stellen gerade verlaufende Tubulusabschnitte her, die Tubuli seminiferi recti. Sie weisen schon pränatal ein Lumen auf und sind im Hoden Neugeborener, wie in dem adulter Tiere, mit einem einschichtigen Epithel ausgekleidet (VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1965). Das zunächst kubische Epithel nimmt beim Büffel postnatal an Höhe zu, ebenso wie der Durchmesser der Tubuli seminiferi recti. Ihre Entwicklung ist vor der Pubertät bereits abgeschlossen (GOYAL u. DHINGRA, 1973). Die Tubuli seminiferi recti des adulten Katers haben ein einfaches, kubisches Epithel (KRÖLLING, 1960). Vor ihrer Mündung in das Rete testis verjüngen sie sich beim Fleischfresser und Eber trichterförmig, woran man sie auch bei geschlängeltem Verlauf erkennen kann. Die Tubuli seminiferi convoluti ragen zapfenförmig in diesen Trichter. Der Zapfen wird von SERTOLIzellen gebildet, die sich von der Basalmembran gelöst haben und sich im Lumen zu einem Pfropf Die epitheliale Auskleidung kegelförmigen zusammenlagern. der Tubulusabschnitte wechselt abrupt (VIOTTO et al., 1991).

Über die Abschnitte der samenleitenden und -bewahrenden Wege bei juvenilen Tieren liegen kaum Daten vor. Beim geschlechtsreifen Kater ist das <u>Rete testis</u> mit einem einfachen, flachen bis hochprismatischen Epithel ausgekleidet (VIOTTO et al., 1991). Die Epithelzellen tragen Microvilli und eine einzelne lange Geißel (DYM, 1976). Die Känalchen sind weitlumig und bilden regelrechte Kammern. Eingebettet ist

-12-

das Rete testis in gut vaskularisiertes lockeres Bindegewebe und erstreckt sich bei den meisten Haussäugetieren vom kranialen bis zum kaudalen Hodenpol. Auf diese Weise kommt es im Mediastinum testis zu liegen. Bei Ratte, Maus und Hamster liegt es jedoch sehr oberflächlich innerhalb der Tunica albuginea, wohingegen es beim Menschen im hinteren Pol lokalisiert ist (VIOTTO et al., 1991). Die Ductuli efferentes, von denen man im menschlichen Hoden 10 bis 15 findet, verlassen ihn an seiner Extremitas capitata. Sie ziehen bis in den Nebenhodenkopf, in dem sie aufgeknäuelt liegen. Ihr einschichtiges Epithel weist beim Kater hoch- und isoprismatische Zellen auf, von denen ein Teil Zilien trägt, während die übrigen Zellen einen Mikrovillibesatz haben. Der Zilienschlag ist auf den Ductus epididymidis gerichtet, wodurch der Spermientransport unterstützt wird. Aufgabe der zilienfreien Zellen ist es, das im Tubulus seminifer gebildete Sekret zu resorbieren (DYM, 1988).

Die <u>Kanalisierung</u> der Keimstränge, die bei der Geburt solide sind, findet gleichmäßig über den Hoden verteilt statt (CARDOSO u. GODINHO, 1978, McFEE, 1967). Beim Rind beschreibt DOSTAL (1988) jedoch eine frühere Lumenbildung in den peripher gelegenen Hodenabschnitten, so daß innerhalb des Hodenläppchens unterschiedlich weit differenzierte Bezirke anzutreffen sind. In ähnlicher Weise beschreibt sie auch die Aufknäuelung der Keimstränge (s. o.). FOSSLAND und SCHULTZE (1961), die ebenfalls den Hoden des Rindes untersuchten, teilen ihre Auffassung bezüglich der Aufknäuelung, finden aber bezüglich der Kanalisierung zentral weiter differenzierte Tubuli als peripher (subtunikal).

Die Lumenbildung erfolgt in erster Linie durch Zelldegeneration. SINOWATZ et al. (1983) beschreiben eine Proliferation der basalen Stützzellen, deren Tochterzellen ins Tubuluszentrum vorgeschoben werden und hier degenerieren. Ab der 20. Lebenswoche erfolgt beim Rind zusätzlich eine Vakuolenbildung der apikalen Zellpole basaler Stützzellen, die mit Sekretionsprozessen einhergehen. Dadurch können ganze Zellen in das Rete testis gespült werden. Auch Phagozytoseprozesse werden für die Bildung des Lumen mit verantwortlich gemacht. Beim Menschen finden PLÖEN und RITZEN (1984) dense bodies (Reste vorhergegangener Phagozytoseprozesse) in SERTOLIzellen. GOYAL und DHINGRA (1973) beschreiben ebenso wie FRANCHI und MANDL (1964) die Degeneration eines Teils der Keimzellen.

Abgeschlossen ist die Lumenbildung beim Rind mit ca. 80 Tagen (SANTAMARINA u. REECE, 1957). Beim Kater beginnt die Kanalisierung der Keimstränge erst mit 5 bis 7 Monaten, wobei einzelne Hodenareale in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten sind als andere. Bei 8 Monate alten Katern weisen alle Tubuli seminiferi convoluti ein Lumen auf (SANCHEZ et al., 1993a).

Zum Zeitpunkt der Geburt ist das Innere der <u>Keimstränge</u> durch 2 Zellarten gekennzeichnet: Keimzellen und SERTOLIzellvorläufer. Von den SERTOLIzellvorläufern stellen sich nur die Zellkerne deutlich dar. Sie sind vergleichsweise klein (5-7 µm bei der Maus, FLICKINGER, 1967), rund bis ovoid und stehen überwiegend senkrecht zur Tubuluswand. Sie liegen innerhalb der Keimstränge in 1 bis 2 Zellagen der Basalmembran an. SANCHEZ et al. (1993a) fand beim neugeborenen Kater ca. 25 dieser Zellen pro Tubulusquerschnitt. In den Keimsträngen des Säuglings machen sie 91 % aller Zellen aus (HADZISELIMOVIC, 1976), während ihr Anteil im Keimepithel adulter Tiere nur noch 13 % beträgt (MANCINI et al., 1960).

Die Vorläufer der <u>Spermatogonien</u> werden allgemein als große (9 µm beim Rind), runde, zum Teil blasig aufgetriebene Zellen beschrieben (ATTAL u. COUROT, 1963). Innerhalb der Tubuli liegen sie eher zentral und beim neugeborenen Kater sind von ihnen im Tubulusquerschnitt im Durchschnitt 1,5 Zellen anzutreffen (SANCHEZ et al., 1993a). Bei der Ratte werden vergleichbare Zahlen angegeben (CLERMONT u. BUSTOS-OBREGON, 1968; PEREY et al., 1961). Die Vorläuferzellen werden im allgemeinen als Gonozyten oder Primordialzellen bezeichnet. Einige Autoren (ABDEL-RAOUF, 1960; ATTAL u. COUROT, 1963) beschreiben aber auch schon Spermatogonien im Hoden neugeborener Kälber.

Im Entwicklungsverlauf werden Degenerationen und Mitosen beider Zellarten beobachtet. Aus den Zellteilungen resultieren nicht nur die verschiedenen Zellen des Spermatogenesezyklus sowie reife SERTOLIzellen, sondern sie führen auch zu einem mehrschichtigen Keimepithel. Die SERTOLIzellkerne behalten auch im reifenden und

-14-

im ausdifferenzierten Keimepithel ihre basale Lage bei. Die Spermatogonien werden an die Peripherie der Tubuli verlagert. Sie stellen die Stammzelle im Hoden geschlechtsreifer Tiere dar, indem Teilungen der Spermatogonien die weiteren Zellen der Spermatogenese hervorbringen. Die Keimzellen ordnen sich ihrem Reifegrad folgend apikal der Spermatogonien an. Auf diese Weise entsteht ein mehrschichtiges Keimepithel, dessen Anordnung mit fortschreitender Entwicklung der in den Tubuli seminiferi convoluti adulter Tiere entspricht: Basal liegen die runden Spermatogonien (oder A-Spermatogonien)<sup>3</sup> sowie die SERTOLIzellen. Letztere reichen mit weiten Ausläufern zwischen die Keimzellen, die sich wiederum in das Cytoplasma der Stützzellen einsenken. Dieser innige Kontakt gewährleistet die regulierende Funktion der SERTOLIzellen für die Spermatogenese. Über Zellkontakte sind die Stützzellen miteinander verbunden, wodurch das Tubulusepithel in zwei Kompartimente geteilt wird. Im basalen Teil liegen neben den Spermatogonien die Spermatozyten I. Ordnung. Sie gehen durch mitotische Teilung aus den Spermatogonien hervor, von denen jedoch immer ein Teil als Stammzelle an der Basalmembran zurückbleibt. Die Intermediär- und B-Spermatogonien wie auch die Spermatozyten I. Ordnung werden gegen das Lumen vorgeschoben. Daraufhin treten die Spermatozyten I. Ordnung in die Meiose ein und durchlaufen verschiedene Stadien der Prophase (Präleptotän, Leptotän, Zygotän, Diplotän, Diakinese). Die daraus hervorgehenden Spermatozyten II. Ordnung teilen sich wiederum, so daß schließlich vier haploide Spermatiden entstehen. Rein rechnerisch würden bei der Ratte auf diese Weise in einem Tubulus mit circa 16 A-Spermatogonien, die 8 Teilungen durchlaufen, 4000 Spermien entstehen. Dieses Maximum wird jedoch nie erreicht, da physiologischerweise zahlreiche Keimzellen während der Spermatogenese zugrunde gehen (DYM, 1976). Während der sich anschließenden Spermiogenese entwickeln sich das Akrosom und die Geißel, der Zellkern verdichtet sich und das Cytoplasma wird abgeschnürt. Bei der Spermiation lösen sich die Spermien aus der SERTOLIzellinvagination und werden über das Lumen der Tubuli seminiferi abgeschwemmt. Über einen kurzen, gerade verlaufenden

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Es werden zum Teil verschiedene Arten von Spermatogonien beschrieben.

PIER (1985) beschreibt beim Kater A-, B- und Intermediärspermatogonien.

Tubulusabschnitt gelangen sie in das Rete testis. Von hieraus führen die Ductuli efferentes in den Ductus epididymidis. Im Nebenhoden vollzieht sich unter Testosteronwirkung eine weitere Reifung der Spermien. Bis zur Ejakulation werden die Spermien hier gespeichert.

Die Zellteilungen verlaufen zeitlich koordiniert, so daß in einem Tubulusquerschnitt immer bestimmte Zellassoziationen auftreten. Hierfür werden interzelluläre Brücken verantwortlich gemacht, über die die Keimzellen bis zum späten Spermatidenstadium miteinander verbunden sind. Bei Ratten umfaßte diese unvollständige Zelleibteilung bis zu 16 A-Spermatogonien (DYM, 1988). Anhand der Zellformation lassen sich verschiedene Spermatogenesestadien festlegen (BÖHME u. PIER, 1986), deren Anzahl je nach Einteilungsmodus 5 (BENDA, 1887) bis 14 (LEBLOND u. CLERMONT, 1952) beträgt. STAGEL (1987) legte Kriterien fest, die sich tierartlich übergreifend anwenden lassen, was zu einheitlichen, untereinander vergleichbaren Stadien führte. Er fand 6 klar definierbare Stadien bei Pferd, Rind, Schwein, Schaf, Ziege, Hund und Mensch. Beim Kater fand PIER (1985) 8 Spermatogenesestadien. Die Spermatogenese dauert bei den einzelnen Spezies unterschiedlich lang. Die Spermatogenesewelle, das heißt die räumliche Anordnung der Stadien entlang der Tubuli seminiferi ist Umkehrungen regelmäßig, mit wenigen passageren der Wellenrichtung (Modulationen). Nur bei Primaten sind die Spermatogenesestadien spiralig angeordnet, so daß ein Tubulusquerschnitt in der Regel drei Stadien gleichzeitig aufweist (DIETRICH et al., 1986).

Die Abgrenzung der Keimstränge gegen das Interstitium erfolgt durch die Lamina limitans, die bereits zum Zeitpunkt der Geburt ausgebildet ist. Ihre innerste Schicht ist die Basalmembran, auf die 1 bis 3 konzentrisch angelegte Zellreihen folgen. Diese peritubulären Zellen ähneln perinatal bereits Fibrozyten, die noch rund bis kubisch sind (KORMANO u. HOVATTA, 1972). Sie machen bei 16 Wochen alten Rindern 31 %, bei Kindern 28 % der intertubulären Zellen aus (DOSTAL, 1988; PRINCE, 1984). Die kontraktilen Eigenschaften der peritubulären Fibrozyten, die für die Lamina limitans der Tubuli seminiferi des adulten Hoden charakteristisch sind, entwickelt sich erst später (KORMANO u. HOVATTA, 1972). Die peritubulären Zellen werden zum Teil als glatte Muskelzellen (ROSS, 1967; CLERMONT u. TANG, 1985), in der Regel aber als Myofibroblasten beschrieben (DOSTAL, 1988). Nach den gültigen Nomina Histologica (1994) besteht das Stratum myoideum der Lamina limitans aus Myofibroblasten. Die kontraktilen Zellen der Lamina limitans unterstützen den Transport der Spermien in das Rete testis, ein Vorgang, der erstmals von ROOSEN-RUNGE (1951) an isolierten Tubuli seminiferi beobachtet wurde.

Zwischen den Zellagen kommen je nach Tierart unterschiedlich viele interzelluläre Schichten vor, so daß zum Beispiel beim Schaf maximal 10 nicht-zelluläre mit 3 zellulären Schichten als Bestandteil der Lamina limitans beschrieben werden (BUSTOS-OBRÉGON u. COUROT, 1974). Zunächst ist die Schichtung der Lamina limitans lose und die peritubulären und intertubulären Fibrozyten stehen in engem Kontakt zueinander. Im Verlauf der postnatalen Entwicklung werden die zellulären und interzellulären Komponenten strenger ausgerichtet und geschichtet (LEESON u. LEESON, 1963; ROSS, 1967). Die Entwicklung der Lamina limitans weist tierartliche Unterschiede auf (Schwein: DIERICHS u. WROBEL, 1973; Schaf: BUSTOS-OBREGÓN u. COUROT, 1974; Kaninchen: LEESON u. LEESON, 1963; Rind: DOSTAL, 1988; Maus: ROSS, 1967).

Im eigentlichen <u>intertubulären Gewebe</u>, das beim Kalb 55 % des Hodenvolumens einnimmt (ATTAL u. COUROT, 1963; SINOWATZ et al., 1983), findet man postnatal Mesenchymzellen (ABDEL-RAOUF, 1960; SCOTT u. SCOTT, 1957) beziehungsweise Fibrozyten und Bindegewebsfasern, später auch Makrophagen und Lymphozyten sowie Blut- und Lymphgefäße (DOSTAL 1988). Über die Verteilung des intertubulären Gewebes innerhalb des Hodens wurde im Zusammenhang mit der Tubulusverteilung berichtet (siehe Seite 13). Innerhalb des Interstitiums verteilen sich die einzelnen Komponenten gleichmäßig mit der Ausnahme, daß subtunikal besonders viele und großkalibrige Gefäße gefunden werden.

Bezüglich der <u>LEYDIGschen Zwischenzellen</u>, deren Art der Differenzierung und ihren Reifegrad zum Zeitpunkt der Geburt liegen für die verschiedenen Tierarten unterschiedliche Befunde vor. GONDOS et al. (1975) fanden im neonatalen Kaninchenhoden nur sehr wenige und zudem unreife LEYDIGsche Zwischenzellen, denen die Charakteristika reifer, steroidhormonproduzierender Zellen fehlen. Im juvenilen Hoden beim Menschen beträgt der Anteil unreifer LEYDIGscher Zwischenzellen, die dennoch klar zu identifizieren sind, nur 9 % an allen interstitiellen Zellen (PRINCE 1984). Auch FOSSLAND und SCHULTZE (1961) beschreiben im Hoden des neugeborenen Kalbes LEYDIGsche Zwischenzellen, über die sie jedoch keine quantitativen Angaben machen. SANCHEZ et al. (1993b) fanden bei Katern eine Population LEYDIGscher Zwischenzellen, die schon neonatal soweit immunhistochemisch ausdifferenziert ist. daß eine Testosteronproduktion nachgewiesen werden kann. Im Blutplasma bei neugeborenen Kälbern kann allerdings kein Testosteron nachgewiesen werden (ZEROBIN u. THUN, 1983). Im Katerhoden liegen die LEYDIGschen Zwischenzellen in Gruppen zu 8 bis 11 Zellen über das gesamte Organ verteilt (SANCHEZ et al., 1993b). Sie haben beim Menschen nach PRINCE (1984) postnatal eine enge topografische Beziehung zu den Keimsträngen, während GONDOS et al. (1975) beim Kaninchen und DOSTAL (1988) beim Rind eine engere Lage der LEYDIGschen Zwischenzellen zu den Gefäßen fanden. Im Hoden geschlechtsreifer Tiere, in dem die Tubuli seminiferi convoluti eng beieinander liegen und nur die Zwickel dazwischen mit intertubulärem Gewebe ausgefüllt sind, liegen die LEYDIGschen Zwischenzellen sowohl den Tubuli als auch den Blutgefäßen an (DYM, 1988). Zudem beschreiben SCOTT und SCOTT (1957) eine Ansammlung von LEYDIGschen Zwischenzellen direkt unter und in der Tunica albuginea juveniler Kater (12 bis 20 Wochen). Sie werden als "heterotope LEYDIGschen Zwischenzellen" bezeichnet und sind auch bei geschlechtsreifen Katern zu finden, wo sie von WROBEL und HEES (1987) eingehend beschrieben werden.

Die Blutversorgung des Hodens erfolgt über die Arteria und Vena testicularis, die proximal des Hodens ein ausgedehntes Netz bilden, in dem das arterielle Blut im Gegenstromverfahren gekühlt wird. Einige Äste der A. testicularis dringen über das Mediastinum testis in das Organ ein, während andere zunächst die Hodenkapsel beziehungsweise deren Stratum fibrosum durchziehen, um über die Hodensepten in das Zentrum zu gelangen. Größere Gefäße trifft man daher nur vermehrt im Stratum vasculosum und in den Hodensepten an (DYM, 1988). Nach diesem Prinzip ist der Hoden der Haussäugetiere generell strukturiert, wobei speziesabhängig Besonderheiten auftreten.

#### 2.3.3 Die SERTOLIzellen

Diese Zellen wurden 1865 von SERTOLI beschrieben. Ihr offizieller Name ist nach den gültigen Nomina Histologica von 1994 "Epitheliocytus sustentans", wobei der Eigenname des Entdeckers für diese Zellen weiterhin in der Literatur verwendet wird. Sie sind die Ammen-, Fuß- oder Stützzellen des Keimepithels. Diese Bezeichnungen geben sowohl die Funktion als auch die morphologische Beziehung zu den Keimzellen beziehungsweise ihre Lage zur Basalmembran wieder.

Die Vielzahl der Aufgaben, die die SERTOLIzellen übernehmen (Blut-Hoden-Schranke, Phagozytose, Hormonproduktion) erfordert eine starke Differenzierung, die sich vor allem postnatal vollzieht.

Die SERTOLIzellen entwickeln sich aus den bereits erwähnten Vorläuferzellen mit kleinen, ovoiden Zellkernen (6,5 µm beim Kalb, ATTAL u. COUROT, 1963), die im Bild der Keimstränge des Neugeborenen dominieren. Sie lassen sich leicht von den Keimzellen unterscheiden, auch wenn ihnen wichtige Charakteristika der reifen SERTOLIzelle noch fehlen (s. u.). CHARNY et al. (1952) ebenso wie MANCINI et al. (1960) finden beim Menschen erst in der Pubertät beziehungsweise bei der Ratte erst zum Zeitpunkt der Geschlechtsreife ausdifferenzierte SERTOLIzellen. Beim Rind finden SANTAMARINA und REECE (1957) wiederum schon in der 2. Lebenswoche typische SERTOLIzellen.

In den Keimsträngen <u>Neugeborener</u> liegen die SERTOLIzellvorläufer und ihre Kerne basal, eine Lage, die zeitlebens bestehen bleibt, auch wenn die Zellkerne gelegentlich keilförmig zwischen oder über den Spermatogonien zu liegen kommen (Kater: SANCHEZ et al., 1993a; Rind: SINOWATZ u. AMSELGRUBER, 1986; Maus: FLICKINGER, 1967; Ratte: CLERMONT u. PEREY, 1957). Beim Menschen beschreibt SCHULZE (1984) eine durchweg apikale Position der SERTOLIzellkerne. Die Kerne stehen senkrecht zur Basalmembran, nur beim Hund fand FORD (1969)

eine parallele Ausrichtung der Kerne. Sie sind regelmäßig geformt, gelegentlich treten einzelne Kerben oder Einfaltungen auf (FLICKINGER, 1967). Kleine Chromatinbrocken sind zu beobachten. Der Nucleolus ist in der Regel an der Kernperipherie lokalisiert (MIETHING, 1989; FLICKINGER, 1967).

Mitochondrien vom Crista-Typ, GOLGI-Apparat, freie Ribosomen, Microtubuli, basal liegende Lysosomen und rauhes endoplasmatisches Reticulum prägen das cytoplasmatische Bild. Der GOLGI-Apparat liegt im perinucleären Cytoplasma, die anderen Organellen verteilen sich in der Zelle. Zellkontakte und -ausläufer fehlen zu diesem Zeitpunkt (SINOWATZ et al., 1983).

Während der <u>frühen postnatalen Entwicklung</u> teilen sich die Stützzellen mitotisch, eine Fähigkeit, die sie später verlieren. Bei der Ratte sinkt die Mitoserate am 14. bis 15. Tag p. n. rapide ab (GONDOS u. BERNDTSON, 1993). Beim Rind hingegen fanden SINOWATZ und AMSELGRUBER (1986) bis zur 20. Woche p. n. sich teilende SERTOLIzellen. Beim Kalb wurden von SANTAMARINA und REECE (1957) außerdem Amitosen beobachtet. Die daraus hervorgehenden Zellen zeigten aber überwiegend Degenerationserscheinungen.

Mit dem Wachstum der SERTOLIzelle, das bei der Maus in der 1. Lebenswoche beginnt (FLICKINGER 1967), bilden sich Fortsätze aus, die bis in das Tubuluslumen reichen. Im Cytoplasma ist zunehmend endoplasmatisches Retikulum vom glatten Typ, dessen Räume zum Teil zu Vesikeln oder Zisternen erweitert sind, zu finden. FLICKINGER (1967) sowie PLÖEN und RITZEN (1984) beschreiben außerdem ein den Nucleolus umgebendes Nucleolonema, und in einigen Zellkernen eine zentrale Aufhellung der Nucleoli. Die Nucleoli der SERTOLIzellen des Kalbes weisen scharf begrenzte Vakuolen auf, lassen aber die Pars filamentosa nucleoli vermissen (NICANDER et al., 1961).

Während der <u>Kanalisierung</u> der Keimstränge (bei der Maus mit 3 Wochen p. n.) sind die SERTOLIzellen untereinander über weitreichende apikale Verzweigungen verzahnt, was bei Tubuli, die bereits ein Lumen aufweisen, nicht zu beobachten ist. Parallel dazu steigt die Zahl der Dictyosomen. Gleiches gilt für das glatte endoplasmatische Retikulum, vor allem in der apikalen Zellregion. Demgegenüber

-20-

geht das rauhe endoplasmatische Retikulum zurück, während gleichzeitig vermehrt freie Ribosomen anzutreffen sind (FLICKINGER, 1967).

Zu diesem Zeitpunkt noch zentral liegende Stützzellen tragen laut SINOWATZ et al. (1983) maßgeblich zur Lumenbildung bei: Sie lösen sich aus dem Zellverband und werden zusammen mit Sekretionsprodukten der basalen Stützzellen abgeschwemmt. Phagozytoseprozesse kommen unterstützend hinzu.

In die beschriebenen Differenzierungsprozesse fällt auch die Ausbildung der den die typischen Zellkontakte zwischen SERTOLIzellen. einer zu Kompartimentierung des Keimepithels führt: Im basalen Bereich liegen die Spermatogonien und Spermatozyten 1. Ordnung im Präleptotän, im apikalen Kompartiment die Spermatozyten 1. und 2. Ordnung und Spermatiden (VITALE et al., 1973). Durch die Kompartimentierung des Keimepithels werden die haploiden Keimzellen separiert. Außerdem kann das Milieu im apikalen Kompartiment über die Barriere kontrolliert werden. Darüberhinaus soll die Blut-Hoden-Schranke die Synchronisation der Spermatogenese beziehungsweise der Zellteilungen der Keimzellen ermöglichen (GURAYA, 1995). Die Keimzellen der verschiedenen Reifestadien werden hierfür gezielt durch die SERTOLIzellen nach apikal geschleust (FLICKINGER u. FAWCETT, 1967). Bei den zwischen den SERTOLIzellen ausgebildeten Haftstrukturen handelt es sich vor allem um tight-junctions (VITALE et al., 1973). Auch Desmosomen und spezialisierte Zonulae adhaerentes werden beschrieben (GURAYA, 1995). Unter dem Plasmalemm liegen in diesem Bereich bei einigen Tierarten (Maus, Mensch, Bär, Kater) Zisternen des endoplasmatischen Retikulums (FLICKINGER u. FAWCETT, 1967; PLÖEN u. RITZEN, 1984). Die Blut-Hoden-Schranke wird nicht bei allen Spezies in der gleichen Komplexität ausgebildet (FLICKINGER u. FAWCETT, 1967). Bei der Ratte stellen auch das Kapillarendothel und die Myofibroblasten der Lamina limitans in Abhängigkeit von der Molekülgröße einen Teil der Blut-Hoden-Schranke dar. Dies zeigen VITALE et al. (1973) durch die Perfusion mit Lanthannitrat beziehungsweise Meerrettichperoxidase. Beim Kater wird die Blut-Hoden-Schranke im Alter von 5 bis 7 Monaten ausgebildet (SANCHEZ et al., 1993a).

Bei der Maus ist die <u>postnatale Entwicklung</u> der SERTOLIzellen in der 4. bis 6. Woche abgeschlossen (FLICKINGER, 1967). Lipidtropfen, perinucleäre Filamente und der dreiteilige Nucleolus haben sich ebenso ausgebildet wie die Invaginationen, in denen die Spermatiden eingebettet sind. Ein weiteres Charakteristikum für ausdifferenzierte SERTOLIzellen sind wirbelartige Konfigurationen des endoplasmatischen Retikulums, die Lamellae anulatae ähneln und bei einigen Tierarten beschrieben wurden (Rind: NICANDER et al., 1961; WROBEL u. SCHIMMEL, 1989; Mensch: HADZISELIMOVIC u. SEGUCHI, 1974; PLÖEN u. RITZEN, 1984, Ratte: FRANCHI u. MANDL, 1964). Sie sind beim Rind ab 5<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Monaten zu finden (NICANDER et al., 1961).

Verschiedene Autoren (FLICKINGER, 1967; SOLARI u. FRITZ, 1978; VILAR, 1970) beschreiben nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen 2 heterogene SERTOLIzellpopulationen: mit hellem und dunklem Cytoplasma beziehungsweise Zellkern. Es werden geringe Unterschiede in der Ausprägung der Zellfortsätze und - kontakte, sowie in der Verteilung der Zellorganellen beschrieben. Keine diese Divergenzen scheint jedoch signifikant zu sein oder die Zuordnung unterschiedlicher Funktionen zu erlauben. Im unreifen Hoden überwiegen die dunklen, im reifen die hellen SERTOLIzellen (MIETHING, 1989).

HADZISELIMOVIC und SEGUCHI (1974) fanden beim Kind 3 verschiedene SERTOLIzelltypen, von denen der erste (Sa-Zelltyp) die juvenile Vorläuferzelle darstellt, der zweite Typ (Sb-Zelltyp) degeneriert und der dritte (Sc-Zelltyp) erst in der Pubertät auftritt und die eigentliche SERTOLIzellpopulation ausmacht. In einer anderen Arbeit beschreibt HADZISELIMOVIC (1976) noch einen vierten SERTOLIzelltyp: die fetale, hochdifferenzierte Stützzelle, die sich erst in den ersten Lebenswochen zu dem Sa-Zelltyp "dedifferenziert". Die fetale SERTOLIzelle zeichnet sich beim Menschen durch ein rauhes und glattes endoplasmatisches Retikulum sowie einen gekerbten Kern mit 1 bis 2 Nucleoli aus. Dies sind Indizien für die fetale Hormonproduktion dieser Zellen (anti-MÜLLER-Hormon) (HADZISELIMOVIC, 1976; RÜSSE, 1991).

Eine jahreszeitlich variable Morphologie der SERTOLIzellen beschreiben PLÖEN

und RITZEN (1984) bei saisonal östrischen Tierarten.

#### 2.3.4 Die Keimzellen

Die Vorläuferzelle der Keimzellinie sind die Gonozyten oder Primordialzellen (CLERMONT u. PEREY, 1957), eine einheitliche Zellpopulation, die sich bei den meisten Tierarten deutlich von den A-Spermatogonien, welche durch Mitosen, Differenzierung und Verlagerung aus ihnen hervorgehen, unterscheidet. Einige Autoren (z. B. SANCHEZ et al., 1993a; VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954) sprechen die Keimzellvorläufer aber bereits als Spermatogonien an.

Die Gonozyten werden tierartübergreifend als große, blasige Zellen beschrieben, die im Zentrum der Keimstränge lokalisiert sind. Der ebenfalls auffallend große, helle Kern (10,1 µm bei der Ratte; CLERMONT u. PEREY, 1957) enthält einen deutlichen, z. T. retikulären Nucleolus. Freie Ribosomen, glattes endoplasmatisches Retikulum und wenige Dictyosomen sowie längliche Mitochondrien werden angetroffen. Letztere sind beim Menschen zunächst vom Tubulus-Typ, später, wie bei anderen Spezies, vom Crista-Typ (HADZISELIMOVIC, 1976). Verglichen mit den SERTOLIzellen dieser Altersstufe sind die Keimzellen organellenarm (GONDOS, 1984). Mehrfach wurden bei den Gonozyten und Präspermatogonien interzelluläre Brücken beschrieben (GONDOS, 1984; MIETHING, 1989; VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954). Pseudopodienartige Fortsätze sollen laut HADZISELIMOVIC (1976) ein Hinweis auf die Bewegung der Gonozyten zur Tubulusperipherie hin sein. Demgegenüber beschreiben SINOWATZ et al. (1983) die Verlagerung der Keimzellen als einen rein passiven Vorgang, der allein auf die Ausdehnung der sich differenzierenden SERTOLIzellen und die Teilung der Gonozyten zurückgeht. Nur die Stützzellen weisen zu diesem Zeitpunkt Filamente auf, die ihnen eine aktive Verformung ermöglichen (FLICKINGER, 1967; SOLARI u. FRITZ, 1978).

Haben die Keimzellen die Basalmembran erreicht und liegen dieser direkt an, so werden sie als <u>A-Spermatogonien</u> bezeichnet (GONDOS, 1984). Sie sind in der Regel kleiner als die Gonozyten, elektronendichter und ihr heterochromatischer Kern fällt durch einen prominenten, zentralen Nucleolus auf. Der Kerndurchmesser der A-Spermatogonien beträgt bei der Ratte 9,1 bis 9,4 µm (CLERMONT u. PEREY, 1957, vergl. oben). Spermatogonien, die größer als ihre Vorläuferzelle sind, werden nur beim Menschen und bei Makaken beschrieben (HADZISELIMOVIC, 1976; VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954).

Während der Entwicklung der Gonozyten zu Spermatogonien werden in der Literatur unterschiedliche Zwischenstufen oder eigenständige Populationen, die Präspermatogonien, beschrieben. MIETHING (1989) ebenso wie HILSCHER et al. (1974) fanden beim Hamster zwei Keimzellgenerationen: T1-Präspermatogonien und T2-Präspermatogonien, aus denen die eigentlichen A-Spermatogonien hervorgehen. Die T1-Präspermatogonie unterscheidet sich lichtmikroskopisch von den Gonozyten durch eine granulierte, kappenartige Zone, hinter der sich eine Anhäufung von Mitochondrien verbirgt. Die T2-Präspermatogonie ist entgegen ihrer Vorläufer- und Folgepopulation unregelmäßig geformt und hat einen gelappten Kern. FRANCHI und MANDL (1964) fanden ebenfalls unregelmäßig konturierte Keimzellen, führten dies aber auf eine passive Verformung durch die sich ausdehnenden somatischen Zellen zurück. Sie stellten bei der Ratte außerdem fest, daß nicht alle Gonozyten zur Peripherie verlagert werden. Aus den zentralen Zellen gehen zwar, ebenso wie aus den peripheren Zellen, A-Spermatogonien hervor, die vorangehenden Mitosen verlaufen jedoch oftmals abnormal (siehe auch CLERMONT u. PEREY, 1957). Auch die Degenerationserscheinungen (z. B. geschwollene Kerne und Mitochondrien) sind bei den zentral liegenden Zellen häufiger.

Bei 9 bis 12 Tage alten Ratten sind in den Keimsträngen keine Gonozyten mehr zu finden (CLERMONT u. PEREY, 1957). Aus den vorhandenen A-Spermatogonien gehen nun durch mitotische Teilung wiederum A-Spermatogonien und Spermatozyten I. Ordnung hervor. Auch hier werden unterschiedlich viele Zwischenformen beschrieben. So beschreiben CLERMONT und LEBLOND (1955) eine Stammspermatogonie, aus der durch mitotische Teilung differenzierte Spermatogonien entstehen. Letztere entsprechen der A-Spermatogonie (CLERMONT u. PEREY, 1957). Aus ihr entstehen wiederum mehrere Spermatogoniengenerationen: A-, Intermediär- und B-Spermatogonie. MASUI (1919) sowie SANTAMARINA und REECE (1957) beschreiben neben Mitosen auch Amitosen der ersten Spermatogoniengeneration im Kalb.

So liefert die mitotische Teilung der A-Spermatogonien sich weiter differenzierende Zellen der Spermatogenese und basal verbleibende Stammzellen.

CLERMONT und PEREY (1957) fanden bei der Ratte 4 Tage postnatal (p. n.) erste A-Spermatogonien, aus deren Teilung anfangs nur A- Spermatogonien hervorgehen. Erst ab Tag 6 bis 9 p. n. treten B-Spermatogonien auf. Ab dem 15. Tag entspricht das Verhältnis der A-Spermatogonien zu den Spermatozyten I. Ordnung dem in adulten Ratten.

PIER (1985) fand im Samenepithel des geschlechtsreifen Katers ebenfalls drei verschiedene Spermatogoniengenerationen:

Die <u>A-Spermatogonien</u> des Katers entsprechen dem oben skizzierten Bild der Spermatogonien anderer Spezies. Es handelt sich um große, ovale Zellen, die sich parallel zur Basalmembran anordnen. Der Kern erscheint jedoch euchromatisch, und nur an der Kernmembran sind feine Chromatinverdichtungen erkennbar. Der zentrale Nucleolus stellt sich hell dar.

Die <u>Intermediär-Spermatogonie</u> gleicht ihrer Vorläuferzelle mit der Ausnahme, daß ihr Kern oval ist und einen dunklen Nucleolus und ungleichmäßig verteilte Chromatinschollen aufweist.

Der Zellkern der <u>B-Spermatogonien</u> ist noch dunkler, das Chromatin liegt in Klumpen der Kernmembran an. Die Zellen selbst sind etwas kleiner als die vorhergehenden.

Aus den Spermatogonien gehen <u>Spermatozyten I. Ordnung</u> durch Mitosen hervor. Bei der Ratte treten sie erstmals mit 10 Tagen auf (KORMANO u. HOVATTA, 1972). Während der Prophase der Meiose, die diese Zellen durchmachen, lassen sich auf Grund der Chromatinstruktur 6 Stadien unterscheiden (PIER, 1985):

Präleptotän, Leptotän, Zygotän, Pachytän, Diplotän und Diakinese.

Diese Stadien sind unterschiedlich lang und damit verschieden oft im Tubulusquerschnitt anzutreffen. Resultat der 1. Reifeteilung sind die <u>Spermatozyten</u> <u>II. Ordnung</u>, runde Zellen mit feinmaschig verteiltem Chromatin und undeutlichem Nucleolus, die wesentlich kleiner als die Spermatzypten I. Ordnung sind. Sie durchlaufen die 2. Reifeteilung, wodurch haploide <u>Spermatiden</u> entstehen, die ihnen zunächst sehr ähneln. Anschließend werden die Spermatiden einer Transformation unterzogen, so daß <u>Spermien</u> entstehen. Diesen Vorgang nennt man Spermiogenese (PREM, 1992).

Die Zellteilungen und Differenzierungen laufen koordiniert ab, was zu definierten Zellassoziationen innerhalb der Tubulusquerschnitte führt. Die jeweils jüngeren, reiferen Stadien werden in Richtung auf das Lumen verschoben, was ein mehrschichtiges Tubulusepithel zur Folge hat. Bestimmte Zellassoziationen werden als Stadien bezeichnet, von denen PIER (1985) 8 für den Kater festgelegt hat. Sie legt auch die Kernmorphologie Topographie die sowohl und als Spermatidentransformation der Einteilung zugrunde. Die Stadien folgen in festen zeitlichen Abständen und räumlich entlang der Tubuluslängsachse aufeinander. Dies findet in den Begriffen "Samenepithelzyklus" und "Spermatogenesewelle" seinen Ausdruck.

Der <u>Beginn der Spermatogenese</u> kündigt sich beim Rind erstmals mit 71 Tagen durch das Auftreten von primären Spermatozyten an (SANTAMARINA u. REECE, 1957). Mit 36 beziehungsweise 40 Wochen ist sie voll etabliert (FOSSLAND u. SCHULTZE, 1961; SINOWATZ et al., 1983) und läuft regelmäßig ab. Beim Kater fanden SCOTT und SCOTT (1957) erste Spermatiden im Alter von 12 Wochen, erste Spermien mit 30 bis 36 Wochen. Demgegenüber fanden SANCHEZ et al. (1993a) erst bei 20 bis 35 Wochen alten Katern Spermatozyten I. und II. Ordnung, dies zudem nur in Tubuli, die zu diesem Zeitpunkt bereits ein Lumen aufwiesen. Mit 8 Monaten ist die Spermatogenese beim Kater voll etabliert (SANCHEZ et al., 1993a). In wieweit die ersten Zyklen unvollständig oder verzögert ablaufen, wie es bei anderen Spezies beschrieben wird, ist unbekannt.

#### 2.3.5 Die Lamina limitans

Die Lamina limitans zeigt in adulten Tieren Speziesunterschiede, und auch ihre Entwicklung erfolgt nicht nach einem einheitlichen Schema.

Die innerste Grenzschicht zum Tubulus seminifer ist aber zu jedem Zeitpunkt die schon embryonal deutliche Basalmembran, die postnatal an Dicke zunimmt. Sobald der Tubulusdurchmesser steigt, verringert sich ihre Dicke durch die Dehnung wieder geringfügig (DOSTAL, 1988).

Weitere Anteile der Lamina limitans sind spezialisierte peritubuläre Zellen und nicht zelluläre Bestandteile, die artspezifisch angeordnet sind.

DOSTAL (1988) beschreibt die Entwicklung der Lamina limitans beim Rind: Perinatal liegen der Basalmembran Mesenchymzellen in mehreren Lagen konzentrisch an. Aus ihnen entwickeln sich die LEYDIGschen Zwischenzellen, Fibroblasten und Myofibroblasten. Letztere sind modifizierte Bindegewebszellen, die durch kontraktile Elemente charakterisiert sind und den zellulären Anteil der Lamina limitans bilden. Sie sind ab der 25. Woche nachweisbar. Davor unterscheiden sie sich nur durch ihre topographische Lage im Hoden von anderen Mesenchymzellen. Haben sich die Myofibroblasten differenziert (s. u.), so verlieren sie ihre Fähigkeit, sich mitotisch zu teilen. Als Vorläufer für LEYDIGsche Zwischenzellen stehen sie damit nicht mehr zur Verfügung.

Die Zellen strecken sich mit zunehmendem Reifegrad. Das perinucleäre Zytoplasma wird von Mitochondrien, rauhem endoplasmatischen Retikulum, Polyribosomen und dem GOLGI-Apparat eingenommen. Die kontraktilen Filamente ordnen sich bis in die Zellausläufer achsenparallel an. Micotubuli kommen in ihrer Nachbarschaft gehäuft vor. Der ausdifferenzierte Myofibroblast zeigt darüber hinaus birnenförmige Einstülpungen des Plasmalemms, coated vesicles und vereinzelt dense bodies (DIERICHS u. WROBEL, 1973).

Beim Schwein lassen sich bereits 4 Tage nach der Geburt 3 verschiedene Zellinien erkennen: LEYDIGsche Zwischenzellen, peritubuläre Zellen und junge Fibroblasten. Außerdem findet beim Schwein eine Reduktion der peritubulären Zellagen von neonatal 2 bis 4 auf 1 im adulten Zustand statt (DIERICHS u. WROBEL, 1973). Demgegenüber zeichnet sich die Lamina limitans des geschlechtsreifen Rindes durch bis zu 4 Zellagen aus (DOSTAL, 1988).

Die peritubulären Zellen sind durch Desmosomen besonders an ihren Ausläufern miteinander verbunden. Filamente stellen außerdem die Verbindung zur Basalmembran und dem umliegenden Bindegewebe her (DOSTAL, 1988). Beim Schwein beschreiben DIERICHS und WROBEL (1973) eine innere, zum Tubulus gelagerte, und eine äußere Basalmembran. Letztere grenzt die einzellige Lamina limitans gegen das Bindegewebe ab. Sie ist diskontinuierlich, gleicht aber in ihrer Struktur der inneren Basalmembran.

Zwischen den Myofibroblasten liegt im juvenilen Zustand amorphe Interzellulursubstanz, die mit fortschreitender Differenzierung durch kollagene und elastische Fasern ergänzt wird (DOSTAL, 1988).

Einen speziellen Aufbau zeigt die Lamina limitans der Ratte und Maus, wie sie von LEESON und LEESON (1963) sowie ROSS (1967) beschrieben wird. Anders als beim Rind, aber ähnlich wie beim Schwein, wird die Zahl der Zellagen im Laufe der Entwicklung reduziert. Auf die innere, epitheliale Basalmembran folgen zum Zeitpunkt der Geburt mehrere Lagen von Fibroblasten, die mit der Kollagensynthese beginnen. Gleichzeitig transformieren sich die innersten Bindegewebszellen zu Myofibroblasten. Dann zeigt sich auch an ihrer peripheren Seite eine Basalmembran. Die darauffolgende Lage von Fibroblasten behält ihre enge Beziehung zum Tubulus seminifer bei, während sich die weiter peripher gelegenen lose im umgebenden Bindegewebe anordnen. Somit entsteht eine 4-schichtige Lamina limitans bei Maus und Ratte mit 2 zellulären und 2 nicht-zellulären Komponenten. Die Myofilamente treten mit 25 Tagen in gleichem Maße wie bei adulten Ratten auf. Die Stärke und Frequenz der Kontraktionen isolierter Tubuli seminiferi steigt aber noch bis zum 60. Tag p. n. an (KORMANO u. HOVATTA, 1972).

Eine Besonderheit der Lamina limitans des Rindes und Schafes ist der lamelläre Aufbau der inneren Basalmembran beziehungsweise der inneren nicht-zellulären Schicht. Sie soll eine zusätzliche Komponente der Blut-Hoden-Schranke darstellen (BUSTOS-OBREGÓN u. COUROT, 1974; DOSTAL, 1988).

Für die Lamina limitans des adulten Katers postulieren SANCHEZ et al. (1993a) eine einzige Zellage, die auch schon neonatal angelegt ist. LÜDTKE (1987) findet allerdings 4-6 Lagen Myozyten, die durch dünne Bindegewebsschichten mit enthaltenen Kollagenfasern voneinander getrennt sind. Inwieweit sich die Zellen wie beim Menschen lediglich überlappen (BÖCK et al., 1972) oder sie durch Desmosomen verbunden sind, wird nicht beschrieben. Dennoch schreibt LÜDTKE (1987) der Lamina limitans eine Beteiligung an der Blut-Hoden-Schranke zu. Die Darstellung ihrer Differenzierung, Ultrastruktur (Auftreten von Myofilamenten u.ä.) und nicht-zellulären Bestandteile fehlt.

Lichtmikroskopisch läßt sich tierartübergreifend eine zelluläre Abgrenzung der Tubuli seminiferi gegen das Interstitium feststellen. Zellart (Myofibroblasten oder Fibrozyten) und nicht-zelluläre Komponenten lassen sich erst elektronenmikroskopisch differenzieren. Auf diese Weise können verschieden Typen von Laminae limitantes und damit auch verschiedene Differenzierungsmodi formuliert werden.

#### 2.3.6 Die LEYDIGschen Zwischenzellen

Im Interstitium des Hodens entdeckte und beschrieb LEYDIG (1850) spezialisierte, epitheloide Zellen. Seither sind die ausgereiften LEYDIGschen Zwischenzellen ebenso wie ihre Entwicklung bei verschiedenen Tierspezies (Rind, Ratte, Maus, Schwein, Mensch, Kater) untersucht worden. Ihr offizieller Name ist nach den gültigen Nomina Histologica von 1994 "Endocrinocytus interstitialis", wobei der Eigenname des Entdeckers für diese Zellen weiterhin in der Literatur verwendet wird. Die LEYDIGschen Zwischenzellen haben grundsätzlich die typischen Merkmale steroidhormonproduzierender Zellen, auch wenn darüberhinaus tierartliche Unterschiede bezüglich ihrer Morphologie und Topographie bestehen. Auch verläuft ihre Entwicklung nach verschiedenen Schemata.

Pränatal erscheint eine Population LEYDIGscher Zwischenzellen, die sich unter dem Einfluß mütterlicher Gonadotropine differenziert und bereits Testosteron produziert (NIEMI et al., 1967; AOKI, 1968). Bei einigen Tierarten sind sogenannte "fetale LEYDIGsche Zwischenzellen" auch postnatal noch anzutreffen. (Kaninchen: GONDOS et al., 1975; Hamster: GONDOS et al., 1973; Mensch: NISTAL et al., 1986). In diesem Fall schließt sich in den ersten Wochen nach der Geburt eine Regressionsphase an (DE ROSAS u. RUSSO, 1971; VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954). Bei anderen Spezies sind schon zum Zeitpunkt der Geburt keine Zellen der fetalen Zwischenzellpopulation mehr zu finden.

Das Rind, dessen Hoden postnatal frei von LEYDIGsche Zwischenzellen ist, zeigt zunächst nach Angaben von ABDEL-ROUF (1960) mit 5 bis 6 Monaten, nach Untersuchungen von DOSTAL (1988) dagegen schon mit 4 Wochen erste Anzeichen sich differenzierender Zwischenzellen. Sie entwickeln sich direkt aus interstitiellen Mesenchymzellen und unreifen Fibroblasten, wobei die zuerst entstandenen LEYDIGschen Zwischenzellen oft degenerieren. Mitosen sind nur ausnahmsweise zu finden (DOSTAL, 1988). Andere Autoren beschreiben keine Mitosen der LEYDIGschen Zwischenzellen.

Beim Schwein (DIERICHS u. WROBEL 1973) und Kaninchen (GONDOS et al., 1975) werden 3 Entwicklungsschübe beziehungsweise 3 Populationen LEYDIGscher Zwischenzellen beschrieben: fetale, frühpostnatale und pubertär-adulte. Umstritten ist, ob die aufeinanderfolgenden Populationen jeweils neu aus mesenchymalen Bindegewebszellen entstehen oder ob die bestehenden Zellen verschiedene Entwicklungsphasen durchlaufen. Die Population der adulten LEYDIGschen Zwischenzellen beginnt sich beim Makaken mit fast 3 Jahren zu differenzieren (VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954).

Adulte LEYDIGsche Zwischenzellen zeichnen sich durch einen großen Zelleib aus. Der mittelständige Kern zeigt wenig Heterochromatin, er ist rund, wenig gekerbt und mit einer deutlichen Kernmembran versehen (SANCHEZ et al., 1993b). Ein deutlicher Nucleolus wird beim Rind beschrieben (DOSTAL, 1988). Ein ausgedehntes Netz glatten endoplasmatischen Retikulums, Mitochondrien vom tubulären Typ und plurivakuoläre Fetteinlagerungen sind weitere Charakteristika der LEYDIGschen Zwischenzellen (DYM, 1988). Freie Ribosomen sind zahlreich vorhanden, rauhes endoplasmatisches Retikulum und GOLGI-Apparat dagegen eher unauffällig (PREM, 1992).

Das von den Zellen synthetisierte Testosteron wird an Blut- und Lymphgefäße abgegeben, in deren unmittelbarer Umgebung sich die LEYDIGschen Zwischenzellen anordnen (GONDOS, 1975; DOSTAL, 1988). Auch an die Tubuli seminiferi erfolgt eine Hormonabgabe, was Einfluß auf die Spermatogenese hat. Die SERTOLIzellen produzieren ein androgenbindendes Protein, wodurch Testosteron zusätzlich im Tubulusepithel angereichert werden kann (MEANS, et al. 1976; PREM, 1992).

Die LEYDIGschen Zwischenzellen des Katers gleichen im Wesentlichen denen anderer Spezies. Sie liegen in Gruppen zwischen den Tubuli seminiferi und werden von feinen Fibroblastenausläufern umsponnen (LÜDTKE, 1987). Auffallend ist nach LÜDTKE (1987) ihre enge Beziehung zu Lymphkapillaren und ihr Fettreichtum. Er beschreibt auch Anhäufungen von Glykogengranula, oftmals um die Fetttropfen angeordnet. Eine Besonderheit des Katers bilden außerdem die von WROBEL und HEES (1987) beschriebenen heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen. Sie liegen in der Tunica albuginea und im Stroma des Mediastinum testis, wo sie vermutlich eine ausreichende Testosteronkonzentration im Nebenhodenkopf gewährleisten sollen. In diesem Zusammenhang vermuten die Autoren eine amöboide Beweglichkeit der orthotropen LEYDIGschen Zwischenzellen.

Die Frage, inwieweit LEYDIGschen Zwischenzellen innerviert sind, ist umstritten (NISTAL et al., 1986; LÜDTKE, 1987).

Über die Entwicklung der LEYDIGschen Zwischenzellen beim Kater ist wenig bekannt. SCOTT und SCOTT (1957) beschreiben 2, SANCHEZ et al. (1993b) hingegen 3 Populationen LEYDIGscher Zwischenzellen.

### 2.3.7 Das Interstitium und die Leitungsstrukturen

LEYDIGschen Abgesehen den Zwischenzellen liegen über das von Hodeninterstitium und dessen Entwicklung nur wenige Untersuchungen vor. Das intertubuläre Gewebe nimmt beim Kalb etwa 50 % des Hodens ein (DOSTAL, 1988). Es handelt sich um lockeres Bindegewebe, mit sehr weiten Maschen. Ovoide bis spindelförmige Mesenchymzellen (GOYAL u. DHINGRA, 1973) beziehungsweise Fibrozyten (SINOWATZ et al. 1983) sowie zahlreiche dünne und wenige dickere kollagene Fasern prägen das Bild. Die Bindegewebszellen weisen bei juvenilen Tieren speziesabhängig unterschiedliche Reifegrade auf. So findet man Mesenchymzellen, Fibrozyten, unreife und nahezu ausgereifte LEYDIGsche Zwischenzellen (DOSTAL, 1988; PRINCE, 1984; GONDOS et al., 1975). Zudem werden verschiedene Zellen der lymphozytären und monozytären Zellinie beschrieben (DOSTAL, 1988). Mit dem Wachstum der Tubuli seminiferi nimmt der intertubuläre Gewebsanteil ab. Die Differenzierung der LEYDIGschen Zwischenzellen, die neben einer zahlenmäßigen Vermehrung auch an Umfang zunehmen, führt zu einer ungleichen Verteilung der interstitiellen Komponenten. Wenige Fibrozyten und Bindegewebsfasern umspinnen die Tubuli seminiferi außerhalb der Lamina limitans sowie die Gruppen LEYDIGscher Zwischenzellen, wodurch zellarme Bereiche und solche, in denen die LEYDIGschen Zwischenzellen liegen, anzutreffen sind. Zu den beschriebenen lymphozytären und Zellen zählen Lymphozyten, Plasmazellen, monozytären Monozyten und Makrophagen. Eine spezielle phagozytierende Zelle des Hodens stellt die von DOSTAL (1988) beim Rind gefundene "Light Intercalated Cell" dar, der außerdem eine Hilfsfunktion in der Androgenproduktion zugeschrieben wird.

Die im intertubulären Gewebe eingebetteten Gefäße durchziehen den Hoden nicht gleichmäßig. Vielmehr liegen zum Teil recht großkalibrige Gefäße direkt unter und innerhalb der Tunica albuginea (STIEVE, 1930). An anderer Stelle werden nur in retenahen Bereichen größere Gefäße beschrieben (DOSTAL, 1988). Gleiches gilt für die im juvenilen Hoden beschriebenen zellarmen Bereiche, die von großlumigen, dünnwandigen Blutgefäßen durchzogen werden. Lymphgefäße wurden im ausgereiften
Katerhoden nicht nur, wie beim Menschen beschrieben, in den Septula testis gefunden (HOLSTEIN et al., 1979), sondern sie treten auch zwischen die LEYDIGschen Zwischenzellen (LÜDTKE, 1987). Sie fungieren als Verteilungsbahnen für das Testosteron (CHRISTENSEN, 1975).

#### 2.3.8 Der Hormonspiegel und morphometrische Daten

Der Gesamtorganismus, im Besonderen auch die männlichen Geschlechtsorgane unterliegen postnatal bezüglich ihrer Entwicklung und ihrer Funktion hormonellen Einflüssen. Die Regulation erfolgt auf drei Ebenen, die sich untereinander wiederum beeinflussen.

Aus dem Hypothalamus werden Releasinghormone freigesetzt (McCANN et al., 1960), die die Inkretion der gonadotropen Hypophysenhormone FSH und LH bewirken. Das follikelstimulierende Hormon spielt im männlichen Organismus eine untergeordnete beziehungsweise indirekte Rolle. Es bewirkt in den SERTOLIzellen die Synthese des Androgenbindenden Proteins (ABP) sowie die Produktion von lokal und zentral wirkenden Peptiden (MEANS et al., 1976). Letztere wirken hemmend und/oder stimulierend auf die Gonadotropine und/oder ihre Releasinghormone. Das LH, auch ICSH (Interstitial-cell stimulating hormone) genannt, greift wahrscheinlich ausschließlich an den LEYDIGschen Zwischenzellen an, in denen es die Androgenproduktion und -sezernierung fördert. Unter den Androgenen kommt Testosteron und 5 -Dihydrotestosteron aufgrund ihrer stärksten Wirkung die größte Bedeutung zu. Oftmals wird innerhalb der Zielzelle das Testosteron erst zu 5 -Dihydrotestosteron reduziert, das zumindest intratestikulär eine stärkere Wirkung hat als die nicht reduzierte Form (DORFMAN u. SHIPLEY, 1956). Testosteron selbst wird über Pregnenolon aus Cholesterol synthetisiert, wobei auch dieses schon größtenteils innerhalb der LEYDIGschen Zwischenzellen hergestellt wird, da diese nur geringem Maße Cholesterol aus dem Blut aufnehmen können. in Die Testosteronsynthese ist neben den Zwischenzellen des Hodens auch in denen des Ovars und in der Nebenniere möglich (DÖCKE, 1994).

Nach der Abgabe der Hormone aus den LEYDIGschen Zwischenzellen gelangt ein Teil direkt in die Blut- und Lymphkapillaren, während ein anderer Teil durch die Lamina limitans zu den SERTOLIzellen gelangt. Hier werden sie zunächst an membranständige Rezeptoren gebunden. Über cytosolische und kernständige Rezeptoren entfalten die Androgene ihre zentrale, gonadale und periphere Wirkung (DÖCKE, 1994).

Ihre periphere Wirkung zeigt sich während und nach der Pubertät in der Ausbildung und Erhaltung der männlichen Geschlechtsmerkmale sowie der Ausprägung der männlichen Geschlechtsorgane. Zentral bewirken die Gonadenhormone das männliche Sexualverhalten. Innerhalb des hormonellen Regelkreislaufs führen sie hier zu einem negativen feedback auf die gonadotropen Hormone. Innerhalb des Hodens wirken die Androgene vor allem auf die SERTOLIzellen und sowohl über diese als auch direkt auf die Zellen der Spermiogenese (BILINSKA et al., 1996; ZHOU et al., 1996).

Das in den SERTOLIzellen unter FSH-Einfluß gebildete ABP ermöglicht eine Testosteronanreicherung im Keimepithel, zumal eine frühzeitige Verstoffwechselung verhindert wird. Die Testosteronkonzentration im Keimepithel steigt auf diese Weise auf das 10fache der Konzentration im Blut (MEANS et al., 1976). Die Androgene nehmen entscheidenden Einfluß auf die meiotische Reduktionsteilung und auf die Differenzierung der Spermatiden. Die Entwicklung der Myofibroblasten unterliegt ebenfalls einem Testosteroneinfluß, was gleichermaßen auf die Kontraktion der Zellen zutrifft (HOVATTA, 1972). Auch die Reifevorgänge der Spermien im Nebenhoden erfolgt unter Testosteronwirkung, das an das ABP gebunden über das Rete testis in den Ductus epididymidis gelangt.

Bei verschieden Spezies ist die Testosteronkonzentration<sup>4</sup> im Serum der Tiere untersucht worden. Aus den im Verlauf der postnatalen Entwicklung ermittelten Hormonkonzentrationen und morphologischen Daten wurde versucht, Korrelationen zwischen beiden herzustellen.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Die Tests zur Ermittlung der Testosteronkonzentration im Blut erfassen unter Umständen auch einige wirksame Derivate wie z.B. Dihydrotestosteron. Der Einfachheit halber wird im Folgenden nur der Ausdruck "Testosteronkonzentration" verwendet.

Bei Jungtieren liegt der Testosteronkonzentration in der Regel sehr niedrig (Rind: ZEROBIN u. THUN, 1983; Ratte: ICHIHARA et al., 1993; Schwein: DORST et al., 1976). Liegen perinatal höhere Werte vor als wenige Tage/Wochen nach der Geburt, so wird dies auf die Proliferation der LEYDIGschen Zwischenzellen und der damit einhergehenden Hormonproduktion unter Einfluß mütterlicher Gonadotropine zurückgeführt (DÖCKE, 1994). Dies deckt sich mit den Beobachtungen, daß bei einigen Spezies pränatal mehr reife LEYDIGsche Zwischenzellen vorhanden sind, als wenige Wochen nach der Geburt (VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954; TONUTTI al., 1960). Mit fortschreitendem Alter setzt die Hormonsekretion ein et beziehungsweise steigt sie an, so daß man beim Rind beispielsweise mit 4 bis 5 Monaten eine zunehmende Hormonkonzentration im Serum feststellen kann (ZEROBIN u. THUN, 1983). Bei Ebern fanden DORST et al. (1976) einen sigmoidalen Anstieg des Testosterons im Serum. Die Konzentration korreliert bei 4 bis 4<sup>1</sup>/<sub>2</sub> und 7 bis 9 Monate alten Tieren besonders deutlich mit dem Volumen des Keimepithels (Germinativums). Zur Tubuluslänge ist die Korrelation nicht ganz so eng, ab einer Konzentration von 220 ng/ml nimmt sie noch weiter ab. SANCHEZ et al. (1993b) konnten bei neugeborenen Katern immunhistochemisch Testosteron<sup>5</sup> nachweisen. Sie beschreiben außerdem, daß die Testosteronproduktion im 1.-4. Lebensmonat zunächst wieder ab- und ab dem 5. Lebensmonat wieder zunimmt.

Von DORST und SAJONSKI (1974b), HILDEBRAND (1971), DOSTAL (1988) und anderen wurden auch Beziehungen morphometrischer Parameter untereinander aufgedeckt. So haben beim Schwein das Hodenvolumen, das Volumen des Parenchyms sowie die Tubulusdurchmesser und -längen eine enge Beziehung zum Alter der Tiere, die erst ab dem achten Lebensmonat weniger deutlich ist. ATTAL und COUROT (1963) konnten beim Rind eine lineare Abhängigkeit des Tubulusvolumen und des Hodengewichtes nachweisen.

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> In der Regel erfolgt der Nachweis der Testosteronproduktion über die Darstellung der Enzyme der Synthesekette. Vereinfacht wird im Folgenden von dem Nachweis der Testosteronproduktion oder auch von Testosteronnachweis gesprochen.

Demgegenüber ist der Tubulusdurchmesser mit steigendem Hodengewicht stärker, die Tubuluslänge weniger stark von letzterem abhängig.

Für den Kater liegen weder morphometrische Daten vor noch wurde die Serumtestosteronkonzentration juveniler Tiere bisher gemessen.

#### 3. MATERIAL UND METHODEN

Die vorliegende Untersuchung besteht aus einem morphologischen und einem morphometrischen Teil. Ein Teil des für die morphologischen Untersuchungen entnommenen Materials wurde auch für die Morphometrie genutzt. Die morphometrischen Daten wurden durch parallele Testosteronbestimmungen im Plasma ergänzt.

#### 3.1 MATERIAL

Das Material stammt von 67 europäischen Kurzhaarkatern. Vier Kater leben in Privathaushalten, die übrigen stammen aus der Versuchstierzucht des Instituts für Veterinär-Anatomie des Fachbereiches Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin (FUB).

Die standardisierten Lebensbedingungen, unter denen der überwiegende Teil der Tiere gelebt hat, ermöglicht es, haltungs- und fütterungsbedingte Entwicklungsschwankungen zu vermeiden.

Zur Probengewinnung wurden die Kater im Alter zwischen der Geburt und 12 Monaten mit der von SCHEBITZ (1985) beschriebenen Methode kastriert. Zusätzlich wurden die Hoden eines Feten vom 44. Tag der Trächtigkeit untersucht.<sup>6</sup>

Für die Bestimmung der Testosteronkonzentration im Plasma wurden insgesamt 24 Blutproben gewonnen. Die Tiere stammen aus der genannten Versuchstierzucht (18) und aus privaten Tierarztpraxen (6)<sup>7</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Diese Material stammt aus der histologischen Sammlung des Institutes und wurde im Rahmen einer anderen Untersuchung entnommen. Die Genehmigung des Tierversuchs liegt vor (Berliner Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales Abt. IV A 4-5855/17-97/88, erteilt am 26. Juli 1988)

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Die Genehmigung dieses Tierversuchs liegt vor (Registriernummer 0366/92) und die Blutentnahme bei Versuchstieren wurde ordnungsgemäß bei der Berliner Senatsverwaltung für Gesundheit Abt. IV angezeigt.

#### 3.2 HISTOLOGISCHE METHODEN

Direkt nach der Kastration wurden die Hoden von ihren Anhängen und dem Nebenhoden getrennt, gewogen und median in ihrer Längsachse halbiert. Einer der beiden Hoden wurde für die lichtmikroskopische Untersuchung weiterverarbeitet, der andere für die Elektronenmikroskopie genutzt.

Für die Lichtmikroskopie wurden die Proben nach einer 3stündigen Immersionsfixierung nach Stieve (ROMEIS 1989) über die aufsteigende Alkoholreihe, Methylbenzoat und Xylol in Paraffin gebracht. Die Fixierung nach Stieve wurde gewählt, da sie sich in Vorversuchen als besonders geeignet für das Hodengewebe des Katers erwies.

 $5 \mu m$  dicke Schnitte wurden HE (Hämatoxylin-Erythrosin), CHP (Chromalaunhämatoxilin-Phloxin nach GOMORI) und PAS (periodicacid-Schiff-Reagenz) gefärbt. Diese Färbungen bieten eine gute Übersicht sowie eine gute Darstellung der Kernstruktur und der Akrosomenentwicklung. Für die Untersuchung des interstitiellen Fasergerüstes wurde außerdem eine Versilberung nach GOMORI durchgeführt.

Die angegebenen Fixierungen und Färbungen erfolgten nach ROMEIS (1989).

Die Befunderhebung erfolgte an einem Mikroskop vom Typ ORTHOPLAN der Firma LEITZ.

#### 3.3 ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG

Unmittelbar nach der Organentnahme wurden aus verschiedenen Abschnitten des Hodens Proben mit einer Kantenlänge von 2 x 2 x 5 Millimetern entnommen und im Fixiergemisch nach Karnowsky für 3 Stunden immersionsfixiert. Darauf folgte eine Nachfixierung in 1% iger OsO<sub>4</sub> - Lösung für 2 Stunden und eine Blockkontrastierung in 5% igem Uranylacetat. Anschließend wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und in Epoxy-Resin eingebettet. Von den Blöckchen wurden auf einem Ultramikrotom (Firma REICHERT-JUNG) Semidünnschnitte mit einer Dicke von einem Mikrometer angefertigt und mit 3% iger Toluidinblaulösung gefärbt. Nach der lichtmikroskopischen Untersuchung der Semidünnschnitte wurden Stellen für die ultrastrukturelle Untersuchungen ausgewählt. Von den ausgewählten Stellen wurden Ultradünnschnitt mit einer Dicke von 60 bis 80 Nanometern hergestellt, auf befilmten Kupferringblenden aufgefangen und mit Bleizitrat nachkontrastiert.

Die Befunderhebung und fotografische Dokumentation erfolgten an einem Zeiss Elektronenmikroskop EM 10 und an einem Elektronenmikroskop EM 101 der Firma Siemens.

#### 3.4 DARSTELLUNG DER BLUT-HODEN-SCHRANKE

Zur Darstellung der Blut-Hoden-Schranke wurden Hoden von 10 Katern mit Lanthannitrat perfusionsfixiert (6 Hoden) oder immersionsfixiert (14 Hoden). Zur Fixierung diente ein Gemisch aus 2 % Lanthannitrat und 2 % Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer (HINTON u. SETCHELL, 1993; SETCHELL et al. 1994). Nach Präparation der Gefäße unter der Lupe erfolgte die Perfusion über die Arteria testicularis. Anschließend wurden die Hoden in kleine Stücke geschnitten und wie die Proben aus der Fixierung ohne Lanthannitrat weiterverarbeitet. Gelang die Perfusion nicht, so wurden kleine Probenstücke in dem lanthannitrathaltigen Fixans immersionsfixiert. Auf diese Weise konnte also sowohl die Permeabilität der Gefäße, als auch die Durchlässigkeit der Lamina limitans der Tubuli seminiferi convoluti, der Tubuli seminiferi recti und des Rete testis für niedermolekulare Stoffe dargestellt werden.

## 3.5 MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNG UND STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die morphometrische Untersuchung erfolgte an einem Mikroskop vom Typ Axioskop der Firma ZEISS mittels eines speziellen Computerprogrammes (KONTRON KS400<sup>®</sup>).

Es wurden nur Hoden von Katern vermessen, von denen auch eine Blutprobe untersucht wurde und deren Gewicht direkt nach der Kastration ermittelt worden war. Insgesamt wurden Hoden von 17 Katern im Alter von 3 Tagen bis zu 12 Monaten vermessen. Es wurde jeweils der gefärbte histologische Schnitt ausgewertet, der das Organ längs in der Medianen teilt. Über eine mit dem Mikroskop verbundene digitale Videokamera (Sony 3CCD<sup>®</sup>) wurde die gesamte Schnittfläche in mehreren Bildern in das Computerprogramm überführt. Da die bereits aufgenommenen Bereiche am Bildschirm angezeigt werden, konnte eine Überschneidung oder Auslassung von Bereichen des Schnittes ausgeschlossen werden. Anschließend wurden die Bilder nacheinander ausgewertet.

Zunächst wurde jeweils die <u>Gesamtfläche</u> eines Bildes ermittelt. Anschließend wurden auf einem Digitalisiertablett (SummaSketch III<sup>®</sup>) alle Anschnitte der Tubuli seminiferi mit der Stiftmaus umfahren. Eine farbige Markierung der bereits umfahrenen Tubuli am Bildschirm schloß eine doppelte Vermessung von Tubuli aus.

Die Software ermöglicht durch diesen Arbeitsschritt die Messung der einzelnen <u>Tubulusflächen</u> und die Angabe des <u>größten</u> und <u>kleinsten Durchmessers</u> für jeden Tubulus. Es wurden alle Tubuli seminiferi innerhalb einer Bildfläche vermessen, unabhängig von ihrem Anschnitt (quer, schräg oder längs). Mit den anderen Bildern wurde genauso verfahren, bis alle Bilder eines Hoden und damit die gesamte Schnittfläche des Organs ausgemessen war. Danach wurden die erhobenen Daten in das Programm EXCEL 97<sup>®</sup> (Microsoft) überführt.

Das Programm EXCEL 97<sup>®</sup> ermöglicht die einfache Berechnung auch großer Datenmengen:

- 1. Die Addition aller Gesamtflächen der einzelnen Bilder liefert die Gesamtschnittfläche des Hodens.
- Die Addition aller Tubulusflächen in allen Bildern liefert die Gesamtfläche der Tubuli seminiferi in der medianen Schnittfläche des Organes, also die Fläche des Parenchyms.
- 3. Die Differenz dieser beiden Flächen (Gesamtfläche-Tubulusgesamtfläche) stellt die Fläche des Interstitiums in absoluten Zahlen dar.
- 4. Durch Umrechnung kann die Fläche des Interstitiums oder auch des Parenchyms in relativen Zahlen angegeben werden.
- 5. In die Berechnung des Mittelwertes des Tubulusdurchmessers gingen die Durchmesser aller <u>runden</u> Tubuli seminiferi ein.
- 6. In die Berechnung des Mittelwertes des Tubulusfläche gingen ebenfalls nur die Flächen der <u>runden</u> Tubuli ein.

 Zusätzlich wurde die Anzahl der runden Tubuli und die Anzahl der ausgemessen Tubuli insgesamt erfaßt.

Als "rund" wurden alle Tubuli betrachtet, deren Quotient aus größtem und kleinstem Durchmesser kleiner als 1,4 ist. Bei einem idealen Querschnitt ist der Quotient 1. In Anlehnung an die Literatur (PIER, 1985; TIBA, 1965) und unter Berücksichtigung der morphologischen Gegebenheiten im Hoden von Katern verschiedenen Alters wurde die Grenze für das Kriterium "runder Tubulus" dennoch weiter (1,4) angelegt. Für die Durchmesser und Flächen der als rund bezeichneten Tubuli wurden der Mittelwert und die Standardabweichung ermittelt. Zum Vergleich der Tubulusdurchmesser und –flächen von im Alter aufeinanderfolgender Tiere wurde der t-Test gemacht. Es wird davon ausgegangen, daß sich die Mittelwerte zweier Tiere unterscheiden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit (p) kleiner als 0,05 ist.

Außerdem wurden der Koeffizient nach SPEARMAN für korrelative Zusammenhänge zwischen verschiedenen Variablen eruiert. Sämtliche statistischen Berechnungen erfolgten im Programm SPSS<sup>®</sup> für WINDOWS 95<sup>®</sup>.

#### 3.6 BLUTUNTERSUCHUNG

Für die Bestimmung der Testosteronkonzentration im Plasma wurden 24 Blutproben gewonnen. Um den Einfluß der circadianen Rhythmik auf die Hormonkonzentration (ZEROBIN u. THUN, 1983) auszuschließen, erfolgte die Blutentnahme jeweils um 10.00 Uhr. Das aus der Vena cephalica entnommene und heparinisierte Blut wurde zunächst zentrifugiert (4000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten) und das Plasma anschließend bei -22 °C eingefroren, bis sämtliche Probenentnahmen abgeschlossen waren.

Die Hormonbestimmung erfolgte mit einem Radioimmunassay (RIA) der Firma Hermann Biermann GmbH. Die Durchführung des RIA erfolgte im Isotopenlabor der Klinik für Schweinekrankheiten der FU Berlin.

Der "Coat-A-Count" - Testosteron-RIA erlaubt eine in-vitro - Bestimmung von Testosteron im Plasma nach dem Prinzip des kompetetiven Immunassays. Hierbei konkurrieren Plasma-Testosteron und mit radioaktivem Jod<sup>125</sup>-markiertes Testosteron um eine begrenzte Zahl von Bindungsstellen hochspezifischer Antikörper, die auf der Innenwandung von Polypropylenröhrchen fest aufgebracht sind (solid phase). Nach Beendigung beziehungsweise Gleichgewichtseinstellung der Reaktion wird das freie, nicht an den Antikörper gebundene Testosteron abgeschüttet und die Radioaktivität der leeren Röhrchen in einem Gammacounter gemessen. Je geringer die gemessene Radioaktivität ist, um so höher ist die Plasmatestosteronkonzentration. Durch Vergleich von unter gleichen Bedingungen behandelten Standards läßt sich die Menge Testosteron pro ml Plasma aus der Standardkurve ablesen. Die untere Nachweisgrenze des Testes liegt bei 0,04 ng/ml. Alle ermittelten Konzentrationen, die kleiner als 0,04 ng/ml waren, erhielten daher den Wert "Null".

Die Plasmaproben wurden grundsätzlich einer Doppelbestimmung unterzogen. Darüber hinaus wurden in einem Vorversuch 4 Proben von geschlechtsreifen Katern, 3 Proben von geschlechtsreifen, kastrierten Katern und 3 Proben von weiblichen Katzen untersucht. Die Proben der unkastrierten Kater wurden mit zwei verschiedenen Testbestecken untersucht. Neben dem oben beschriebenen Test wurde ein weiteres Testbesteck verwendet, das in der Klinik für Schweinekrankheiten routinemäßig für Testosteronbestimmungen verwendet wird<sup>8</sup>. Mit 3 Plasmaproben von Ebern, die mir aus der Klinik für Schweinekrankheiten zur Verfügung gestellt wurden, wurde ebenso verfahren. Die Ergebnisse der beiden Tests stimmten überein, und die experimentell ermittelten Werte waren mit den Angaben in der Literatur vergleichbar (siehe Anhang).

Die Tabelle 1 liefert eine Zusammenfassung des entnommenen Materials und der durchgeführten Methoden beziehungsweise der erfolgten Untersuchungen.

Die weiteren Angaben zur Validierung des Tests können dem Anhang entnommen werden.

<sup>&</sup>lt;sup>8</sup> Testosterone Maia<sup>®</sup>, Firma Serono<sup>®</sup>, untere Nachweisgrenze: 0,064 ng/ml.

Tabelle 1

Katze	Alter	LM	TEM	BHS	Morpho-	RIA
Nr.					metrie	
1	44. d p.c.	Х				
2	neugeboren	Х	X			
3	neugeboren	Х	X			
4	neugeboren	Х				
5	neugeboren			I, P		
6	3 Tage	Х				
7	1 Wochen	Х	X		X	Х
8	2 Wochen	Х	X			
9	3 Wochen	Х			X	Х
10	4 Wochen			I, I		
11	5 Wochen	Х	X		X	Х
12	5 Wochen	Х	X			
13	6 Wochen		X			
14	8 Wochen	Х	X		Х	Х
15	8 Wochen	Х				
16	8 Wochen	Х				
17	8 Wochen	Х	X			
18	9 Wochen	Х				
19	9 Wochen	Х				
20	10 Wochen	Х	X		X	Х
21	10 Wochen	Х	X			
22	12 Wochen	Х	X		Х	Х
23	3 Monate	Х				
24	3 Monate	Х	X			
25	14 Wochen	Х	X		X	Х
26	3,5 Monate	Х	X			
27	3,5 Monate			Ι		
28	3,5 Monate	Х				
29	3,75 Monate	Х				
30	16 Wochen	Х	X		X	Х
31	4 Monate			Ι		
32	4 Monate			I, P		
33	4 Monate			I, P		
34	4 Monate	Х	X			
35	4 Monate	Х	X			
36	4 Monate	Х	X			
37	4,25 Monate			I, P		
38	18 Wochen	X	X		X	X
39	4,5 Monate	Х				
40	20 Wochen	Х	X		Х	Х
41	5 Monate	Х				
42	22 Wochen	Х	X		Х	Х
43	5,5 Monate			I, P		
44	5,75 Monate			I, I		
45	24 Wochen	Х	X		Х	Х
46	6 Monate	Х	X			Х
47	6 Monate	X				

Katze Nr.	Alter	LM	TEM	BHS	Morpho- metrie	RIA
48	6 Monate	Х				
49	6 Monate	Х				
50	26 Wochen	Х	X		X	Х
51	6,75 Monate	Х	X			
52	6,75 Monate	Х	X			
53	28 Wochen	Х	X		X	Х
54	7 Monate			I, P		
55	7 Monate	Х	X			
56	7,5 Monate	Х	X			
57	32 Wochen	Х	X		X	Х
58	8 Monate	Х	X			
59	8 Monate	Х				
60	9 Monate	Х				
61	40 Wochen	Х			X	Х
62	10 Monate	Х	X			
63	10 Monate	Х	X			
64	48 Wochen	Х	X		Х	Х
65	12 Monate	Х	X			
66	12 Monate	Х	X			
67	12 Monate	Х				

BHS Darstellung der Blut-Hoden-Schranke mittels lanthannitrathaltigem Fixans

- LM lichtmikroskopische Untersuchung
- TEM transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung
- RIA Messung der Plasmatestosteronkonzentration mittels Radioimmunassay
- X durchgeführte Methode/Untersuchung
- I Immersionsfixierung mit lanthannitrathaltiger Lösung
- P Perfusionsfixierung mit lanthannitrathaltiger Lösung

Die Altersangaben erfolgen in Tagen, Wochen (z. B. 20) oder Monaten (z. B. 5).

#### 4. ERGEBNISSE

#### 4.1 DIE POSTNATALE ENTWICKLUNG DES HODENS

#### 4.1.1 Die Architektur des Hodens

Bei den zum Zeitpunkt der Geburt kastrierten Katern lag der Hoden bereits im Hodensack, Skrotum. Nur in Ausnahmefällen befand er sich noch in der Regio inguinalis. Der Hoden wird umhüllt von der Skrotalhaut samt Tunica dartos, der Fascia spermatica externa und interna sowie der Lamina parietalis der Tunica vaginalis (Periorchium). Wie in Abbildung 1a-c zu sehen, liegt die Lamina visceralis der Tunica vaginalis (Epiorchium) direkt dem Hoden auf und ist mit der Organkapsel, der Tunica albuginea, verwachsen. Die Tunica albuginea besteht aus einer äußeren, faserreichen Schicht (Stratum fibrosum) und aus einer gefäßreichen, inneren Schicht (Stratum vasculosum)<sup>9</sup>. Beide Schichten werden schon pränatal angelegt. Beim neugeborenen Kater ist das Stratum fibrosum zunächst relativ zellreich und faserarm (Abb.1b). Spindelförmige, lang ausgezogene Fibroblasten liegen übereinander. Bis zu 20 Zellagen bilden zusammen mit kollagenen Fasern diese Schicht. Das ändert sich bereits innerhalb der ersten 5 Lebenswochen: Die Dicke des Stratum fibrosum nimmt zu, was vornehmlich auf einen steigenden Anteil kollagener Fasern zurückzuführen ist, woraus eine mit der Reifung einhergehende relative Zellarmut resultiert. Die Blutgefäße des Stratum vasculosum sind bei 5 Wochen alten Katern ebenfalls weitlumiger und zahlreicher als direkt nach der Geburt, wodurch die Dicke des Stratum vasculosum ebenfalls zunimmt. Die Wände der Blutgefäße (Arteriolen und Venulen) bleiben jedoch trotz zunehmenden Kalibers dünn. Sie sind von wenig feinfaserigem Bindegewebe umgeben. Vereinzelte größere Spalträume erweisen sich als endothelausgekleidete Lymphgefäße. Die dickwandigen Versorgungsstrukturen

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Im Folgenden werden die beiden Schichten als Stratum fibrosum und Stratum vasculosum, ihre Gesamtheit als Tunica albuginea bezeichnet. In den gültigen N. H. finden die beiden Schichten als Tunica albuginea und als Tunica vasculosa Berücksichtigung.

(Arterien und Venen) sind in das straffe Bindegewebe der Tunica albuginea eingebettet. Durch das Wachstum der Tubuli seminiferi wird die Gefäßschicht an die Peripherie gedrängt und auf eine geringere Dicke zusammengeschoben. Das vorübergehend zum Stratum vasculosum hin verschobene Verhältnis zwischen den beiden Schichten der Tunica albuginea relativiert sich dadurch wieder. Diese Entwicklung beginnt in der 5. Lebenswoche und ist im 4. Lebensmonat abgeschlossen (Abb.1c). Im weiteren Verlauf der Entwicklung verändert sich die Tunica albuginea nicht mehr.

Die überwiegend klare Grenze zwischen Tunica albuginea und Hodenparenchym ist an einigen Stellen unterbrochen. Hier umgeben epitheloide, große, kubische LEYDIGsche Zwischenzellen mantelartig die Gefäße des Stratum vasculosum oder unterfüttern die Hodenkapsel in Form von Zellnestern. Kleine Zellnester oder Stränge von LEYDIGschen Zwischenzellen liegen auch innerhalb des Stratum fibrosum der Tunica albuginea (Abb.1b-c und Abb.6a-b).

Ausgehend von der Tunica albuginea strahlen Bindegewebssepten in den Hoden und teilen das Parenchym in Läppchen ein. Sie sind anfangs sehr fein und unauffällig, treten aber zunehmend deutlicher hervor. Mit 10 Wochen entsprechen die Septen jenen im Hoden adulter Kater.



Abb. 1a Hoden, Kater, 3 Tage (HE); Übersicht



**Abb. 1b** Hoden, Kater, 3 Tage (HE); Tunica albuginea

**Abb. 1c** Hoden, Kater, 4 Monate (Trichrom); Tunica albuginea

A Arterie, L LEYDIGsche Zwischenzellen, MT Mediastinum testis, PV Processus vaginalis, TA Tunica albuginea, → Tubulus seminifer convolutus, ► Tubulus rectus, \* Cavum vaginale

Innerhalb der <u>Hodenläppchen</u> liegen die Tubuli seminiferi bzw. Keimstränge. Pränatal (44. Tag p. c.) sind nur im Zentrum der Keimdrüsenanlage deutlich abgegrenzte Tubuli zu erkennen, während die Peripherie tubulusähnliche Gebilde vermissen läßt. Bei neugeborenen Katern hingegen sind die Keimstränge gleichmäßig verteilt. Im Schnittpräparat finden sich in annähernd gleichem Ausmaß Längs- und Querschnitte. Dazwischen liegen Nester und Stränge von interstitiellen Zellen (Abb.1a und Abb.2a). Bei dem in dieser Studie vermessenen Hoden eines 3 Tage alten Katers beträgt der interstitielle Anteil am gesamten Hodengewebe 69,4 %. Wie später gezeigt wird, vermindert sich der interstitielle Anteil am gesamten Hodengewebe kontinuierlich zugunsten parenchymatöser Strukturen.

Durch Längenwachstum knäueln sich die Tubuli sehr stark auf, so daß ab dem 3. Lebensmonat sehr viel mehr Querschnitte anzutreffen sind als in den ersten Lebenswochen. Auch in der weiteren Entwicklung sind die Tubulusanschnitte im Hoden gleichmäßig verteilt. Lediglich im Bereich der oben beschriebenen nestartigen Anhäufungen von LEYDIGschen Zwischenzellen unterhalb der Tunica albuginea, reichen die Tubuli seminiferi nicht bis an die Hodenperipherie heran. Eine weitere Abweichung bilden tubulusfreie inselartige Bezirke aus sehr lockerem Bindegewebe, die man in Hoden bis zu 4 Monate alter Kater findet (Abb.2a). Diese Bezirke sind zell-und gefäßarm und weisen nur wenige LEYDIGsche Zwischenzellen auf. Eine charakteristische Anordnung dieser Areale innerhalb des Organes ist nicht zu beobachten. Vielmehr scheinen sie regellos verteilt im Hodenläppchen zu liegen. Im Laufe der postnatalen Entwicklung wird das intertubuläre Gewebe generell enger zusammengeschoben, so daß auch diese strukturarmen Inseln verschwinden. Die morphometrische Untersuchung des Hodens eines 12 Monate alten Katers ergab einen relativen Anteil des Interstitiums am gesamten Hodengewebe von 12,54 %.

Neben dem Längenwachstum der Tubuli seminiferi findet auch ein Dickenwachstum statt, so daß der Tubulusdurchmesser bei geschlechtsreifen Katern ungefähr 3,5mal so groß ist wie der bei neugeborenen Katern.<sup>10</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>10</sup> Die morphometrischen Untersuchungen ergaben einen mittleren Tubulusdurchmesser von 74,24 μm bei einem 3 Tage alten Kater und 248,91 μm bei einem 12 Monate alten Kater.

Der Medianschnitt durch den Hoden läßt zentral das Mediastinum testis mit dem Rete testis erkennen. Das Rete testis und die <u>Tubuli seminiferi recti</u> haben bereits beim Neugeborenen ein Lumen ausgebildet (Abb.1a und Abb.2b). Sie sind mit einem einschichtigen, iso- bis hochprismatischen Epithel ausgekleidet. Das Cytoplasma der Epithelzellen ist kräftig gefärbt und fein granuliert, der Kern ist ovoid mit Nucleolus und feinkrümeligem Chromatin. Die Lamina limitans der Tubuli seminiferi recti umfaßt 2 bis 3 Zellschichten, die flacher sind und enger zusammen liegen, als es an den gewundenen Abschnitten der Fall ist. Der Tubulus seminifer convolutus ragt zapfenförmig in das Lumen des Tubulus seminifer rectus hinein. Der Zapfen wird überwiegend von SERTOLIzellvorläufern gebildet, wobei man vereinzelt auch degenerierende Keimzellen findet (Abb.2b).



Abb. 2a Anordnung der Tubuli seminiferi, Kater, 5 Wochen (HE)



# Abb. 2b

Übergang Tubulus seminifer convolutus und rectus, Kater, 3 Tage (HE)

A Arterie, L LEYDIGsche Zwischenzellen, TR Tubulus rectus, TS Tubulus seminifer, → Pfropf aus SERTOLIzellen, ► degenerierende Keimzelle, ≭ tubulusfreie Areale, ▷ Mitose

Erste Veränderungen, die auf eine <u>Lumenbildung</u> in den Tubuli seminiferi convoluti hinweisen, treten mit 4 Monaten auf (Abb.3a-c). Die zentralen Plasmamassen verlieren ihre Kompaktheit und stellen sich zunehmend fädiger, in Tropfen oder zerrissen dar oder sie werden vakuolisiert. Bei Hoden 4 Monate alter Kater enthalten die Tubuli 1-4 Vakuolen, durch die die Plasmamassen verdrängt werden.

Wie in den Abbildungen 3a und 3b belegt ist, weist der Hoden eines 4 Monate alten Katers unterschiedliche Bereiche auf: Tubulusabschnitte, die weiter peripher liegen, weisen zum Teil schon ein vollständiges Lumen auf (Abb.3a), während Tubuli, die in der Nähe des Rete testis liegen noch solide sind. Des weiteren fällt auf, daß der Durchmesser der peripheren Tubuli deutlich größer ist als der der zentralen Tubuli.

Auf elektronenoptischem Niveau zeigt sich, daß vornehmlich die SERTOLIzellen an der Lumenbildung beteiligt sind (Abb.3c). Innerhalb ihres Zytoplasmas treten kleinere Vakuolen auf, die zu größeren konfluieren und schließlich zum Zentrum des Tubulus hin aufreißen. Neben der Vakuolenbildung sind im Zentrum der Tubuli Zelldegenerationen zu finden (Abb.3a). Hierbei handelt es sich in der Regel um blasig aufgetriebene Zellen der Keimzellinie. In den SERTOLIzellen fallen zu diesem Zeitpunkt zahlreiche Lysosomen auf, die auf eine Phagozytose der Zelltrümmer durch die SERTOLIzellen deuten.

In den folgenden 3 Monaten schreitet die Lumenbildung weiter fort. Erste spermienumsäumte Lumina findet man in Hoden 7 Monate alter Kater, die aber retenah auch noch Tubuli aufweisen, in denen letzte Plasmafäden zu finden sind. Bis zum 7. Monat weisen die Tubuli in der Hodenperipherie weitere Lumina auf als die zentralen Tubuli. Im ausgereiften Hoden (8 Monate) bestehen dagegen keine topographischen Unterschiede mehr hinsichtlich der Tubulusdurchmesser oder der Tubuluslumina.



**Abb. 3a** subtunicale Lumenbildung<sup>11</sup>, Kater, 4 Monate (Trichrom)



**Abb. 3b** retenahe Lumenbildung<sup>11</sup>, Kater, 4 Monate (Trichrom)



Abb. 3c Lumenbildung, Kater, 4 Monate (TEM-Präparat)

L LEYDIGsche Zwischenzellen, MT Mediastinum testis, S SERTOLIzellkern, TA Tunica albuginea, TL Tubuluslumen, TR Tubulus rectus, TS Tubulus seminifer, V Vene, ► Spermatozyt I. Ordnung, \* Zelldegeneration

<sup>&</sup>lt;sup>11</sup> Die Abbildungen 3a und 3b zeigen unterschiedliche Bereiche desselben Präparates!

Zum Zeitpunkt der Geburt sind in den Tubuli zwei Zellarten zu finden: Keimzellen und SERTOLIzellvorläufer (Abb.4a). Die Vorläufer der SERTOLIzellen säumen in einer Lage die Keimstränge und liegen der Basalmembran an. Bis zur 15. Woche p. n. bleibt das Epithel einschichtig, obwohl sich Zellen keilförmig in das Zentrum vorschieben und so der Eindruck entsteht, daß an einigen Tubulusabschnitten bereits ein mehrschichtiges Keimepithel vorliegt. Die voluminösen Keimzellen liegen entweder basal zwischen den SERTOLIzellen, wobei sie aufgrund ihrer Größe weiter in das Zentrum vorragen, oder einzelne Zellen liegen im Tubuluszentrum. Vereinzelt liegen auch die SERTOLIzellen im Tubuluszentrum, zeiden dann jedoch, ebenso wie viele der zentral gelegenen Keimzellen, Anzeichen einer Degeneration. Das Verhältnis zwischen Keimzellen und SERTOLIzellen beträgt bei der Geburt ca. 30:2. Das Zugrundegehen eines Teils der SERTOLIzellen, gekoppelt mit der mitotischen Teilung der Keimzellen, führt zu einem mehrschichtigen Keimepithel sowie zu einer Verschiebung des Zahlenverhältnisses, so daß der relative Anteil der SERTOLIzellen deutlich abnimmt (Abb.4b). Die beobachteten Mitosen lassen nicht immer erkennen, um welche der beiden Zellarten es sich handelt, so daß eine mitotische Teilung der SERTOLIzellen zwar nicht ausgeschlossen werden kann, aber auch nie mit Sicherheit nachzuweisen war. Liegt eine geordnete Schichtung des Epithels vor (siehe unten), kann jedoch aufgrund der Lage der Zellen eine Teilung der SERTOLIzellen ausgeschlossen werden. Im Hoden von 4 Monate alten Katern weisen einige der Keimstränge schon ein bis zu 5 Schichten umfassendes Epithel auf, während andere Abschnitte noch einschichtig sind. Abbildung 3a zeigt subtunical liegende Tubuli eines 4 Monate alten Katers, die an einigen Stellen schon ein mehrschichtiges Keimepithel mit Spermatogonien sowie Spermatozyten I. Ordnung aufweisen. In Abbildung 3b, die einen anderen Ausschnitt desselben Präparates zeigt, sind zentral liegende solide Keimstränge zu sehen, deren Epithel jedoch nur einschichtig ist. Wenn sich ein mehrschichtiges Epithel auszubilden beginnt (Abb.4b), lassen die Keimzellen und SERTOLIzellen zunächst noch keine Ordnung innerhalb des Epithels erkennen. Die SERTOLIzellkerne liegen basal oder in Höhe der 3. und 4. Zellage. Die Spermatogonien befinden sich ausschließlich basal. aber die ihnen aus

hervorgehenden, erstmals eindeutig zu identifizierenden Spermatozyten I. Ordnung liegen auf gleicher Höhe wie die SERTOLIzellkerne. Mit 4½ Monaten findet man in den Tubuli, die bereits ein Lumen ausgebildet haben, ein geordnetes Keimepithel, in dem die verschiedenen Stadien der Spermatozytenreihe übereinander liegen, während SERTOLIzellen und Spermatogonien die Basalmembran säumen. Die Tubuli, deren Lumenbildung noch nicht so weit fortgeschritten ist, lassen zum Teil auch die Vielschichtigkeit, in jedem Fall aber die regelmäßige Anordnung der Zellen innerhalb des Keimepithels vermissen. Die Spermatogenese hat bei 7 bis 8 Monate alten Katern alle Tubuli seminiferi erfaßt, was einem geordnetem, 5- bis 7-schichtigem Keimepithel gleichkommt.



Abb. 4a Keimepithel, Kater, 3 Tage (HE)



Abb. 4b Keimepithel, Kater, 4 Monate (Trichrom)

A Arterie, L LEYDIGsche Zwischenzellen, La Lamina limitans, S SERTOLIzelle, SpI Spermatozyt I. Ordnung, TL Tubuluslumen, ► Spermatogonien, \* Tubulus rectus

Aus Abbildung 5a-b geht hervor, daß die Lamina limitans im Hoden neugeborener Kater aus der Basalmembran und ca. 3 bis 4 Lagen konzentrisch angeordneter peritubulärer Zellen besteht. Die Zellen sind flach ausgezogen und haben längliche bis ovoide Kerne. Zusätzlich umgibt ein feiner Strumpf aus kollagenen und elastischen Fasern, die sich zwischen die Zellagen der Lamina limitans schieben, die Tubuli seminiferi. Eine deutliche Schichtung ist zu diesem Zeitpunkt noch nicht vorhanden. Zur Peripherie hin lockert sich der Zellverband, so daß sich keine klare Grenze zwischen der äußersten Zellage der Lamina limitans und dem umgebenden, lockeren Bindegewebe ziehen läßt. In den ersten beiden Lebensmonaten wird die Lamina limitans auf 1 bis 2 Zellagen reduziert. Ein Vergleich der histologischen Schnitte zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten ergibt folgendes: Ab der 9. Woche werden die bis dahin ovoiden Kerne länglicher, die Zellen sind bis zum 3. Monate p. n. immer noch plasmareich, stellen sich aber ab 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Monaten zunehmend langgestreckt dar. Sie flachen immer mehr ab, bis sie mit 7 Monaten fein spindelförmig ausgezogen sind (Abb.5b). Die charakteristischen, kontraktilen Filamente der Myofibroblasten sind mit 2 Monaten ausgebildet. Darüber hinaus lassen sich im juvenilen Hoden auch Fibrozyten eindeutig identifizieren, die den Raum zwischen den Tubuli durchziehen, was sich im reifen Hoden, in dem die Tubuli dicht zusammengerückt sind, nicht mehr so klar darstellt.

Das <u>intertubuläre Gewebe</u> ist von der Geburt an durch Fibrozyten bzw. Fibroblasten gekennzeichnet (Abb.5a). Es ist zunächst relativ zellreich und faserarm, wobei es in Form eines losen Maschenwerks zwischen den Tubuli organisiert ist. Die Zellen sind langgestreckt mit anfangs ovoiden, später zunehmend spindelförmigen Kernen. Nach außen an die spezifischen Zellen der Lamina limitans anschließend, ordnen sich auch Fibrozyten in den ersten zwei Lebensmonaten zwiebelschalenartig um die Tubuli an. Wenn die Lamina limitans sich deutlicher abgrenzt und die Tubuli durch ihr Längenund Dickenwachstum näher zusammenrücken, verdichtet sich auch das intertubuläre Gewebe. Zellen und Fasern werden zusammengeschoben, wobei beide Komponenten ohnehin nur spärlich vertreten sind. Bindegewebsstraßen, vor allem kollagene Fasern, treten nur in Form der Hodensepten auf. In sie eingebettet oder ihnen anliegend fallen größere Gefäße ins Auge. Kleine Gefäße und Kapillaren liegen auch zwischen den Tubuli, vornehmlich in den Zwickeln.



Abb. 5a

Abb. 5b

Lamina limitans, Kater, 3 Tage (HE)

Lamina limitans, Kater, 3 Tage (HE)



Abb. 5c Lamina limitans, Kater, 7 Monate (HE)

**Abb. 5d** Lamina limitans, Kater, 7 Mon. (HE)

A Arterie, L LEYDIGsche Zwischenzellen, S SERTOLIzelle, SG Spermatogonie, Sp I Spermatozyt I. Ordnung, Spt Spermatide, TS Tubulus seminifer, ► Myofibroblast, ▷ Spermien, } Lamina limitans

Im intertubulären Gewebe liegen auch die LEYDIGschen Zwischenzellen (Abb.6ac). Sie stellen sich perinatal länglich bis prismatisch dar und sind durch eine deutliche Zellmembran begrenzt. Ihr großer runder Kern liegt zentral und sowohl die Kernmembran als auch das Kernkörperchen treten deutlich hervor. Das Cytoplasma ist wabig-löchrig, wie es für steroidhormonproduzierende Zellen typisch ist. Postnatal stellt sich das Cytoplasma kleinvakuolig, bald darauf mit etwas größeren Vakuolen dar, wie es auch im geschlechtsreifen Hoden der Fall ist. Im Hoden von neugeborenen Katern liegen die Zwischenzellen in bis zu 20 Zellen umfassenden Nestern zwischen den Tubuli seminiferi und unter- oder innerhalb der Tunica albuginea (Abb.6a). Sie liegen zum Teil in der Nähe der Tubuli, zum Teil mit Gefäßen assoziiert, ohne daß man eine bevorzugte, funktionell zu deutende Topographie feststellen könnte. Gelegentlich liegen die Zellnester den Tubuli seminiferi auch kappenförmig auf. Durch das Tubuluswachstum werden sie ab dem 2. Monat in zunehmend kleinere Nester und Zellbänder zergliedert. Nur im Mediastinum testis bleiben größere Aggregate zunächst erhalten, die jedoch durch Bindegewebe in kleinere Einheiten getrennt werden (Abb.6c). Die subtunical gelegenen LEYDIGschen Zwischenzellen werden zusätzlich durch das Wachstum der Tubuli zusammengedrängt. Dadurch liegen die LEYDIGschen Zwischenzellen mit 3 Monaten vor allem in 1- bis 2zelligen Strängen und nicht mehr, wie ursprünglich, in Nestern unter- und innerhalb der Tunica albuginea (Abb.6b). Neben einem engen Kontakt zu den peripheren Tubuli liegen diese LEYDIGschen Zwischenzellen den Gefäßen und dem intratunicalen Teil des Rete testis an. Diese sogenannten heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen unterscheiden sich licht- und elekronenoptisch nicht von den intertubulär gelegenen.



Abb. 6a subtunicale LEYDIGsche Zwischenzellen, Kater, 3 Tage (HE)



**Abb. 6b** sub-und intratunicale LEYDIGsche Zwischenzellen, Kater, 7 Monate (Trichrom)



Abb. 6c LEYDIGsche Zwischenzellen im Mediastinum testis, Kater, 4 Monate, (Trichrom)

L LEYDIGsche Zwischenzellen, MT Mediastinum testis, TA Tunica albuginea, RT Rete testis, TS Tubulus seminifer, \* Blutgefäße

#### 4.1.2 Die SERTOLIzellen

Von Geburt an zeigt eine der in den Keimsträngen auftretenden Zellarten Charakteristika, die bereits ihre Identifizierung als SERTOLIzellen beziehungsweise deren Vorläufer erlauben. Dies sind zum einen die basale Lage und die radiäre Anordnung der längsovalen Zellkerne, und zum anderen die Ultrastruktur des Kernes. Auch die für SERTOLIzellen typischen Einkerbungen des Kernes sind, wenn auch diskret und nur vereinzelt, vorhanden (Abb.7a-b). An den Kerneinkerbungen findet man zum einen Mitochondrien und zum anderen Intermediärfilamente, die teilweise in regelrechten Büscheln auftreten. Bereits beim Neugeborenen besitzt der Kern einen charakteristischen dreiteiligen Nucleolus (Abb.7a). Dem eigentlichen Kernkörperchen liegen zwei Chromatinbrocken in Form von Satelliten an. Im Karyoplasma liegt das Chromatin feinkrümelig vor. Kleinere Chromatinbröckchen sind gleichmäßig über den Kern verteilt und liegen auch der inneren Kernmembran an, was diese deutlich hervortreten läßt. Zellgrenzen lassen sich lichtmikroskopisch nicht immer ausmachen.



Abb. 7a SERTOLIzellen, Kater, neugeboren (TEM-Präparat)





Abb. 7b SERTOLIzellen, Kater, 4 Wochen (TEM-Präparat)

Abb. 7c Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 7b

La Lamina limitans, MF Myofibroblast, N Nukleus, S SERTOLIzelle, SG Spermatogonie,
► Intermediärfilamente und Microtubuli, ▷ 3teiliger Nucleolus, → Kernkerbe mit Mitochondrium

daß bei Die Abbildungen 8a-c zeigen, man geburtsreifen wie beim geschlechtsreifen Kater elektronenoptisch zwei Typen von SERTOLIzellen unterscheiden kann. Der erste Typ zeichnet sich durch ein helles Cytoplasma und einen euchromatischen Kern aus. Die zahlreichen Mitochondrien vom Crista-Typ verteilen sich gleichmäßig im Cytoplasma, soweit dieses zu überblicken und abzugrenzen ist. Dieses gilt auch für das endoplasmatische Retikulum, dessen Membranen überwiegend frei von Ribosomen sind. Zum Teil liegt es in Vesikeln vor. Freie Ribosomen und Polyribosomen sind im Cytoplasma verstreut, GOLGIfelder sind nur spärlich vorhanden. Von der Kernmembran strahlen Filamente in das Cytoplasma aus, vor allem an der der Basalmembran zugewandten Seite des Kernes und an den Einkerbungen des Kernes (siehe auch S. 61). Die SERTOLIzellen des hellen Typs zeigen ein einheitliches Bild. Sie überwiegen in ihrer Anzahl gegenüber dem zweiten Zelltyp. Hierbei handelt es sich um Zellen mit einem wesentlich dunkleren Cytoplasma. Das endoplasmatische Retikulum ist stark entwickelt und häufig erweitert, der Inhalt ist fein granuliert (Abb.8a). Zahlreiche Mitochondrien, die auch am basalen Zellpol gehäuft auftreten können, freie Ribosomen und Dictyosomen prägen das weitere Zellbild. Die starke Osmiophilie dieses Zelltyps erlaubt keine Beurteilung des Zytoskeletts. Im Tubulus sind die beiden SERTOLIzelltypen gleichmäßig verteilt, wenn auch der helle Typ zahlenmäßig weit überwiegt. Beide SERTOLIzelltypen kommen nebeneinander vor und sind auch über Zellkontakte miteinander verbunden. Darüber hinaus findet man Zellen, deren Degeneration begonnen hat (Abb.8b). Der Zelltod kündigt sich durch geschwollene Mitochondrien, Myelinfiguren, ein stark erweitertes endoplasmatisches Retikulum, Verdichtung des Cytoplasmas bei gleichzeitiger Vakuolisierung und vermehrtes Auftreten von Lipidtropfen an. Der Kern zeigt eine Kernwandhyperchromasie. Die Degeneration der Zellen ist unterschiedlich weit fortgeschritten. Zellen, die nur geringe Anzeichen einer Degeneration erkennen lassen, ähneln in der Regel dem dunklen SERTOLIzelltyp.

Im Hoden von 5 Wochen alten Katern treten die dunklen SERTOLIzellen häufiger auf als zum Zeitpunkt der Geburt. Außerdem sind die Unterschiede zwischen hellen und dunklen SERTOLIzellen deutlicher. In den Präparaten der 10. bis 13. Woche sieht man erstmals, daß die SERTOLIzellen Zellausläufer bilden. Dadurch erscheint das Keimepithel zergliedert und stellt sich zunehmend ungeordneter dar. Man trifft immer wieder auf Cytoplasmainseln und Anschnitte von Zellausläufern, die dem Aussehen nach dem dunklen SERTOLIzelltyp zugeordnet werden müssen. Die absolute Zahl der Zellen dieses Typs nimmt jedoch ab.

Das geschilderte Bild der SERTOLIzellen bleibt für die nächsten Monate im wesentlichen erhalten, wenn man von geringen Reifungsprozessen absieht. Ab dem vierten Monat findet man, neben den oben beschriebenen Formen, erstmals voll ausdifferenzierte SERTOLIzellen. Sie zeigen regelmäßig deutliche Kerneinkerbungen, in denen häufig Zellorganellen, vor allem Mitochondrien liegen. Außerdem ziehen Büschel von Microtubuli und Intermediärfilamenten in die Kernkerben und umgeben den Kern. Der Kern selbst hat einen dreiteiligen Nucleolus, und das endoplasmatische Retikulum ist zum Teil zu wirbelartigen Konfigurationen angeordnet (Abb.12c). Darüber hinaus ist die der Basalmembran anliegende Zellmembran wellenförmig aufgeworfen, oder sie weist einzelne Einbuchtungen auf. In diese Einbuchtungen zieht die Basalmembran und schmiegt sich der undulierenden Kontur der SERTOLIzelle basal an (Abb.12d). An einigen Zellen sind die Einkerbungen des Kernes ebenfalls kongruent zu dem basalen Plasmalemm. Kern, Plasmalemm und Basalmembran scheinen regelrecht ineinander verzahnt zu sein.

Das erste Auftreten ausgereifter SERTOLIzellen fällt zeitlich mit der Kanalisierung der Tubuli seminiferi zusammen, an der die SERTOLIzellen außerdem beteiligt sind: Im apikalen Cytoplasma der Zellen treten zunächst kleine Vakuolen auf. Die Vakuolen fließen zusammen und reißen schließlich zum Tubuluszentrum auf (Abb.3a-c).

Ab einem Alter von 7-8 Monaten weisen alle Tubuli seminiferi convoluti ein Lumen auf und es läßt sich eine vollständige Spermatogenese bis zur Bildung von Spermien nachweisen. Die SERTOLIzellen sind ausgereift und gehören überwiegend dem hellen Typ an. Dennoch sind Zellen des dunklen Typs nach wie vor vorhanden. Dieses Bild trifft man auch im Hoden 12 Monate alter Kater an.



**Abb. 8a** helle und dunkle SERTOLIzellen, Kater, 5 Wochen (TEM-Präparat)



Abb. 8b Degeneration einer dunklen SERTOLIzelle, Kater, 10 Wochen (TEM-Präparat)



Abb. 8c helle und dunkle SERTOLIzellen, Kater, 4 Monate (TEM-Präparat)

La Lamina limitans, M Mitochondrien, N Nukleus, S SERTOLIzelle, ► erweitertes endoplasmatisches Retikulum, \* Vakuole

Die SERTOLIzellen beteiligen sich an der Bildung der Blut-Hoden-Schranke (Abb.9a-c): Die Gliederung des Keimepithels in ein basales und ein apikales Kompartiment erfolgt über Zellkontakte, die zwischen den SERTOLIzellen beziehungsweise ihren Ausläufern ausgebildet werden. Die Zellkontakte sind in der Regel in Form von tight junctions und gap junctions in Reihen entlang des Plasmalemms ausgebildet. Beim Kater können diese typischen Zellkontakte nur selten beobachtet werden (Abb.9c), wodurch die direkte Darstellung dieser Komponente der Blut-Hoden-Schranke nur schwer möglich ist. Daher wurde die indirekte Darstellung mittels Injektion beziehungsweise Fixierung mit niedermolekularen, elektronendichten Substanzen (Lanthannitrat) gewählt. Abbildung 9a zeigt, daß im Hoden juveniler Tiere (hier 4 Wochen), deren Tubuli noch kein Lumen ausgebildet haben, das Lanthannitrat das Keimepithel bis in das Zentrum durchdringen kann. Ab einem Alter von 4 Monaten kann das Lanthannitrat das Keimepithel nicht mehr voll penetrieren (Abb.9b). Vielmehr stellt es sich nur noch bis zur Höhe der Spermatozyten I. Ordnung im Interzellularspalt dar. Der apikal davon liegende Abschnitt des Keimepithels wurde nicht von Lanthannitrat durchdrungen. Die Darstellung erfolgte in diesem Fall durch die Immersionsfixierung mit einer lanthannitrathaltigen Lösung, so daß das Lanthannitrat über das Bindegewebe in die Tubuli seminiferi eindringt. Hierbei stellt die Lamina limitans keine Barriere dar und kann durchdrungen werden. Das Lanthannitrat diffundiert innerhalb des basalen Kompartimentes in das Keimepithel, wo es sich deutlich im Interzellularspalt darstellt.

Auch im Interzellularspalt des Epithels der Tubuli seminiferi recti ist das Lanthannitrat deutlich darzustellen. Es dringt jedoch auch hier nur etwa bis zur halben Höhe in den Interzellularspalt zwischen die Epithelzellen der Tubuli recti ein.

An der Bildung der Blut-Hoden-Schranke beteiligen sich nicht nur die SERTOLIzellen (siehe auch 4.1.4 und 4.1.6). Vielmehr zeigt Abbildung 9d, die von einem Präparat stammt, das mit Lanthannitratlösung perfundiert wurde, daß beim Kater die Kapillaren hierfür nicht permeabel sind (Abb.9a). Vielmehr dringt das Lanthannitrat nur eine kurze Strecke in den Interzellularspalt des Kapillarendothels ein, ohne ihn gänzlich passieren zu können.



Abb. 9a

Blut-Hoden-Schranke, Interzellularspalten kontrastriert, Kater, 4 Wochen (TEM-Präparat, Lanthannitratimmersion)

Abb. 9b

Blut-Hoden-Schranke, Interzellularspalten kontrastiert, Kater, 4 Monate (TEM-Präparat, Lanthannitratimmersion)



### Abb. 9c Blut-Hoden-Schranke, Kater, 12 Monate (TEM-Präparat)

**Abb. 9d** Kapillarpermeabilität, Kater, 7 Monate (TEM-Präparat, Lanthannitratperfusion)

Ery Erythrozyt, La Lamina limitans, S SERTOLIzelle, SG Spermatogonien, Spt Spermatide, → Zellkontakte zwischen SERTOLIzellen, ► Lanthannitrat im Interzellularraum

#### 4.1.3 Die Keimzellen

Wenige Tage nach der Geburt liegen die Keimzellen zwischen den SERTOLIvorläuferzellen oder im Zentrum der Keimstränge (Abb.4a). Ihre Zellkerne sind groß, rund bis ovoid und haben eine weniger deutliche Kernmembran als die SERTOLIzellkerne. Das Karyoplasma ist insgesamt heller, das Chromatin feinstaubig bis feinkrümelig über das Karyoplasma verteilt. Der runde, sehr deutliche Nucleolus liegt zentral. Die Zellen, mit einem Durchmesser von 10-12 µm, stellen sich rund und deutlich abgesetzt dar. Das Cytoplasma ist in einigen Zellen stark azidophil. Andere Keimzellen fallen durch große Vakuolen auf. Diese Auftreibungen erfassen zum Teil auch die Kerne, so daß diese blasig aufgequollen wirken. Im Tubulusinneren sind diese Strukturen teilweise nur schemenhaft zu erkennen. Im Laufe der Teilung der Keimzellen verschiebt sich das Verhältnis zwischen Keimzellen und SERTOLIzellen. Darüber hinaus sind weniger hydropisch veränderte Zellen vorhanden. Sie können als Spermatogonien angesprochen werden. Im Aussehen haben sie sich gegenüber den zum Zeitpunkt der Geburt vorliegenden Keimzellen nicht verändert. Die Spermatogonien lassen jedoch noch eine Unterscheidung in A-, Intermediär- und B-Spermatogonien zu. Das Heterochromatin tritt in Intermediär- und vor allem in B-Spermatogonien vermehrt auf. Teilweise liegt es in gröberen Schollen an der inneren Kernmembran, teilweise ist es ungleichmäßig über das Karyoplasma verteilt. Die B-Spermatogonien sind zudem kleiner als die A- und Intermediär-Spermatogonien. Alle drei Spermatogonientypen sind, wenn auch spärlich im Vergleich zu den SERTOLIzellen, mit den üblichen Zellorganellen ausgestattet. Die Mitochondrien vom Cristatyp sind länglich und häufen sich gelegentlich rund um den Kern oder im basalen Teil der Zelle an. Man findet endoplasmatisches Retikulum vom glatten und rauhen Typ, sowie freie Ribosomen. Der GOLGI-Apparat ist in einigen Spermatogonien auffallend gut ausgebildet. Das der Basalmembran zugewandte Plasmalemm der A-Spermatogonien trägt wenige, unauffällige Hemidesmosomen zur Verankerung. Ab einem Alter von 4 Monaten treten einige Abschnitte des Tubulusepithels erstmals in die Spermatogenese ein (Abb.3a, Abb.4b und Abb.10a):
Aus den mitotischen Teilungen der Spermatogonien gehen die Spermatozyten I. Ordnung hervor, die mit 12-13 µm Durchmesser sehr große Zellen darstellen. Da sie innerhalb der 1. Reifeteilung der Meiose, die sie durchlaufen, sehr lange in der Prophase verweilen, sind sie in den Tubuli seminiferi verschiedener Zyklusstadien sehr oft anzutreffen. Der Gehalt an Organellen hat im Vergleich zu den Spermatogonien zugenommen. Besonders das glatte endoplasmatische Retikulum und der GOLGI-Apparat werden gut entwickelt. Die Stadien der Prophase lassen sich anhand der Kernstruktur der Spermatozyten I. Ordnung wie folgt beschreiben:

- Präleptotän: Der runde Zellkern enthält in diesem Stadium dunkles, fein granuliertes Heterochromatin, das gleichmäßig über das Karyoplasma verteilt ist. Der Kern enthält zudem ein oder zwei Nucleoli und besitzt eine deutliche Kernmembran.
- Leptotän: Der Zellkern hat gegenüber dem vorherigen Stadium an Größe abgenommen und das Karyoplasma zeigt erste heterochromatinfreie Areale.
- Zygotän: Das Volumen des Kernes nimmt wieder zu und das Heterochromatin ordnet sich im Kern in charakteristischer Weise halbmondförmig an, so daß ein Kernbereich chromatinfrei bleibt.
- Pachytän: Sowohl der Zellkern als auch die gesamte Zelle haben an Volumen deutlich zugenommen. Das Chromatin ordnet sich im Zellkern wie ein grobes Netz an.
- Diplotän: Dieses Stadium wird nur selten angetroffen, da die Zellen nur kurze Zeit in dieser Phase verweilen. Die Größe der Spermatozyten I. Ordnung erreicht ein Maximum. Der Zellkern läßt die Chromosomen als feine Fäden erkennen, die weniger grob als die Netzstruktur im Pachytänstadium erscheinen.
- Diakinese: Auch dieses Stadium nimmt nur eine kurze Zeitspanne ein. Die Kernmembran wird aufgelöst und die Chromosomen beginnen, sich in der Äquatorialebene anzuordnen, wodurch der Kernbereich sehr hell erscheint.

Interzelluläre Brücken innerhalb der Spermatozytenreihe sind im Vergleich zu Beschreibungen bei anderen Spezies nur spärlich ausgebildet.

Aus der 1. Reifeteilung der Spermatozyten I. Ordnung gehen die Spermatozyten II. Ordnung hervor. Sie sind mit einem Durchmesser von 9  $\mu$ m deutlich kleiner als ihre Vorgänger. Ihr Zellkern ist rund und zeigt eine deutliche Kernmembran. Der

Nucleolus befindet sich oft schon in Auflösung, weil die Zellen sehr rasch in die 2. Reifeteilung eintreten. Aus dieser Teilung gehen die runden, kleineren Spermatiden hervor.



# Abb. 10

Spermatogenese Stadium II (Golgiphase), Kater, 61/2 Monate (TEM-Präparat)

La Lamina limitans, S SERTOLIzelle, SG Spermatogonie, Sp I Spermatozyt I. Ordnung (Präleptotän), Spt Spermatide, TL Tubuluslumen, → Spermien, ► Akrosomenbläschen

Die Spermatiden sind zunächst kleine, runde Zellen mit zentralem Zellkern, in dem das Chromatin feinkörnig und gleichmäßig verteilt ist. Sie werden einer Transformation unterzogen, an deren Ende das fertige Spermium steht (Abb.11a-d).

Der GOLGI-Apparat lagert sich dem Kern an und wird von Mitochondrien flankiert. Zahlreiche Vesikel verschmelzen zu einer dem Kern aufgelagerten Vakuole, die allmählich abflacht (Abb.11a). Auch der Kern flacht vakuolenseitig ab, und an dieser Stelle ist die Kernmembran besonders deutlich. Der Akrosomenvakuole benachbart tritt ein elektronendichtes Granulum auf, das schließlich von der stark abgeflachten Akrosomenvakuole bedeckt wird (Abb.11b). Zwischen den Spermatiden sind zum Teil sehr breitflächige Brücken ausgebildet. Im weiteren Verlauf der Transformation flacht der Kern seitlich ab und das Chromatin kondensiert zunehmend, wobei zunächst noch helle Bezirke (Kernvakuolen) bestehen bleiben (Abb.11c). Während der Spermienreifung ist der Spermienkopf tief in das Cytoplasma der SERTOLIzelle eingesenkt. Entlang des Spermienkopfes sind im Cytoplasma der SERTOLIzellen Zisternen des endoplasmatischen Retikulums angeordnet (Abb.11c). So entstehen 2 bis 3 lamelläre Systeme, die mit zunehmender Entfernung zum Plasmalemm weitlumiger werden. Zum Teil liegt das endoplasmatische Retikulum hier auch in langgestreckten Vesikeln vor. An diese subplasmalemmalen Zisternen schließen sich, zum Teil eng anliegend, Mitochondrien sowie mehrere parallel verlaufende Microtubuli an. Eine besonders starke manschettenartige Ansammlung von Microtubuli ist auch im Bereich des halsseitigen Pols des Spermiumkopfes zu finden (Abb.11b). Entlang der Einsenkung des Spermiums ist das Cytoplasma der SERTOLIzellen außerdem teilweise wolkig verdichtet. Auf diese Weise in die SERTOLIzelle eingebettet, reift das Akrosom, das Chromatin kondensiert vollständig und die Geißel wird gebildet. Zuletzt werden das überschüssige Cytoplasma und Organellen abgestreift und das Spermium in das Lumen des Tubulus seminifer entlassen. Am ausgereiften Spermium lassen sich Kopf, Hals, Mittelstück und Schwanz unterscheiden (Abb.11d).



Abb. 11a Spermiogenese, Golgiphase, Kater, 12 Monate (TEM-Präparat)



Abb. 11b Spermiogenese, Kappenphase, Kater, 12 Monate (TEM-Präparat)



Abb. 11c Akrosomenphase, Elongation Kater, 12 Monate, (TEM-Präp.)

Abb. 11d Reifungsphase, Spermium, Kater, 12 Monate, (TEM-Praparat)

AK Akrosomengranulum, K Kopf, M Mitochondrium, Mi Mittelstück, N Nukleus, S SERTOLIzelle, Schw Schwanz, Spt Spermatide, → Endoplasmatisches Retikulum, ▷ Microtubulusmanschette, ▶juxtanukleärer Golgiapparat, ▷Flagellum, ☆Akrosomenbläschen, > akrosomale Kappe

### 4.1.4 Die Lamina limitans

Die innerste Schicht der Lamina limitans bildet eine vollständige Basalmembran. Sie ist zum Zeitpunkt der Geburt glatt bis schwach gewellt und bereits in gleicher Stärke ausgebildet wie beim adulten Kater. Die Lamina fibroreticularis ist relativ breit und ihre Fasern verankern sich in der ersten Lage von peritubulären Zellen, auf die zwei bis drei weitere Zellagen folgen (Abb.5b). Die Zellen der Lamina limitans, die Myofibroblasten, sind beim neugeborenen Kater langgestreckt und haben einen länglichen Kern. Die Cytoplasmaausläufer sind kurz und plump (Abb.12a). Die Zellen enthalten ein dichtes Cytoplasma sowie rauhes endoplasmatisches Retikulum und plumpe Mitochondrien vom Crista-Typ, die bevorzugt an den Kernpolen anzutreffen sind. Myofilamente beziehungsweise deren plasmalemmale Verankerung sowie Zellkontakte fehlen zunächst noch. Zwischen den peritubulären Zellen liegen kollagene Fasern. Die Unterschiede der Zellen der Lamina limitans zu Fibroblasten oder undifferenzierten Bindegewebszellen zwischen den Tubuli seminiferi convoluti sind geringgradig. Letztere sind jedoch etwas plumper, mit voluminöseren Zellkernen.

Wie in Abbildung 12b zu sehen ist, haben sich die Myofibroblasten in der 8. postnatalen Wochen bereits verlängert. Ihre Cytoplasmaausläufer sind zum Teil fein ausgezogen. Im Cytoplasma treten erste Filamente auf, die an elektronendichten Plaques (dense bodies) an der Innenseite des Plasmalemms verankert sind. Das rauhe endoplasmatische Retikulum ordnet sich in schmalen, langgestreckten Zisternen in den Zellausläufern und der Endoplasmazone an. In der weiteren Entwicklung strecken sich die Zellen immer mehr und ihre Cytoplasmaausläufer verlängern und verjüngen sich. Mit 3-4 Monaten werden zwischen den Zellausläufern der Myofibroblasten zunehmend Zellkontakte ausgebildet. Durch das Wachstum der Tubuli seminiferi convoluti ist das intertubuläre Gewebe immer weiter zusammengeschoben worden. Zusätzlich haben sich die LEYDIGschen Zwischenzellen zu voluminösen, cytoplasmareichen Zellen differenziert. Hierdurch sind auch die Interzellularräume innerhalb der Lamina limitans auf einen schmalen Spalt zusammengedrängt worden. Neben amorpher Grundsubstanz liegen hier vor allem kollagene Fasern. Diese haben Kontakt zum Plasmalemm der Myofibroblasten, wodurch diese untereinander verbunden sind (Abb.12c-e).

Im weiteren Verlauf der Entwicklung nimmt die Zahl der Zellkontakte und kontraktilen Filamente zu. Die plasmalemmalen Verankerungen der Myofilamente sind im Vergleich zu denen in glatten Muskelzellen eher unauffällig und klein. Ab einem Alter von 6 Monaten treten zunehmend pinozytotische Vesikel unter der Zelloberfläche auf (Abb.12e). Die Basalmenbran der Tubuli seminiferi convoluti zeigt mit 6½ Monaten erstmals einen undulierenden Verlauf: Sie hat Ausbuchtungen zum Tubulus hin, wodurch das Plasmalemm der SERTOLIzellen eingedellt wird. SERTOLIzelle und Lamina limitans beziehungsweise Basalmembran werden auf diese Weise miteinander verzahnt. Gelegentlich dehnt sich die Verzahnung bis auf den Zellkern der SERTOLIzellen aus (Abb.12d). In den Kernkerben sind in diesem Fall Filamente anzutreffen, die sich zwischen Kernmembran und basalem Plasmalemm ausdehnen.

Beim geschlechtsreifen Kater (Abb.12e) sind einige Myofibroblasten von einer Basalmembran umgeben, die jedoch sehr schmal und unauffällig ist. Darüber hinaus ist sie nicht vollständig. Vielmehr ist nur an einer Seite der Myofibroblasten oder auch nur über eine kurze Strecke eine Basalmembran ausgebildet.

Die Injektionsversuche mit Lanthannitratlösung beziehungsweise die Immersionsfixierung mit lanthannitrathaltigen Lösungen haben gezeigt, daß die Lamina limitans des Katers keine Barriere für Moleküle in der Größe von Lanthannitrat bildet. Vielmehr diffundiert es bei der Immersion über das Bindegewebe zwischen die Tubuli seminiferi und dringt über Interzellularspalten der Lamina limitans in das Keimepithel der Tubuli ein. Es durchdringt das Keimepithel bis zu der von der SERTOLIzellen gebildeten Blut-Hoden-Schranke, und das Lanthannitrat stellt sich deutlich im Interzellularraum innerhalb des basalen Kompartimentes des Keimepithels dar (Abb.9a-b).



Abb. 12a Lamina limitans, Kater, 5 Wochen (TEM-Präparat)



**Abb. 12b** Myofibroblast mit dense bodies, Kater, 2 Monate (TEM-Präparat)



Abb. 12c Lamina limitans, Kater, 12 Monate (TEM-Präparat)

Abb. 12d Verzahnung der Lamina limitans mit einer SERTOLIzelle, Kater, 8 Monate (TEM-Präparat)

Abb. 12e Myofibroblasten mit Basalmembran, Kater, 12 Monate (TEM-Präparat)

ER Endoplasmatisches Retikulum, K kollagene Fasern, MF Myofibroblast, N Nukleus, S SERTOLIzelle, SG Spermatogonie, TS Tubulus seminifer, → Mikropinozytosevesikel,

S Myofibroblasten, ► dense bodies, ▷ Basalmembran der Myofibroblasten, ★ Basalmembran, ∧ Desmosom

### 4.1.5 Die LEYDIGschen Zwischenzellen

Schon zum Zeitpunkt der Geburt findet man beim Kater LEYDIGsche Zwischenzellen. Ein großer Teil der Zellen zeigt Charakteristika ausgereifter LEYDIGscher Zwischenzellen (Abb.13a-b): Einen mehr oder weniger zentral liegenden, runden Zellkern, dessen Karyoplasma überwiegend euchromatisch ist und der einen deutlichen, runden Nucleolus aufweist. Im Cytoplasma befinden sich viele Mitochondrien vom tubulären Typ und ein ausgedehntes glattes endoplasmatisches Retikulum. Die Zellen selbst sind polygonal und enthalten wenige große oder zahlreiche kleinere Lipidtropfen. Daneben findet man Zellen von eher länglicher Gestalt, die jedoch aufgrund ihrer Ausstattung mit Organellen ebenfalls als LEYDIGschen Zwischenzellen angesprochen werden können. Abbildung 13c verdeutlicht die enge topographische Beziehung der LEYDIGschenZwischenzellen sowohl zu den Tubuli seminiferi als auch zum Blutgefäßsystem. Die Zellen nehmen im Verlauf der Entwicklung an Größe zu und die Lipidtropfen werden zahlreicher. In einigen Zellen weist das endoplasmatische Retikulum weite Zisternen auf, die sich zum Teil konzentrisch um lipidhaltige Vakuolen lagern. Untereinander sind die LEYDIGschen Zwischenzellen mit Desmosomen verbunden und zum Interstitium hin sind Mikrovilli zu finden. An der der Lamina limitans zugewandten Zellseite, sowie an freien Oberflächen sind besonders viele Mikrovilli ausgebildet. Darüber hinaus sind direkt aneinandergrenzende LEYDIGsche Zwischenzellen oftmals über weite Strecken miteinander verzahnt. was in Abbildung 13d dargestellt ist. Lange Plasmalemmauffaltungen parallel zur Grenzfläche der Zellen sind ineinander geschoben, so daß ein regelrechter plasmalemmaler Faltenapparat entsteht.

Im Hoden von neugeborenen Katern ist das intertubuläre Bindegewebe sehr locker. Hier liegen die LEYDIGschen Zwischenzellen in bis zu 20 Zellen umfassenden Gruppen. Aufgrund des Wachstums der Tubuli seminiferi convoluti wird das Interstitium immer weiter verdrängt und zusammengeschoben, wobei die Zellnester in kleinere Gruppen zergliedert werden. Nicht nur das interstitielle Bindegewebe, sondern auch die LEYDIGschen Zwischenzellen erscheinen dadurch in den folgenden Monaten (2.-7. Monat) kompakter als zum Zeitpunkt der Geburt. Ultrastrukturell zeigt sich ein vielfältiges Bild: Die LEYDIGschen Zwischenzellen sind polygonal oder eher länglich. Sie enthalten, anscheinend unabhängig von ihrer Größe, Lipidtropfen in unterschiedlicher Zahl und Größe. Die Ausstattung der Zellen mit Organellen ist aber relativ konstant. Anzeichen von Degenerationen oder Mitosen ausgereifter LEYDIGscher Zwischenzellen konnten weder während der Entwicklung, noch zu einem späteren Zeitpunkt beobachtet werden.

Besonders augenscheinlich ist die Ansammlung von LEYDIGschen Zwischenzellen direkt unterhalb der Tunica albuginea beziehungsweise deren Stratum vasculosum. Postnatal findet man hier große Zellpakete, von denen einige Zellen auch innerhalb der Hodenkapsel liegen. Gleiches gilt für das Mediastinum testis in dem mittelgroße Zellaggregate liegen. Sie schmiegen sich an die Tubuli seminiferi recti und an das Rete testis. Kleinere Zellgruppen liegen aber auch isoliert im Bindegewebe. Die heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen im Mediastinum werden im Laufe der Entwicklung ebenfalls in kleinere Zellgruppen zergliedert. Subtunikal bleiben die LEYDIGschen Zwischenzellen jedoch in ausgedehnten, 1-2schichtigen Zellsträngen liegen. Die heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen sowohl des Mediastinum testis als auch der Tunica albuginea unterscheiden sich licht- und elektronenoptisch nicht von den intertubulär gelegenen.



Abb. 13a LEYDIGsche Zwischenzelle, Kater, neugeboren (TEM Präparat)

# Abb. 13b Mitochondrien vom Tubulus-Typ, Kater, neugeboren (TEM Präparat)



Abb. 13c LEYDIGsche Zwischenzellen, Kater, 4 Monate (TEM Präparat)

Abb. 13d plasmalemmaler Faltenapparat, Kater, 12 Monate (TEM Präparat)

ER Endoplasmatisches Retikulum, K Kapillare, L LEYDIGsche Zwischenzellen, La Lamina limitans, Li Lipidvakuolen, Ly Lysosom, M Mitochondrien, N Nukleus, SG Spermatogonie, ▶Plasmalemmaler Faltenapparat, ▷ Desmosom

#### 4.1.6 Das Interstitium und die Leitungsstrukturen

Das Interstitium nimmt beim neugeborenen Kater mehr als zwei Drittel des Hodengewebes ein.<sup>12</sup> Neben den LEYDIGschen Zwischenzellen besteht es aus weitmaschigem, lockerem Bindegewebe. Lediglich die Hodensepten und das Mediastinum testis, die bereits im Hoden neugeborener Kater ausgebildet sind, bestehen aus strafferem Bindegewebe. Die Zellen zeigen überwiegend die morphologischen Merkmale von Fibrozyten. Die Zellausläufer sind jedoch nicht immer so fein ausgezogen, wie es bei reifen Fibrozyten der Fall ist, vielmehr trifft man auch plumpere Formen an. Die Zellen sind zwischen den Hodenkanälchen ausgespannt. Ein bis zwei Zellagen schmiegen sich außerdem konzentrisch an die Lamina limitans, und auch die Nester von LEYDIGschen Zwischenzellen werden umsponnen. Den nichtzellulären Bindegewebsanteil machen im Hoden neugeborener Kater feine kollagene Fasern aus. Sie liegen in loser Anordnung zwischen den Tubuli seminiferi und umgeben sie in Form eines feinen Netzes. Innerhalb der Hodensepten sind die Fasern parallel angeordnet. Das Netzwerk aus Fibrozyten und kollagenen Fasern besitzt relativ weite Maschen. Darüber hinaus findet man in Hoden von bis zu 10 Wochen alten Katern umschriebene Areale, die besonders strukturarm erscheinen. Das Bindegewebe besteht in diesen Bezirken nur aus wenigen, sehr feinen Fasern und ist in der Regel frei von Fibrozyten. Gelegentlich liegen innerhalb dieser Bereiche einzelne LEYDIGsche Zwischenzellen. Bezogen auf das Organ gibt es keine charakteristische Anordnung der Areale.

Durch das Wachstum der Tubuli seminiferi und der LEYDIGschen Zwischenzellen wird das Interstitium zusammengeschoben und verdichtet sich. Im Verhältnis zwischen Parenchym und Interstitium nimmt der Parenchymanteil dadurch stark zu.<sup>13</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>12</sup> Bei dem in dieser Studie vermessenen Hoden eines 3 Tage alten Katers beträgt der Anteil des Interstitiums am gesamten Hodengewebe 69,4 %.

<sup>&</sup>lt;sup>13</sup> Die Morphometrie ergab bei dem Hoden eines 12 Monate alten Katers eine Tubulusgesamtfläche von 6,67 x  $10^6 \mu m^2$  gegenüber 0,77 x $10^6 \mu m^2$  im Hoden eines 3 Tage alten Katers. Der relative Anteil des Interstitiums beträgt 69,4 % beim 3 Tage alten beziehungsweise 12,54 % beim adulten Kater.

Die Blutgefäße durchziehen den Hoden nicht gleichmäßig. Großkalibrige Blutgefäße sind im Stratum vasculosum der Tunica albuginea anzutreffen. Von hier aus verzweigen sich die Gefäße innerhalb der Hodensepten. Nur sehr feine Gefäße, überwiegend Kapillaren, liegen auch innerhalb des intertubulären Bindegewebes. Hierbei handelt es sich um Kapillaren vom Typ I. Die aneinanderstoßenden Endothelzellen sind über Zellkontakte eng miteinander verbunden. Die Perfusion mit Lanthannitrat hat gezeigt, daß die Kapillaren für Stoffe mit einer vergleichbaren Molekülgröße nicht durchlässig sind (siehe auch 4.1.2). Den transendothelialen Stofftransport dokumentierend, treten zahlreiche Membranvesikulationen entlang der Endothelzellen auf.

### 4.1.7 Der Hormonspiegel und morphometrische Daten

Neben der qualitativen Untersuchung der Morphologie des Katerhodens während der postnatalen Entwicklung, wurden quantitative Parameter erhoben.

Die Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung aller Meßergebnisse, die für die jeweiligen Kater ermittelt wurden.

	Lebens-	Hoden-	Anzahl	Anzahl	Mittlerer	Mittlere	Vermessene	Tubulus-	Fläche des	Fläche des	Plasma-
	alter in Wochen	gewicht	vermes-	vermes-	Durchmesser	Fläche (x)	Gesamt-	gesamtfläche	Interstitiums	Interstitiums	Testo-
		in g	sener	sener	$(\overline{x})$ der	der runden	fläche x10 <sup>6</sup>	$x10^{6}$ in $\mu m^{2}$	absolut x10 <sup>5</sup>	relativ in %	steron in
			Tubuli	runder	runden	Tubuli (SD)	in $\mu m^2$		in µm²		ng/ml <sup>14</sup>
				Tubuli	Tubuli (SD)	x10 <sup>3</sup> in µm <sup>2</sup>					
					in µm						
<b>1</b> .	1	0,44	137	68	74,24 (14,2)	4,09 (1,7)	2,52	0,77	17,52	69,40	0
<b>7</b>	ю	0,45	64	64	76,23 (14,0)	4,16(1,5)	1,95	0,82	11,36	58,22	0
3.	5	0,49	104	48	83,44 (29,2)	5,18(3,9)	1,58	0,67	9,11	57,64	0
4.	8	0,59	227	114	83,35 (22,5)	5,08 (2,9)	2,57	1,37	12,08	46,93	0
5.	10	0,62	304	127	73,17 (17,9)	4,12 (2,1)	3,31	1,92	13,93	42,03	0,07
6.	12	0,77	342	104	70,14 (18,0)	3,57 (2,1)	2,23	1,48	7,50	33,69	0,09
7.	14	1,03	351	130	67,42 (9,9)*	3,28~(1,0)*	2,20	1,41	7,92	36,00	0,09
8.	16	1,14	280	105	104,33 (25,5)*	8,08~(4,1)*	2,20	2,44	8,58	26,01	0,14
9.	18	1,31	222	83	123,18 (24,1)*	11,34 (4,7)*	3,29	2,62	6,68	20,31	0,18
10.	20	1,38	140	40	230,24 (42,6)	39,66 (14,4)	6,31	4,99	13,21	20,93	0,20
11.	22	1,97	136	41	237,55 (47,3)	42,61 (16,0)	6,06	5,42	8,85	14,04	0,22
12.	24	2,36	126	30	247,81 (51,9)	46,66 (16,5)	6,51	5,65	8,61	13,23	0,29
13.	26	2,32	108	22	270,91 (43,4)	54,23 (18,6)	6,33	5,49	8,44	13,32	0,40
14.	28	2,31	126	28	245,51 (74,7)	46,35 (26,2)	6,33	5,49	8,36	13,21	0,64
15.	32	2,26	154	57	242,89 (62,5)	45,12 (24,3)	7,44	6,55	8,93	12,01	1,24
16.	40	2,35	149	74	247,50 (60,1)	46,51 (27,2)	6,81	5,99	8,25	12,10	1,76
17.	48	2,35	156	52	248,91 (58,1)	46,76 (21,8)	7,63	6,67	9,60	12,54	2,20

\* die Mittelwerte dieses und des nächst älteren Tieres unterscheiden sich (p<0,05)

Tabelle 2

<sup>&</sup>lt;sup>14</sup> Werte, die unter der unteren Nachweisgrenze des Testes von 0,04ng/ml lagen, wurden "null" gesetzt.

Betrachtet man die Daten der einzelnen Kater im Verhältnis zu dem Alter der Tiere, so fällt auf, daß die vermessene Gesamtfläche und das Hodengewicht mit steigendem Alter zunehmen (Graphik 1).

Graphik 1



Des weiteren bleibt die vermessene Gesamtfläche bis zur 18. Lebenswoche in der Größe annähernd gleich beziehungsweise schwankt nur gering. Zwischen der 18. und 20. Lebenswoche erfolgt ein deutlicher, sprunghafter Anstieg. Beim Hodengewicht ist zwischen der 20. und 22. Woche ebenfalls eine steilere Zunahme als in den ersten Lebenswochen zu beobachten. In den folgenden Wochen bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes bleiben sowohl das Hodengewicht als auch die vermessene Gesamtfläche annähernd gleich.

Setzt man die Mittelwerte der Flächen der runden Tubuli in Bezug zum Lebensalter, so ergibt sich auch für diesen Parameter eine altersabhängige Zunahme.

Bezüglich der mittleren Tubulusflächen konnte allerdings, ähnlich wie bei der

vermessenen Gesamtfläche, bis zur 16. Lebenswoche zunächst ein leichter Rückgang beobachtet werden. Auffällig ist nicht nur die oben bereits erwähnte Zunahme von Gesamtfläche und Hodengewicht zwischen der 18. und 20. Woche; vielmehr findet offenbar gleichzeitig eine sprunghafte Größenzunahme der mittleren Tubulusflächen statt (Graphik 2). Bis zur 48. Woche nehmen die Werte dann nur noch geringradig zu.<sup>15</sup>

Graphik 2



\* angegeben werden die Mittelwerte der Tubulusflächen aller runden Tubuli

\*\* die Standartabweichung der Tubulusflächen ist über den Säulen angegeben

Stellt man diese Ergebnisse den morphologischen Befunden (Kap. 4.1.1) gegenüber, so findet man im Alter von 20 Wochen eine beginnende Lumenbildung in den Tubuli

<sup>&</sup>lt;sup>15</sup> Für die mittleren Durchmesser der runden Tubuli und für die Tubulusgesamtfläche gilt ebenfalls eine relative Konstanz der Werte bis zur 18.Lebenswoche , ein sprunghafter Anstieg zwischen der 18. und 20. Woche und ein relative Konstanz bis zu 48. Woche.

seminiferi convoluti. Ferner weisen ab der 22. Lebenswoche die ersten Tubuli seminiferi ein mehrschichtiges Epithel auf (5-7 Schichten verschiedener Zellen der Spermatogenese). Mit 28 Wochen (7 Monaten) haben die Tubuli seminiferi in allen Regionen des Hodens ein Lumen ausgebildet, und ab der 32. Woche findet im gesamten Hoden die Spermatogenese statt.

Betrachtet man nicht nur die Mittelwerte der Tubulusflächen, sondern sämtliche gemessenen Flächen der runden Tubuli jedes einzelnen Hodens, so findet man in Abhängigkeit vom Alter der Tiere Tubuli von unterschiedlicher Größe. Auch die Variabilität der Flächen unterscheidet sich je nach Lebensalter. Die Graphik 3 verdeutlicht die Größenvariabilität der Tubuli innerhalb der jeweiligen Hoden. An der x-Achse ist achsennah die jeweilige Anzahl der Messungen aufgetragen, die in die Auswertung eingegangen sind. Darunter ist die entsprechende Woche des zugehörigen Messungszeitpunktes aufgeführt.

#### Graphik 3

# Zunahme der Tubulusflächen (ausschließlich Beurteilung runder Tubulus-Flächen)



Fläche x  $10^5$  (µm<sup>2</sup>)



Die Graphik zeigt den sprunghaften Anstieg der Tubulusgröße in der 20. Lebenswoche: Sogar die kleinsten Tubulusflächen der 20. Woche liegen über dem dritten Quartil ( $x_{0,75}$ ) in der 18. Woche. Weiter fällt auf, daß die Werte in dem Bereich zwischen 1. und 3. Quartil ( $x_{0,25}$ - $x_{0,75}$ ) ab der 20. Woche stärker streuen, obwohl die Anzahl der bewerteten Meßvorgänge geringer ist. Auch die Spannweiten der Bereiche zwischen  $x_{min}$ - $x_{0,25}$  und  $x_{0,75}$ - $x_{max}$  verteilen sich auf einen größeren Bereich. Die Tubulusflächen variieren also ab der 20. Lebenswoche bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes stärker als bei jüngeren Katern.

Auf die Tatsache, daß im Alter von 20 Wochen die Lumenbildung in den Tubuli seminiferi convoluti beginnt, ist bereits hingewiesen worden. Ergänzt werden muß, daß es morphologisch zu erheblichen regionalen Unterschieden innerhalb ein und desselben Hodens kommt: die Tubuli in der Peripherie bilden zuerst ein Lumen und ein mehrschichtiges Keimepithel aus, während zentral gelegene Tubuli noch solide sind und ein einschichtiges Epithel aufweisen.

Vergleicht man den Verlauf der Testosteronkonzentration im Plasma der Tiere mit dem der genannten morphometrischen Daten, so ergibt sich folgender Befund:

Erst ab der 10. Lebenswoche liegt die Testosteronkonzentration in einem meßbaren Bereich (>0,04 ng/ml), und steigt langsam bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes an. Ein sprunghafter Anstieg zwischen der 18. und 20. Woche, wie bei den oben vorgestellten morphometrischen Daten beobachtet wurde (Graphik 1 u. 2), bleibt aus. Allerdings steigt die Testosteronkonzentration ab der 26. Woche steiler an (Graphik 2 u. 4).

## Graphik 4



Interessant ist auch die Wachstumsdynamik des Interstitiums (Graphik 4): während die absolute Fläche des Interstitiums bis zur 12. Lebenswoche abnimmt, aber dann bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes im wesentlichen gleich groß bleibt, nimmt demgegenüber der prozentuale Anteil des Interstitiums an der Gesamtfläche des Hodens auch nach der 12. Lebenswoche noch ab. Die relative Interstitiumsfläche bleibt erst ab der 24. Woche mit ca. 13 % der Gesamthodenfläche konstant. Der Befund, daß die relative Interstitiumsfläche in Abhängigkeit zum Alter abnimmt, wird dadurch ergänzt, daß die Parenchymfläche (gesamte Tubulusfläche) zwischen der 18. und 20. Lebenswoche stark zunimmt und bis zur 48. Woche nur noch geringgradig ansteigt, beziehungsweise schwankt (Graphik 5). Das bedeutet, daß die nach der 12. Woche erfolgende Flächen- und Gewichtszunahme hauptsächlich auf das Wachstum parenchymatöser Organanteile zurückzuführen ist.

## Graphik 5



Das Interstitium des Hodens stellt insofern eine Besonderheit dar, als es nicht nur das intertubuläre Bindegewebe und Leitungsstrukturen umfaßt, sondern auch die LEYDIGschen Zwischenzellen. Letztere sind als Produktionsstätten des Testosterons wichtige, funktionelle Einheiten des Organs.

Betrachtet man nun die Testosteronkonzentration im Plasma der Tiere, so fällt auf, daß die Konzentration erst ab der 22. Lebenswoche steil ansteigt (Graphik 4).

Bereits bei morphologischen Untersuchungen von Hoden neugeborener Kater findet man LEYDIGsche Zwischenzellen, die alle strukturellen Voraussetzungen für eine Testosteronproduktion besitzen (Kap. 4.1.5), ein Befund, der dadurch ergänzt wird, daß die Plasma-Testosteronkonzentration bereits ab der 10. Lebenswoche über der Nachweisgrenze liegt. Eine morphologische Entsprechung für den steilen Konzentrationsanstieg nach der 22. Woche konnte bei den vorliegenden Untersuchungen nicht gefunden werden.

Betrachtet das Hodenwachstum und die Hodendifferenzierung man morphometrisch, so ergibt sich eine starke Abhängigkeit vom Alter der Tiere.

#### Graphik 6



Die Hodengröße, die über die Gesamtfläche und das Hodengewicht erfaßt wurde, zeigt eine enge Korrelation zum Alter der Tiere.

Das Gleiche gilt für den mittleren Tubulusdurchmesser und die mittlere Tubulusfläche der runden Tubuli sowie für die Tubulusgesamtfläche, die als Kenngrößen für das Wachstum und die Differenzierung des Parenchyms angesehen werden können.

# Graphik 8

## Mittlere Fläche der runden Tubuli/Lebenswoche

## Spearman' rho 0,864

MW Fläche x 10<sup>5</sup> (µm<sup>2</sup>)

# Graphik 9

- 90 -

#### Mittlere Durchmesser der runden Tubuli/Lebenswoche

#### Spearman' rho 0,893





# Graphik 10

#### Tubulusgesamtfläche/Lebenswoche

#### Spearman' rho 0,973



Eine negative Korrelation zum Lebensalter zeigt der relative Anteil des Interstitiums, während der absolute Interstitiumsanteil und das Alter nicht korrelieren. Die Plasma-Testosteronkonzentration der Tiere zeigt eine sehr hohe Korrelation zum Lebensalter ( $r_s$ = 0,993).



Die Scattergramme lassen zum Teil ein gleichmäßiges Ansteigen oder Abfallen der Werte innerhalb der ersten 20 Lebenswochen erkennen. Alle Parameter nähern sich aber ab der 20. Woche einem maximalen beziehungsweise minimalen Wert. Das bedeutet, daß kurz vor dem Erreichen der Geschlechtsreife der Hoden insgesamt, aber auch die verschiedenen Gewebekomponenten innerhalb des Hodens, im wesentlichen nicht mehr wachsen. Betrachtet man den gesamten Untersuchungszeitraum, so besteht also für alle beschriebenen morphometrischen Daten ein nicht linearer, monotoner Zusammenhang zum Lebensalter.

Der Verlauf der Testosteronkonzentration weicht gegenüber dem der anderen Parameter ab, da das Testosteron erst ab der 10. Woche ansteigt. Bis zur 24. Lebenswoche läßt sich ein linearer Zusammenhang erkennen, auf den dann jedoch ein steiler Konzentrationsanstieg folgt, der bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes und vermutlich darüber hinaus anhält. Auch das Testosteron zeigt also einen monotonen Zusammenhang zum Lebensalter.

Bei der Gegenüberstellung verschiedener morphometrischer Befunde und den parallel erhobenen Testosteronspiegeln der Tiere finden sich zeitliche Zusammenhänge, die auf mögliche Interaktionen zwischen der Testosteronproduktion und einzelnen Gewebsanteilen verweisen.

## 5. **DISKUSSION**

#### 5.1 DISKUSSION DER METHODIK

Für die vorliegende Untersuchung wurden Kater im Alter von 0 Tagen bis zu 12 Monaten untersucht. Die Tiere wurden zu einem von mir festgelegten Zeitpunkt kastriert.

Hierbei könnte problematisch sein, daß die Jahreszeit nicht berücksichtigt wurde. Katzen sind saisonal polyoestrische Tiere, die jeweils im Frühjahr, bedingt durch die Beleuchtungsdauer (DATHE u. SCHEIBE, 1994), und im Herbst mehrere Zyklen durchlaufen (RÜSSE u. SINOWATZ, 1991). Diese Angabe bezieht sich auf den Sexualzyklus des weiblichen Tieres. Allerdings ist ungewiß, inwieweit auch die Gonade des Katers saisonale Unterschiede aufweist<sup>16</sup>. Insbesondere ist unbekannt, ob Entwicklung des Hodens jahreszeitlichen Einflüssen unterworfen die ist. KIRKPATRICK (1985) gibt lediglich an, daß im Hoden 8 Monate alter Kater reife Spermien gefunden werden, unabhängig davon, in welcher Jahreszeit die Tiere dieses Alter erreichen. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß die weiblichen Tiere innerhalb der Population, aus der auch die meisten Katerhoden der vorliegenden Untersuchung stammen, ein sehr variables Zyklusverhalten aufweisen, bei dem die in der Natur vorkommenden saisonalen Schwankungen weitgehend aufgehoben sind. So kommen einige der Katzen (ca. 8 von 20) auch im Sommer und Winter ein- oder mehrmals hintereinander in den Oestrus. Falls es also bei wild lebenden Katern eine saisonale Abhängigkeit der Hodenentwicklung gibt, ist es denkbar, daß sie innerhalb der untersuchten Population eher zu vernachlässigen ist.

<sup>&</sup>lt;sup>16</sup> Beim Präriehund (*Cynomys ludovicianus*), einem saisonal monoestrischen Tier, unterliegt bei geschlechtsreifen Tieren auch der Hoden circannalen Veränderungen (FOREMAN, 1997).

Für die Bestimmung der Testosteronkonzentration wurde den Katern, die zur Kastration kamen, Blut abgenommen. Bei geschlechtsreifen Katern ist bekannt, daß die Testosteronwerte jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen sind (KIRKPATRICK, 1985). Inwieweit dies auch für Testosteronkonzentrationen bei juvenilen Katern gilt, ist bislang nicht bekannt. Für die vorliegende Untersuchung ist jedoch bedeutsam, daß die Kater, deren Hoden untersucht wurden, ganzjährig dem Stimulus durch sexuell aktive weibliche Tiere ausgesetzt waren (s. o.). Aus diesem Grunde schien es vertretbar. den saisonalen Zeitpunkt der Blutentnahme unberücksichtigt zu lassen. Hinzu kommt, daß es für die Untersuchung wichtig war, von denselben Tieren sowohl die Plasmatestosteronkonzentration als auch Material für die morphometrischen Studien zu gewinnen. Daher wurde dem Alter der Tiere gegenüber der Jahreszeit als Kriterium für den Zeitpunkt der Kastration der Vorzug gegeben.

Die Bestimmung der Testosteronkonzentration erfolgte mit einem handelsüblichen Radioimmunassay (RIA), dessen spezifische Antikörper gegen humanes Testosteron gerichtet sind. Zunächst wurde getestet, ob dieser RIA auch für die Bestimmung von felinem Testosteron genutzt werden kann. Hierfür wurde Plasma von geschlechtsreifen Katern, adulten, kastrierten Katern und weiblichen Katzen, sowie von Ebern untersucht. Das Plasma der unkastrierten Kater und der Eber wurde in zwei verschiedenen RIA's untersucht. Die Messungen ergaben, daß beide Assays vergleichbare Werte liefern und die ermittelten Werte aller Tiere mit den jeweiligen Angaben in der Literatur übereinstimmen (siehe Anhang). Fraglich ist dennoch, ob sich die Bindungseigenschaften des Antikörpers an felines oder humanes Testosteron unterscheiden. Dies würde gegebenenfalls bedeuten, daß bei Katern die gemessene Testosteronkonzentration nicht der tatsächlichen Konzentration im Blut entsprechen muß. Ziel Untersuchung allem. Verlauf der war aber vor den der Testosteronkonzentration in Abhängigkeit zum Alter der Tiere aufzuzeigen. Dies ist mit der beschriebenen Methode möglich.

In der morphometrischen Untersuchung wurden 17 Hoden in verschiedenen Altersstufen vermessen. Ausgewertet wurde jeweils nur 1 Schnitt durch das Organ. Regionale Unterschiede der Tubulusgröße oder –verteilung wurden nicht erfaßt. Der Möglichkeit einer regionalen Divergenz wurde aber in sofern Rechnung getragen, indem immer der gleiche Schnitt, der den Hoden in der Medianen längs teilenden, ausgemessen wurde. Außerdem wurde die gesamte Schnittfläche ausgewertet.

Auf der medianen Schnittfläche durch den Hoden wurden alle Tubuli ausgemessen. Für die Ermittlung des mittleren Tubulusdurchmessers und der mittleren Tubulusfläche konnten aber nur die runden Tubulusanschnitte berücksichtigt werden. Hierfür wurde festgelegt, daß der Quotient aus größtem und kleinstem Tubulusdurchmesser den Wert 1,4 nicht übersteigen darf (siehe Kapitel 3.4). Dieser Grenzwert wurde in Anlehnung an die Literatur und in Anpassung an die altersabhängigen Gegebenheiten innerhalb des Hodens gewählt. Je größer der Durchmesser einer Struktur, in diesem Falle der Tubuli, ist, desto mehr Schnitte können angelegt werden, die keine idealen Querschnitte darstellen. Da mit zunehmendem Alter der Tubulusdurchmesser steigt, werden bei Hoden älterer Kater immer mehr Tubuli nicht ideal quer geschnitten. Für Hoden sehr junger Kater spielt der Grad der Aufknäuelung eine Rolle: Da die Tubuli im Hoden junger Kater relativ gestreckt verlaufen, trifft ein Schnitt durch das gesamte Organ nur relativ wenig Tubuli ideal quer. Würde man fordern, daß nur die Tubuli in die Berechnung eingingen, deren Quotient der Durchmesser 1 ist, so fänden viele der "annähernd runden" Tubuli keine Berücksichtigung. Außerdem wäre in den verschiedenen Altersstufen die Zahl der Werte, die in die Berechnung eingingen, sehr unterschiedlich. Aus diesem Grund war es notwendig, auch die Tubuli in die Berechnung der Mittelwerte des Tubulusdurchmessers und der Tubulusfläche einzubeziehen, deren Quotient aus größtem und kleinstem Durchmesser zwischen 1 und 1,4 liegt.

Bei der morphometrischen Untersuchung wurden unter anderem die Gesamtfläche der Tubuli seminiferi und die absolute sowie relative Fläche des Interstitiums ermittelt. Die Gesamtfläche der Tubuli seminiferi wird mit der Fläche des Parenchyms gleichgesetzt und umfaßt sowohl die Fläche der samenbildenden Tubuli im engeren

-95-

Sinn (Tubuli seminiferi convoluti), als auch die der samenleitenden Tubuli (Tubuli seminiferi recti und des Rete testis). Wichtig erscheint in diesem Zusammenhang, daß die Fläche des Interstitiums, als Pendant zur Parenchymfläche, das gesamte intertubuläre Gewebe umfaßt. Hierzu gehören das lockere Bindegewebe, aber auch die Lamina limitans und die LEYDIGschen Zwischenzellen. Aussagen über den Anteil dieser Komponenten am Interstitium in unterschiedlichen Altersstufen können daher nicht getroffen werden.<sup>17</sup>

Die morphometrischen Daten wurden für die verschiedenen Altersstufen jeweils am Hoden eines Tieres ermittelt. Damit liefern sie zugegebener Maßen keine für die Spezies Katze allgemeingültigen Ergebnisse. Es können aber sehr wohl Tendenzen aufgezeigt werden. Außerdem werden Einzelwerte dadurch erhärtet, daß die Werte des nächst älteren oder jüngeren Tieres sich gleichsinnig verhalten. Ein steigender oder fallender Verlauf von Daten im Bezug auf das Lebensalter der Tiere ist also gleichzeitig Indiz für die allgemeine Gültigkeit der Einzeldaten.

<sup>&</sup>lt;sup>17</sup>Die Untersuchungen haben gezeigt, daß der Anteil des Interstitiums an der vermessenen Gesamtfläche (absolut und relativ) mit steigendem Alter abnimmt. Gleichzeitig steigt aber auch die Testosteronkonzentration mit dem Alter. Es bleibt daher zu bedenken, ob sich das Verhältnis innerhalb des Interstitiums zwischen lockerem Bindegewebe und LEYDIGschen Zwischenzellen mit zunehmendem Alter zu letzterem hin verschiebt. Um diese Frage beantworten zu können, müßten die Anteile des "Interstitium", besser des intertubulären Gewebes, getrennt ausgemessen werden.

## 5.2 DISKUSSION DER BEFUNDE

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Entwicklung des Katerhodens von der Geburt bis zur Geschlechtsreife.

Die morphologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß sich die Entwicklung der Gonade des Katers prinzipiell mit der anderer Tiere vergleichen läßt. Dennoch haben vor allem die elektronenmikroskopischen Untersuchungen einige Besonderheiten aufgedeckt. Diese Unterschiede werden im folgenden im Vergleich zu anderen Spezies aber auch zu abweichenden Befunden beim Kater diskutiert.

Die Ergebnisse der morphometrischen Untersuchung im Zusammenhang mit der Bestimmung der Plasmatestosteronkonzentration dieser Tiere haben zum einen Erwartungen bestätigt. Zum anderen wurden, insbesondere durch die Gegenüberstellung von morphometrischen und morphologischen Befunden, neue, interessante Zusammenhänge aufgezeigt, die Anlaß zu weiteren Untersuchungen geben.

Zum Zeitpunkt der Geburt ist der Hoden des Katers bereits abgestiegen oder befindet sich zumindest in der Regio inguinalis. Dies ist nicht bei allen Haussäugetieren der Fall. Vielmehr ist der Descensus testis beim Rüden erst mit 5-6 Wochen (WENSING, 1968; BAUMANS, 1982; BAUMANS et al., 1981), beim Hengst sogar erst in den ersten Lebensmonaten abgeschlossen (SCHUMMER u. VOLLMERHAUS, 1987). Inwieweit dieser Aspekt bei der Differenzierung und Ausreifung des Hodengewebes eine Rolle spielt, ist zu überlegen.

In verschiedenen Arbeiten zur Hodenentwicklung der Haussäugetiere wurde diese in unterschiedliche Stadien unterteilt. So auch in der Arbeit von SANCHEZ et al. (1993a, b) über die postnatale Entwicklung des Katerhoden. In der vorliegenden Arbeit wurde darauf verzichtet. Zwar ließen sich bei der Betrachtung einzelner Komponenten des Organs (Hodenkanälchen, SERTOLIzellen, LEYDIGsche Zwischenzellen) verschiedene Stadien einteilen, begreift man diese Komponenten jedoch als Teile einer Gesamtentwicklung, innerhalb derer sich diese Anteile auch gegenseitig in ihrer Entwicklung beeinflussen, so erscheint eine Stadieneinteilung zu formalistisch oder auch willkürlich und nicht unbedingt sinnvoll.

Beim Kater, ebenso wie bei den anderen Haussäugetieren, wird die Hodenkapsel pränatal angelegt und setzt sich aus einer bindegewebigen und einer gefäßreichen Schicht zusammen. In der Literatur werden die Schichten zum Teil als eigenständige Hüllen betrachtet, wodurch nicht immer klar zu erkennen ist, worauf sich die Beschreibungen und Dickenangaben beziehen. In den Nomina Anatomica Veterinaria von 1994 wird ohne weitere Spezifizierung die Tunica albuginea aufgeführt, während in den Nomina Histologica (1992 zuletzt überarbeitet) sowohl eine Tunica albuginea als auch eine Tunica vasculosa aufgelistet werden. Zur Vereinheitlichung sollte der Begriff Tunica albuginea weiterhin die Hodenkapsel bezeichnen. Eine Unterteilung in ein Stratum fibrosum und ein Stratum vasculosum ist jedoch notwendig, um den morphologischen Gegebenheiten gerecht zu werden.

Die Differenzierung der Tunica albuginea ist beim Kater mit dem 4. Lebensmonat abgeschlossen. Das entspricht der Hälfte der für den postnatalen Reifungsprozess der Gonaden benötigten Zeit. Beim Büffel ist die Tunica albuginea erst mit der Erlangung der Geschlechtsreife, also am Ende des ersten Lebensjahres abgeschlossen (GOYAL u. DHINGRA, 1973).

Beim Kater treten innerhalb der Tunica albuginea sogenannte heterotope LEYDIGsche Zwischenzellen auf. Sie wurden 1987 von WROBEL und HEES beim adulten Kater beschrieben. Die Arbeit von SANCHEZ et al. (1993b) über die Entwicklung der LEYDIGschen Zwischenzellen beim Kater beschreibt nur die intertubulären Zwischenzellen. Die vorliegenden Untersuchungen haben aber gezeigt, daß bereits perinatal heterotope LEYDIGschen Zwischenzellen ausgebildet sind. Sie weisen auch zu diesem Zeitpunkt schon deutlich die charakteristischen Merkmale steroidhormonproduzierender Zellen auf. Der immunhistochemische Nachweis einer Testosteronproduktion wurde nicht durchgeführt. SANCHEZ et al. (1993b) haben aber in intertubulären Zwischenzellen zum Zeitpunkt der Geburt bereits eine Testosteronproduktion nachweisen können. Heterotope Zwischenzellen finden in den

Untersuchungen von SANCHEZ et al. keine Berücksichtigung. Die morphologischen Charakteristika der intratunikal gelegenen LEYDIGschen Zwischenzellen lassen jedoch vermuten, daß sie ebenfalls bereits zum Zeitpunkt der Geburt Testosteron produzieren. Es ist daher zu überlegen, ob beim Kater durch die heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen in der Hodenperipherie lokal eine höhere Testosteronkonzentration erzeugt wird. Dies könnte die im Vergleich zu anderen Spezies frühe Ausreifung der Tunica albuginea des Katers erklären.

Unter diesem Aspekt muß auch die Differenzierung beziehungsweise die Lumenbildung innerhalb der Tubuli seminiferi betrachtet werden: Sie beginnt beim Kater mit 4 Monaten in den peripher gelegenen Tubuli, während sie in den zentralen Tubuli später einsetzt. Gleiches gilt für die Spermatogenese, die in der Peripherie früher beginnt. Bis zum 7. Monat eilt die Entwicklung der subtunikal gelegenen Tubuli seminiferi derjenigen der retenahen voraus. SANCHEZ et al. (1993a) beschreiben zwar regionale Unterschiede in der Tubulusreifung, sie lassen aber offen, ob eine gewisse Gesetzmäßigkeit vorliegt. Beim Rind werden von FOSSLAND und SCHULTZE (1961), sowie von DOSTAL (1988) ebenfalls regionale Unterschiede in der Entwicklung der Tubuli seminiferi beschrieben: Der Unterschied besteht beim Rind in einem schnelleren Längenwachstum, einhergehend mit einer stärkeren Aufknäuelung der Tubuli seminiferi in der Hodenperipherie. Wie auch beim Kater nivellieren sich diese Unterschiede im Laufe der Entwicklung (DOSTAL, 1988). Beim Kater ließe sich die vorausschreitende Entwicklung der subtunikal gelegenen Tubuli seminiferi wiederum mit einer höheren Testosteronkonzentration in diesem Bereich aufgrund der dort angesiedelten LEYDIGschen Zwischenzellen erklären. Beim Rind werden aber keine vergleichbaren morphologischen Verhältnisse beschrieben. Vielmehr treten in der 8. bis 16. Lebenswoche große Aggregate differenzierter LEYDIGscher Zwischenzellen im Mediastinum testis auf (SINOWATZ et al., 1983). Da beim Kater ebenfalls heterotope LEYDIGsche Zwischenzellen schon von Geburt an im Mediastinum testis anzutreffen sind, besteht auch hier scheinbar ein Widerspruch: Warum sollte eine Anhäufung von Zwischenzellen subtunikal zu einer erhöhten Testosteronkonzentration und schnelleren Reifung der Tubuli seminiferi führen, nicht jedoch zentral im Mediastinum testis? Die heterotopen Zwischenzellen im Mediastinum schmiegen sich vornehmlich an die Tubuli seminiferi recti und an das Rete testis. Diese beiden Abschnitte des samenleitenden Systems weisen bereits pränatal ein Lumen auf. Darüber hinaus gewährleisten sie vor allem eine ausreichende Testosteronkonzentration im Nebenhodenkopf (WROBEL u. HEES, 1987). Dies würde bedeuten, daß die Hormone über das Rete testis abtransportiert werden und sich nicht im Mediastinum anreichern (siehe auch S. 108-109).

Obwohl beim Bullen ein regional unterschiedliches Längenwachstum beschrieben wird, was auch ein unterschiedliches Verhältnis zwischen Tubuli seminiferi und Interstitium zur Folge hat, liegen keine Daten bezüglich eines unterschiedlichen Dickenwachstums vor. Ebenso beschreiben SANCHEZ et al. (1993a) beim Kater die Zunahme des Durchmessers der Tubuli seminiferi im Laufe der Entwicklung. Regionale Unterschiede scheinen auch hier nicht beobachtet worden zu sein. Die eigenen Untersuchungen haben zumindest gezeigt, daß es im Hoden von Katern bis zu 4 Monaten lokal nahezu tubulusfreie Areale gibt. Da jedoch keine spezifische Lage innerhalb des Organs beobachtet werden konnte, blieb diese Tatsache in der Berechnung des Anteils des Parenchyms beziehungsweise des Interstitiums ohne Berücksichtigung. Inwieweit der Tubulusdurchmesser regionale Unterschiede aufweist, ist nicht untersucht worden. Die morphometrischen Untersuchungen haben ergeben, daß die Variabilität der Durchmesser und der Flächen aller runden Tubuli zum Zeitpunkt der Lumenbildung (20. Woche) sprunghaft zunimmt (siehe auch 4.1.7). Es liegt daher die Vermutung nahe, daß die regionale Divergenz in der Kanalisierung der Tubuli seminiferi auch zu regional unterschiedlichen Tubulusdurchmessern und Tubulusflächen führt, was sich in einer höheren Varianz ausdrückt.

Die Kanalisierung der Keimstränge erfolgt beim Kater ab einem Alter von 4 Monaten. Verschiedene Mechanismen kommen hierbei zum Tragen: Zelldegeneration, Sekretion, Phagozytose und Vakuolenbildung.

Das Zentrum der Keimstränge ist zum Beginn der Kanalisierung mit Plasmamassen gefüllt. Diese stellen zum Teil den apikalen Pol der SERTOLIzellen dar, oder es

handelt sich um Sekret, das von der SERTOLIzellen ausgeschleust wurde. Degenerierende Zellen, vor allem Keimzellen, werden ebenfalls in das Zentrum verlagert und gehen hier zugrunde. Zum einen werden die Zelltrümmer durch vermehrte Sekretion der SERTOLIzellen in das Rete testis gespült. Zum anderen werden Zelltrümmer durch die Stützzellen phagozytiert. Lysosomen, die im apikalen Zellpol der SERTOLIzellen zu finden sind, sind Ausdruck dieser Phagozytosetätigkeit. Inwieweit auch eine Exozytose von Enzymen (Lysozym) durch die SERTOLIzellen zu einer Verflüssigung des zentralen Materials und damit zu dessen Abtransport beiträgt, ist unklar. Darüber hinaus bilden sich im apikalen Pol der SERTOLIzellen Vakuolen, die im Laufe der Lumenbildung konfluieren und schließlich zum Lumen hin aufreißen. Diese Vorgänge werden auch bei anderen Spezies beschrieben (Rind: SINOWATZ et al., 1983; Mensch: PLÖEN u. RITZEN, 1984; RUSSEL et al., 1990). Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, daß beim Kater die Vakuolenbildung im Vordergrund steht. Dies gilt in gleicher Weise für den Bullen. Allerdings beschreiben SINOWATZ et al. (1983), daß sich beim Bullen während dieses Vorganges basale Stützzellen vermehrt teilen und gleichermaßen die zentralen, vakuolenbildenden SERTOLIzellen zugrunde gehen. Dies konnte beim Kater nicht beobachtet werden. Wenn degenerierte Zellen im Zentrum der Keimstränge gefunden wurden, so handelte es sich in der Regel um Keimzellen. Sicher ist aber, daß die SERTOLIzellen bei der Kanalisierung der Hodenkanälchen eine zentrale Rolle spielen. Es stellt sich daher die Frage, welche Voraussetzungen von Seiten der SERTOLIzellen gewährleistet sein müssen, damit es zu einer Kanalisierung der Tubuli kommen kann. In diesem Zusammenhang muß daher auch der Reifegrad der SERTOLIzellen zum Zeitpunkt der Lumenbildung in Betracht gezogen werden.

Der Grad der Reife wird in der Regel an der Ausbildung verschiedener Merkmale gemessen. Speziesübergreifend werden folgende morphologischen Charakteristika für die reife SERTOLIzelle angegeben: ein gekerbter Kern, ein dreiteiliger Nucleolus, perinukleäre Filamente, ausgedehntes, zum Teil zisternös erweitertes endoplasmatisches Retikulum, Lamellae anulatae sowie Cytoplasmaausläufer, die Zellkontakte zu anderen SERTOLIzellausläufern ausbilden (NICANDER et al., 1961; FLICKINGER, 1967; FLICKINGER u. FAWCETT, 1967; VITALE et al., 1973; PLÖEN u. RITZEN, 1984; WROBEL u. SCHIMMEL, 1989; VOGL et al., 1991, 1993; de KRETZER u. KERR, 1994; GURAYA, 1995). In der Literatur wird bei Neugeborenen speziesübergreifend eine SERTOLIvorläuferzelle beschrieben (CHARNY et al., 1952; CLERMONT u. PEREY, 1957; MANCINI et al., 1960; ATTAL u. COUROT, 1963; FLICKINGER, 1967; GONDOS et al., 1980; SINOWATZ et al., 1983, 1986; SINOWATZ u. AMSELGRUBER, 1986; SANCHEZ et al., 1993a). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung, obwohl die Vorläuferzellen beim neugeborener Kater im Vergleich zu anderen Spezies schon einen relativ hohen Reifegrad haben (s. u.). Es konnte gezeigt werden, daß wichtige Charakteristika der reifen SERTOLIzelle schon zum Zeitpunkt der Geburt ausgebildet sind: der dreiteilige Nucleolus, Kernkerben, perinukleäre Filamente und ein gut entwickeltes endoplasmatisches Retikulum. Demgegenüber beschreiben SANCHEZ et al. (1993a) in ihren Untersuchungen am Kater eher unreife SERTOLIzellvorläufer. Die genannten Reifezeichen beim juvenilen Kater zeigen sich allerdings erst auf elektronenoptischem Niveau, was in der Arbeit von SANCHEZ et al. (1993a) keine Berücksichtigung fand. Darüber hinaus werden von den Untersuchern lediglich die Elongation und Einkerbung der SERTOLIzellkerne als Reifekriterien genannt. Bei der Ratte und beim Menschen wird die Reifung der SERTOLIzellen ebenfalls zu einem späteren Zeitpunkt (Pubertät) beschrieben (CHARNY et al., 1952; MANCHINI et al., 1960), und von NISTAL und PANIAGUA (1983) werden beim Fohlen auch eher unreife SERTOLIzellen beschrieben. Lediglich beim Kalb fanden SANTAMARINA und REECE (1957) einen relativ hohen Grad der Differenzierung.

In der Untersuchung konnte gezeigt werden, daß in einem Alter von 4 Monaten entscheidende Veränderungen innerhalb des Hodens und auch in den der SERTOLIzellen ablaufen: Die SERTOLIzellen sind zum Teil schon vollständig ausgereift oder haben zumindest begonnen, weitere Strukturen, die als Kriterien der Reife anzusehen sind auszubilden. Dies sind vor allem Zellausläufer, die das inzwischen mehrschichtige Keimepithel zergliedern. An diesen Zellausläufern haben sich Zellkontakte gebildet, die sich an der Bildung der Blut-Hoden-Schranke beteiligen. Damit sind wichtige Voraussetzungen für den Beginn der Spermatogenese geschaffen. Tatsächlich weisen in diesem Alter auch die ersten Tubuli seminiferi ein mehrschichtiges Keimepithel auf, das verschiedene Zellen der Spermatogenese umfaßt. Für die Funktion der Tubuli seminiferi müssen diese außerdem ein Lumen ausbilden, und auch dies geschieht etwa zeitgleich mit dem ersten Auftreten reifer SERTOLIzellen, nämlich ab der 16. Woche. Dieser Befund steht im Einklang mit der Funktion, die SERTOLIzellen bei der Lumenbildung der Tubuli seminiferi einnehmen. Da die Reifung der Tubuli innerhalb des Hodens nicht gleichmäßig erfolgt, ist zu überlegen, ob auch die SERTOLIzellreifung regionale Unterschiede zeigt. Unter der Prämisse, daß die Lumenbildung und der Eintritt in die Spermatogenese von dem Reifegrad der SERTOLIzellen abhängig ist, sollte dies in weiterführenden Untersuchungen abgeklärt werden.

In der Arbeit von SANCHEZ et al. (1993a) wird ebenfalls auf die zentrale Rolle der SERTOLIzelle bei der Hodenentwicklung hingewiesen. Die Autoren beziehen sich in ihrer Diskussion unter anderem auf die Arbeit von RUSSEL et al. (1989) bei der Ratte. Unklar bleibt aber, inwieweit die von RUSSEL et al. für die Ratte erhobenen Befunde auch auf den Kater zutreffen. Der Befundteil umfaßt weder die Darstellung der Blut-Hoden-Schranke, noch die Vorgänge bei der Lumenbildung. Darüber hinaus gibt die Arbeitsgruppe den Zeitpunkt der Reife der SERTOLIzellen mit 5-7 Monaten etwas später an, als die vorliegenden Untersuchungen ergaben.

Abgesehen von der Reifung der SERTOLIzellen und deren Einfluß auf die Differenzierung der Tubuli seminiferi, konnten in der vorliegenden Untersuchung zwei Typen von SERTOLIzellen nachgewiesen werden: ein dunkler und ein heller Typ. Die Unterscheidung ist wiederum nur im Elektronenmikroskop möglich, was erklärt, weshalb in den lichtmikroskopischen Untersuchungen von SANCHEZ et al. (1993a) am Hoden des Katers nur ein SERTOLIzelltyp gefunden wurde. Demgegenüber werden zwei Typen von SERTOLIzellen unter anderem bei der Maus (FLICKINGER, 1966), beim Hamster (MIETHING, 1989), bei der Ratte (SOLARI u. FRITZ, 1978) und beim Menschen (WARTENBERG, 1981) beschrieben.

Von verschiedenen Autoren wird das Auftreten dieser zwei Zelltypen als Artefakt interpretiert, das bei der Immersionsfixierung auftreten kann (CHEEMES et al., 1977; SINOWATZ u. AMSELGRUBER, 1989). Aus den Untersuchungen von MIETHING (1989) geht jedoch hervor, daß sich dunkle und helle SERTOLIzellen auch in perfusionsfixiertem Material darstellen lassen. Außerdem bleibt unklar, weshalb die Zellen unterschiedlich auf die Immersionsfixierung reagieren sollten. Dies ist nur dadurch zu erklären, daß die Zellen unterschiedliche Funktionen haben oder sich in verschiedenen Aktivitätsstadien befinden und dies zu einem unterschiedlichen Verhalten gegenüber dem Fixans führt. Einen Hinweis auf verschiedene Funktionen der Zelltypen geben die Untersuchungen von SOLARI und FRITZ (1978), die bezüglich der Entwicklung der hellen SERTOLIzellen eine Abhängigkeit von FSH nachweisen konnten. Nach den eigenen Beobachtungen zeichnen sich die dunklen SERTOLIzellen durch eine hohe Anzahl von Mitochondrien, ein stark entwickeltes und häufig zisternös erweitertes endoplasmatisches Retikulum sowie freie Ribosomen aus. Dies sind Charakteristika, die auf eine hohe Stoffwechselaktivität hinweisen und unabhängig von der Fixationstechnik sind. Auf der anderen Seite tragen degenerierende SERTOLIzellen oftmals noch die Merkmale des dunklen Typs. Zu beachten ist außerdem, daß die Zahl der dunklen SERTOLIzellen im Hoden von Katern, die bereits die Geschlechtsreife erlangt haben, deutlich geringer ist, als im Hoden von jüngeren Katern. Es ist also auch denkbar, daß die dunklen SERTOLIzellen eine spezielle Funktion innerhalb der Hodenreifung einnehmen. So postuliert WARTENBERG (1978, 1981) für den dunklen Zelltyp einen positiven und für den hellen Typ einen inhibitorischen Einfluß auf die Reifung der Keimzellen.

Wäre das Auftreten zweier SERTOLIzelltypen nur ein fixierungsbedingtes Artefakt, so wäre zu erwarten, daß sich dieses vor allem im Zentrum des Probenblöckchens manifestiert. Dies konnte in der vorliegenden Untersuchung allerdings nicht bestätigt werden. Auch Übergangszustände, wie sie bei einem fixierungsbedingten Artefakt zu
finden wären, konnten nicht beobachtet werden. Welche unterschiedlichen Funktionen oder Aktivitätszustände zu dem divergierenden Aussehen der Zelltypen führen, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Die zweite Zellart, die vom Beginn des Untersuchungszeitraumes an in den Tubuli seminifer zu finden ist, sind die Keimzellen. Einige Untersucher (CLERMONT u. PEREY, 1957; FRANCI u. MANDL, 1964; HADZISELIMOVIC, 1976; SINOWATZ et al., 1983; GONDOS, 1984 MIETHING, 1989; STEGER u. WROBEL, 1996) beschreiben im Hoden neugeborener Tiere eine Art Vorläuferzelle; die sie als Präspermatozyten oder Gonozyten bezeichnen, und aus denen erst im Verlauf der postnatalen Entwicklung Spermatogonien hervorgehen. Die eigenen Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß beim neugeborenen Kater bereits Spermatogonien anzutreffen sind. Dies deckt sich mit den Beschreibungen von SANCHEZ et al. (1993). Problematisch bei der Differenzierung in Gonozyten und Spermatogonien ist zudem, daß die Autoren nicht immer eine klare Angaben über die morphologische Unterscheidung der beiden Zellarten machen. Ebenso wie bei anderen Spezies beschrieben, zeigen die vorliegenden Untersuchungen, daß am Anfang der postnatalen Entwicklung einige der Spermatogonien zugrunde gehen. Im weiteren Verlauf nimmt die Mitoserate der Spermatogonien jedoch stark zu, so daß zunehmend mehr Spermatogonien als SERTOLIzellen in einem Tubulusquerschnitt zu finden sind. Es können außerdem A-, B- und Intermediär-Spermatogonien unterschieden werden. Verschiedenen Formen der Spermatogonien beschreiben auch PIER (1985) in ihren Untersuchungen zum Samenepithelzyklus des adulten Katers, sowie PREM (1992), während SANCHEZ et al. (1993a) die Spermatogonien nicht näher charakterisieren. Bei anderen Spezies wird diese Einteilung ebenfalls vorgenommen (Maus, Meerschweinchen, Rind, Schaf: STAGEL, 1987; Mensch, Ratte: DYM, 1988; Rind, Schaf, Ziege: RÜSSE u. SINOWATZ, 1991). Die ersten Anzeichen der Spermatogenese wurden in den eigenen Untersuchungen bei Katern ab einem Alter 4 Monaten gefunden. Die Tubuli wiesen allerdings einen regional von unterschiedlichen Reifegrad auf (siehe auch S. 102-103). SCOTT und SCOTT (1957) beschreiben den Beginn der Spermatogenese etwas später, bei 5 Monate alten Katern,

-105-

und SANCHEZ et al. (1993a) noch später, bei 5-7 Monate alten Katern. In jedem Fall ist von der Betrachtung der Morphologie her, das Hodenparenchym schon früher in der Lage, reife Spermien zu bilden. Die Geschlechtsreife wird für den Kater aber je nach Rasse mit 8-12 Monaten angegeben. Diese zeitliche Diskrepanz ist jedoch vermutlich damit zu erklären, daß zur Festlegung der Geschlechtsreife einer Spezies

nicht das histologische Bild dient, sondern vielmehr das Verhalten, die sexuelle Aktivität (z. B. das Markieren des Revieres mit Sperma) und die Befruchtungsfähigkeit beurteilt wird.

Auf die regionalen Reifeunterschiede der Tubuli seminiferi und ihres Keimepithels und die mögliche Erklärung hierfür ist in den oberen Abschnitten eingegangen worden.

Die Darstellung der einzelnen Zellen der Spermatogenese des Katers erfolgt bei PIER (1985) auf lichtmikroskopischer Ebene. Insofern stellen die eigenen Untersuchungen die Ergänzung hierzu auf elektronenoptischen Niveau dar. Unterschiede zu den Beschreibungen bei anderen Spezies (GONDOS, 1984; KAYE, 1984; DYM, 1988, RÜSSE u. SINOWATZ, 1991) und zu den Darstellungen der Spermatiden des Katers von BURGOS und FAWCETT (1955) sowie von SICKELS und HEATH (1986) sind nur gering.

Mit dem Eintreten der Tubuli seminiferi in die Spermatogenese und dem Auftreten von haploiden Zellen, muß das Milieu innerhalb des Keimepithels kontrolliert werden, wofür die Blut-Hoden-Schranke verantwortlich ist. Hieran beteiligen sich die SERTOLIzellen, die das Keimepithel in zwei Kompartimente teilen, indem zwischen SERTOLIzellausläufern Zellkontakte ausgebildet werden (siehe auch S. 102-103). Die vorliegenden Untersuchungen belegen jedoch, daß beim Kater weitere Strukturen an der Bildung der Blut-Hoden-Schranke beteiligt sind: Die Injektion mit Lanthannitrat hat gezeigt, daß die Kapillaren hierfür nicht permeabel sind. Demgegenüber kann bei Immersionfixierung die Lamina limitans passiert werden, und das Lanthannitrat dringt aus dem Bindegewebe in das Keimepithel ein.

TAKATA et al. (1990) konnten ebenso wie HOLASH et al. (1993) zeigen, daß die Kapillaren, welche die Tubuli seminiferi umgeben, vom kontinuierlichen, nicht fenestrierten Typ sind, und daß sie Gene exprimieren, die sie als Blut-Gewebe-Barriere ausweisen<sup>18</sup>. Beim Menschen fanden ERGÜN et al. (1996) Kapillaren vom nicht-fenestriertem kontinuierlichen. Typ zwischen den LEYDIGschen Zwischenzellen und dem intertubulären Bindegewebe und solche mit fenestrierten Abschnitten innerhalb der Lamina limitans. Auch bei der Ratte stellt das Kapillarendothel eine Barriere für Lanthannitrat dar, und bei der Ratte beteiligt sich auch die Lamina limitans funktionell an der Blut-Hoden-Schranke (VITALE et al., 1973). Ähnliches postuliert LÜDTKE (1987) für die Lamina limitans beim Kater, doch konnte dies in den vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden. Neben der Beteiligung der SERTOLIzellen an der Bildung der Blut-Hoden-Schranke behaupten HOLASH et al. (1993), daß die SERTOLIzellen in den Endothelzellen die für die Barrierefunktion notwendigen Charakteristika induzieren und aufrechterhalten.

Im Zusammenhang mit der Differenzierung des Hodens und der hierbei aufeinander Einfluß nehmenden Komponenten können die LEYDIGschen Zwischenzellen als Produktionsstätte des Testosterons nicht außer Acht gelassen werden.

Verschiedene Autoren beschreiben eine Population fetaler, hormonproduzierender LEYDIGscher Zwischenzellen, die sich unter dem Einfluß mütterlicher Gonadotropine differenzieren und auch zum Zeitpunkt der Geburt noch ausgebildet sind (Kaninchen: GONDOS et al., 1975; Hamster: GONDOS et al., 1973; Mensch: NISTAL et al., 1986). In diesem Fall wird eine Regressionsphase in den ersten Wochen nach der Geburt beschrieben, in deren Verlauf die LEYDIGschen Zwischenzellen degenerieren oder sich "dedifferenzieren" (VAN WAGENEN u. SIMPSON, 1954; DE ROSAS u. RUSSO, 1971; CODESAL et al., 1990).

<sup>&</sup>lt;sup>18</sup> Die Exprimierung des Gens GLUT1 gewährleistet den Glucosetransport über eine Blut-Gewebe-Schranke hinweg und dient als Indikator für derartige Barrieren. GLUT1 konnte nicht in den SERTOLIzellen, wohl aber im Endothel von Hodenkapillaren nachgewiesen werden (TAKATA et al. 1990; HARIK et al. 1990; HOLASH et al. 1993).

Somit werden bei verschiedenen Spezies drei Populationen von Zwischenzellen beschrieben: die fetale Population, die Population, die in der Phase der Regression noch präsent ist, und die adulte Population, die sich zum Zeitpunkt der Pubertät zu differenzieren beginnt (Schwein: DIERICHS u. WROBEL, 1973; Pferd: FLORES et al., 1989; Rind: ABDEL-RAOUF, 1960; Kaninchen: GONDOS et al., 1975; Kater: SANCHEZ et al., 1993b).

In der vorliegenden Untersuchung am neugeborenen Kater wurden ebenfalls ausgereifte LEYDIGsche Zwischenzellen gefunden, die die morphologischen Charakteristika einer Steroidhormonproduktion aufweisen. Dies stimmt mit den Ergebnissen von SANCHEZ et al. (1993b) überein, die beim neugeborenen Kater darüber ausgereifte Zwischenzellen gefunden haben und hinaus eine Testosteronproduktion in diesen Zellen nachweisen konnten. Außerdem beschreiben diese Untersucher aber zwei weitere Populationen von LEYDIGschen Zwischenzellen (s.o.): Für die Zeit vom 2. bis 4.-5. Lebensmonat und für die Zeit ab dem 5.-6. Lebensmonat. Bei den Zwischenzellen, die ab dem 5.-6. Lebensmonat beschrieben werden, handelt es sich um ausgereifte LEYDIGsche Zwischenzellen, deren dargestellte Morphologie sich mit dem aus der vorliegenden Untersuchung deckt. Die Zellen aber, die die Arbeitsgruppe um SANCHEZ (1993b) bei Katern vom 2. bis zum 4.-5. Lebensmonat beschreibt, tragen Charakteristika, die auf eine Regression oder Degeneration hinweisen: Im Vergleich zu Zwischenzellen zum Zeitpunkt der Geburt enthalten sie weniger Lipidtropfen, sie sind länglicher mit zum Teil pyknotischen Kernen, und auch der Testosteronnachweis fällt schwächer aus. Derartige Anzeichen einer Regression konnte in der vorliegenden Untersuchung weder auf licht- noch auf elektronenoptischem Weg beobachtet werden. Vielmehr sind über den gesamten Untersuchungszeitraum ausdifferenzierte LEYDIGsche Zwischenzellen **Z**11 beobachten, deren Zahl lediglich bis zur Geschlechtsreife zunimmt. Die Ergebnisse der Untersuchung rechtfertigen also keine Unterscheidung verschiedener Populationen LEYDIGschen Zwischenzellen, sondern allenfalls eine Unterscheidung von verschiedener Reifegrade.

Eine definitive Aussage bezüglich der Hormonproduktion der LEYDIGschen

Zwischenzellen kann nach den erfolgten Untersuchungen nicht getroffen werden, da kein Testosteronnachweis am Schnittpräparat erfolgte. Es wurde jedoch die Testosteronkonzentration im Plasma der Tiere gemessen. Die Messung ergab, daß die Plamatestosteronkonzentration erst ab der 10. Lebenswoche innerhalb des meßbaren Bereiches liegt und bis zum Ende der Untersuchungszeitraumes zunimmt. Diese Ergebnisse stehen zu denen von SANCHEZ et al. (1993b) in sofern im Widerspruch, als daß diese bereits beim neugeborenen Kater immunhistochemisch eine Testosteronproduktion nachweisen konnten. Dies kann aber auch bedeuten, daß es innerhalb der Hodenentwicklung zunächst zu einer Hormonanreicherung im Gewebe kommt, bevor eine ausreichende Menge Testosteron in das Blutsystem gelangt. Hierfür können zum einen zelluläre Androgenrezeptoren zum anderen aber auch das androgenbindende Protein verantwortlich sein.

SUAREZ-QUIAN et al. (1995) haben bei adulten Ratten und Mäusen Androgenrezeptoren in den LEYDIGschen Zwischenzellen, SERTOLIzellen (in Stadium IV-VIII der Spermatogenese) sowie in den Myofibroblasten der Lamina limitans nachweisen können. Bei fetalen und neugeborenen Ratten konnten SAUNDERS et al. (1995) in SERTOLIzellen und peritubulären Zellen der Lamina limitans Androgenrezeptoren nachweisen. Diese Untersuchungen haben außerdem gezeigt, daß im Zusammenhang mit der Lumenbildung und dem Beginn der Spermatogenese die Intensität des Rezeptorennachweises in den SERTOLIzellen zunimmt. Es ist daher durchaus möglich, daß die von den LEYDIGschen Zwischenzellen synthetisierten Steroidhormone zunächst vor Ort an Rezeptoren gebunden werden, bevor die produzierte Menge Testosteron ausreicht, um in das Blutsystem abgegeben zu werden und die Konzentration dort die Nachweisgrenze überschritten hat.

Das androgenbindende Protein ist ein Produkt der SERTOLIzellen. Es dient zum einen der Anreicherung von Testosteron im Keimepithel und zum anderen der Hormonanreicherung im Nebenhoden (COUROT, 1980). Bei verschiedenen Spezies (Ratte und Maus: NAZIAN, S.J., 1986; Mensch: BIDLINGMAIER et al., 1983) wurde es im Hoden und Nebenhoden juveniler Tiere nachgewiesen. Bei Ratten konnten KUHN-VELTEN et al. (1987) darüber hinaus kurz vor der Geschlechtsreife einen Anstieg des androgenbindenden Proteins innerhalb des Hodens und die Akkumulation des Proteins im Nebenhoden feststellen. Von BIDLINGMAIER et al. (1983) wird dem androgenbindenden Protein nicht nur bei der Entwicklung des Hodens sondern auch bei der Entwicklung des Nebenhodens ein entscheidender Einfluß zugeschrieben. Dies untermauert außerdem die anfangs aufgestellte Vermutung, daß zwar die subtunikalen LEYDIGschen Zwischenzellen, nicht aber die mediastinalen Zwischenzellen lokal eine erhöhte Testosteronkonzentration gewährleisten. Letztere dienen nach der Aussage von WROBEL und HEES (1987) vornehmlich zur Hormonanreicherung im Nebenhoden (siehe auch S. 100).

Auffällig bei den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist die Diskrepanz zwischen der morphometrisch erfaßten Entwicklung des Katerhodens und der Plasmatestosteronkonzentration der Tiere. Das Hodengewicht, die vermessene Gesamtfläche des Hodens, der Tubulusdurchmesser, die Tubulusfläche, sowie die Gesamtfläche des Parenchyms nehmen mit dem zunehmenden Lebensalter der Kater zu. Bei allen aufgeführten Parametern erfolgt in den ersten 18-20 Lebenswochen eine allmähliche Zunahme, gefolgt von einem sprunghaften Anstieg um die 20. Lebenswoche. Man würde annehmen, daß die Konzentration von Testosteron im Plasma der Tiere zeitlich früher, also bereits vor der 20. Lebenswoche deutlich nicht ansteigt. Dies ist jedoch der Fall. Vielmehr "hinkt" die Plasmatestosteronkonzentration der morphologischen Entwicklung des Hodengewebes hinterher. Auf die mögliche Differenz zwischen der Testosteronkonzentration im Blut und im Hodengewebe der Tiere ist bereits eingegangen worden. Lokal angereichertes Testosteron könnte auch in diesem Fall progressiv auf die Hodenentwicklung wirken, ohne daß sich dies in einem erhöhten Plasmatestosteronspiegel zeigt.

Um die aufgestellte Hypothese, daß innerhalb der Hodenentwicklung synthetisiertes Testosteron zunächst vor Ort gebunden wird und dort positiv auf die Entwicklung des Gewebes wirkt, bevor die Hormonkonzentration im Blut signifikant ansteigt, bedarf es weiterführender Untersuchungen. Hierzu gehört vor allem der immunhistologische Nachweis einer Testosteronkonzentration beziehungsweise einer Testosteronproduktion in den LEYDIGschen Zwischenzellen, sowie der qualitative und möglichst auch quantitative Nachweis von androgenbindendem Protein und von Androgenrezeptoren im Hoden juveniler Kater.

Die vorliegenden Ergebnisse verdeutlichen, wie komplex die Entwicklung des Hodens ist, und wie sehr sich die einzelnen Gewebekomponenten direkt oder durch Botenstoffe gegenseitig in ihrer Differenzierung und Funktion beeinflussen. Bei der Untersuchung einzelner Elemente des Hodens sollte dies beachtet werden.

### 6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die postnatale Entwicklung des Hodens an insgesamt 67 Katern untersucht. Die jüngsten Kater waren neugeboren, die ältesten wurden in einem Alter von 12 Monaten kastriert. Neben der Untersuchung der Morphologie mit licht- und elektronenoptischen Methoden, wurde das Wachstum einiger Gewebeanteile (z. B. Fläche der Tubuli seminiferi) morphometrisch erfaßt. Des weiteren wurde die Testosteronkonzentration im Plasma der Tiere gemessen. Die Untersuchungen liefern einen Überblick über die Struktur des Katerhodens zu verschiedenen Altersstufen und geben Hinweise auf die gegenseitige Beeinflussung der Organanteile innerhalb der Entwicklung. Dies wird ergänzt durch die Gegenüberstellung der Morphologie, der morphometrischen Parametern und der Plasmatestosteronkonzentration.

Im Hoden des Katers findet man zum Zeitpunkt der Geburt mäßig gewundene, solide Keimstränge. Sie besitzen ein einschichtiges Epithel, das überwiegend aus SERTOLIzellen besteht und nur wenige Keimzellen enthält. Das intertubuläre Gewebe ist locker und enthält LEYDIGsche Zwischenzellen. Diese befinden sich auch in großer Zahl unter- und innerhalb der Tunica albuginea, wo sie als "heterotope LEYDIGsche Zellen" bezeichnet werden. Ab einem Alter von 4 Monaten beginnt in den peripher gelegenen Tubuli seminiferi die Lumenbildung und ab 41/2 Monaten bilden sie ein mehrschichtiges Keimepithel aus, das in die Spermatogenese eintritt. Die zentral liegenden Keimstränge bleiben länger solide und beginnen später mit der Spermatogenese. Mit 7-8 Monaten hat die Spermatogenese alle Tubuli erfaßt. Sämtliche quantitativen Parameter (Hodengewicht, Fläche der Tubuli, Parenchymgesamtfläche, etc.), mit Ausnahme der Plasmatestosteronkonzentration, nehmen ab der 20. Lebenswoche sprunghaft zu.

Die SERTOLIzellen haben beim neugeborenen Kater bereits einen hohen Reifegrad. Sie beteiligen sich ab dem 4. Monat maßgeblich an der Bildung des Tubuluslumen. Man kann zwei Arten von SERTOLIzellen unterscheiden: der dunkle Typ besitzt Merkmale, die auf eine hohe Stoffwechselaktivität hinweisen, scheint aber auch häufiger zu degenerieren. Der helle Typ kommt wesentlich häufiger vor und trägt Charakteristika, wie sie auch bei anderen Spezies beschrieben werden. Die Blut-Hoden-Schranke wurde über lanthannitrathaltige Lösungen dargestellt. Die Barriere ist ab dem 4. Lebensmonat ausgebildet, und neben den SERTOLIzellen wird sie auch durch die Hodengefäße gewährleistet, die für Lanthannitrat nicht permeabel sind.

Die Myofibroblasten der Lamina limitans besitzen ab dem 2. Lebensmonat kontraktile Filamente und sind von einer unvollständigen Basalmembran umgeben. Sowohl die intertubuläre als auch die heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen tragen von Beginn des Untersuchungszeitraumes an alle morphologischen Merkmale einer Steroidhormonproduktion. Im Blutplasma läßt sich das Testosteron jedoch erst ab der 10. Lebenswoche nachweisen und die Konzentration steigt erst ab der 26. Woche stark an, was im Widerspruch zu den anderen quantitativen und den qualitativen Merkmalen zu stehen scheint.

Die artspezifischen Besonderheiten des Hodens des Katers, sowie dessen Entwicklung sind Teil der Diskussion. Außerdem wird die Diskrepanz zwischen dem morphologischen Reifegrad der LEYDIGschen Zwischenzellen sowie des Hodenparenchyms und dem Plasmatestosteronspiegel ebenso wie die regionalen Entwicklungsunterschiede innerhalb des Hodens im Zusammenhang mit den für den Kater typischen heterotopen LEYDIGschen Zwischenzellen diskutiert.

## 7. SUMMARY

#### POSTNATAL DEVELOPMENT OF THE TESTIS OF THE CAT (FELIS CATUS)

In the present study the postnatal development of the testis of 67 male cats was examined. The youngest cats were neonatal, the oldest ones had been castrated at the age of 12 months. Apart from investigating the morphology by light- and electronmicroscopic methods, the growth of some of the tissues' components (for example the area of the seminiferous tubules) were recorded morphometrically. In addition, the concentration of testosterone in the animals' plasma was measured. These investigations give an overview of the structures of the cats' testis at different ages and point out influences of parts of the organ depend on each other during their development. This is supported by comparison of the morphology, the morphometric parameters and the concentration of testosterone in the plasma.

At birth, moderately coiled, solid germinal cords can be found in the testis of the cat. They have a single-layered epithelium, which contains mainly SERTOLI cells and only a few germinal cells. The intertubular tissue is loose, containing LEYDIG cells. These cells also occur in great number underneath and in between the tunica albuginea, where they are named "heterotopic LEYDIG cells". From the age of 4 months on the formation of a lumen starts in the peripheral situated seminiferous tubules and from 4½ months on they build a stratified germinal epithelium, leading on spermatogenesis. The germinal cord in the centre remain solid for a longer time and spermatogenesis starts later. After 7-8 months spermatogenesis covers all tubules. All quantitative parameters (testicular weight, area of tubules, area of parenchyma, etc.) except the testosterone concentration in the plasma increase abruptly in the 20<sup>th</sup> week of life.

SERTOLI cells in neonatal cats already have a high level of maturity. From the 4<sup>th</sup> month on they play a leading role in forming the tubular lumen. Two kinds of SERTOLI cells can be distinguished: the dark type shows features that indicate a high metabolic activity, but they also seem to degenerate more often. The light type occurs

much more often and shows characteristics also described in other species. The bloodtestis barrier was demonstrated by fixation, containing lanthanum nitrate. The barrier is established from the 4<sup>th</sup> month on and apart from SERTOLI cells it is also maintained by testicular blood vessels, which are not permeable to lanthanum nitrate.

The myofibroblasts of the lamina limitans contain contractile filaments from the  $2^{nd}$  month of life on and they are surrounded by an incomplete basement membrane.

From the beginning of the investigated period the intertubular as well as the heterotopic LEYDIG cells show all characteristics of steroid hormone production. In the blood plasma testosterone is first detectable in the 10<sup>th</sup> week of life and the concentration does not increases until the 26<sup>th</sup> week, which seems inconsistent with other quantitative and qualitative features.

The particularities of the cats testis and its development are part of the discussion. In addition the discrepancy between the morphological degree of maturation of LEYDIG cells and of the parenchyma and the testosterone levels in plasma as well as the regional differences within the testis in connection with the heterotopic LEYDIG cells, typical of the cat, are discussed.

# 8. ANHANG

# ÜBERSICHT ZUR VALIDIERUNG DES RADIOIMMUNASSAYS

# 1. Antikörper-Spezifität

# Tabelle 1 Kreuzreaktionen mit anderen Substanzen

Substanz	Kreuz-
	reaktion (%)
Testosteron	100
Aldosteron	0
5β-Androstan-3α 17β-diol	0,4
Andostendion	0,5
5α-Androstan-3β, 17β-diol	0,04
5-Androsten3ß, 17ß-diol	0,2
5α-Androstan-3, 17β-dion	0,05
Androsteron	0,004
Corticosteron	0,002
Cortisol	0,005
Cortison	0,02
Danazol	0,09
11-Deoxycortisol	0
Dexamethason	0,003
DHEA	0,002
DHEA-sulfat	0,006
5α-Dihydrotestosteron	3,15
Östradiol	0,02
5(10)-Östren-17α-ethinyl-17β-ol-3-on	0,2
4-Östren-7α-methyl-17β-ol-3-on	1,1
4-Östren-17-ol-3-on	20,667
Ethisteron	0,7
Fluoxynetsrone ("Halotestin")	0,01
19-Hydroxyandrostendion	2,0
11-Ketotestosteron	16
Methyltestosteron	1,7
Norethindron	0,1
Northyrodrel	0
Prednison	0
Progesteron	0
Spironolacton	0
11B-Hydroxytestosteron	1,0
Triamicinolon	0,2

### 2. Empfindlichkeit

Die untere Nachweisgrenze des verwendeten RIA's liegt bei 0,04 ng Testosteron/ml.

# 3. Genauigkeit

Die Genauigkeit wurde ermittelt, indem Probenseren mit einem Testosterongehalt von 2,5-3,2 ng/ml mit bekannten Mengen Testosteron versetzt wurden (0,2 und 4 ng/ml). Die Wiederfindungsrate betrug 97,6 %.

## 4. Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde ermittelt und folgende Variationskoeffizienten (Vk) erzielt:

Intra-Assay:5,2 % bis 17 %

Variationskoeffizient Inter-Assay: 9,2 % bis 12,9 %

# 5. Vergleich verschiedener Testbestecke

Tierart	RIA-I in ng/ml	RIA-I in ng/ml	RIA-II in ng/ml	Literatur-
	(1.Messung)	(2.Messung)	(Standard-RIA	angabe
			der Klinik f.	
			Schweinkrank-	
			heiten)	
Kater, >1 Jahr	2,15	2,2	2,5	2,9-3,5 ng/ml
Kater, >1 Jahr	3	2,8	3,2	(KIRKPATRICK,
Kater, >1 Jahr	2,4	2,4	3,0	1985)
Kater, >1 Jahr	3,2	3,0	-	
Kater, kastriert,	0,4	0,35	0,5	
>1 Jahr				
Kater, kastriert,	0,5	0,52	0,5	
>1 Jahr				
Kater, kastriert,	0,48	0,44	unter der	
>1 Jahr			Nachweisgrenze	
Katze, >1 Jahr	unter der	unter der	unter der	
	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	_
Katze, >1 Jahr	unter der	unter der	unter der	
	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	_
Katze, >1 Jahr	unter der	unter der	unter der	
	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze	
Eber	5,5	5,3	5,2	5,2 (2,1-15)ng/ml
Eber	6,7	6,5	6,5	(KARG, 1994)
Eber	5,3	5,5	5,3	

Die Primärdaten der morphometrischen Messungen können dem Anhang der Internetversion dieser Arbeit beziehungsweise der beiliegenden Diskette entnommen werden.

# 9. LITERATURVERZEICHNIS<sup>19</sup>

|--|

The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty

Acta Endocrinol (Kbh) Supp. 49

AIRE, T. A. (1973):

The development of the testis in the dwarf Nigerian ram lamb Res Vet Sci <u>14</u>, 104-106

AOKI, A. (1968):

Hormone-induced differentiation of agranular endoplasmic reticulum in the interstitial cells of mouse testis Protoplasma 66, 263-267

#### ATTAL, J. u. M. COUROT (1963):

Développement testiculaire et établissement de la spermatogenèse chez le taureau Annu Biol Anim Biochem Biophys  $\underline{3}$  (3), 219-241

BAUMANS, K. G. DIJKSTRA u. C. J. G. WENSING (1981): Testicular descent in the dog Zentralbl Veterinärmed [C] <u>10</u>, 97-110

BAUMANS, V (1982):

Regulation of testicular descent in the dog Utrecht, Veterinärmed. Fak., Diss.

BENDA, C. (1887):

Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Hodenkanälchens einiger Säugethiere und Folgerungen für die Spermatogenese der Wirbelthiere Arch Mikroskop Anat <u>30</u>, 49-110

BIDLINGMAIER, F., H. G. DORR, W. EISENMENGER, U. KUHNLE u.
D. KNORR (1983): Testosterone and androstenedione concentration in human testis and epididymis during the first two years of life J Clin Endocrinol Metab 57 (2), 311-315

### BILINSKA, B., M. STOMCZYNSKA u. J. KMICIKIEWICZ (1996): Immunocytochemical demonstration of androgen receptors in Leydig cells of the bank vole. An in vitro study Acta Histochem <u>98</u>, 157-164

<sup>&</sup>lt;sup>19</sup> Abkürzungen der Zeitschriftentitel gemäß "Catalogue of the Journals indexes in medline: full title, abbreviated title ISSN.-Bilthoven: Euroscience, 1997" und "Serial sources for the BIOSIS Previews database, 1994"

BÖCK, P., G. BREITENECKER u. G. LUNGLMAYR (1972):	
Kontraktile Fibroblasten (Myofibroblasten) in der Lamina propria der Hodenkanälche	en
vom Menschen	
Z Zellf <u>133</u> , 519-527	

BÖHME, G. u. C. PIER (1986):Ordnungskriterien für den Zyklus des Epithels der Tubuli seminiferi nach Untersuchungen beim Kater

Berl Münch Tierärztl Wochensch 99, 232-236

BURGOS, M. H. u. D. W. FAWCETT (1955):Studies on the fine structure of mammalian testisI. Differentiation of the spermatids in the catJ Biophys Biochem Cytol <u>1</u> (4), 387-304

BUSTOS-OBREGON, E. u. M. COUROT (1974): Ultrastructure of the lamina propria in the ovine seminiferous tubule Development and some endocrine considerations Cell Tissue Res <u>150</u>, 481-492

 CARDOSO, F. M. u. H. P. GODINHO (1979): Morphological events occuring in the seminiferous tubules of the Brazilian nelore zebu associated with puberty Anat Anz <u>145</u>, 262-267

CHARNY, C. W., A. S. CONTON u. D. R. MERANZE (1952): Testicular developmental histology Ann. NY Acad Sci <u>55</u>, 597-608

CHEEMES, H. E., M. DYM, D. W. FAWCETT, N. JAVADPOUR u. R. J. SHERINS (1977): Patho-physiological observation of Sertoli cells in patients with germinal aplasia or severe germ cell depletion. Utrastructural finding and hormone levels Biol Reprod <u>17</u>, 108-123

CHRISTENSEN, A. K (1975): Leydig Cells
in: HAMILTON, D. W. u. R. O. GREEP: Handbook of Physiology, Sektion 7: Endocrinology, Vol. V. Male reproductive system American Physiological Society, Washington, S. 57-94

CLERMONT, Y. u. C. P. LEBLOND (1955):

Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the "periodic acid-Schiff" technique Am J Anat 96, 229-250 CLERMONT, Y. u. B. PEREY (1957): Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats Am J Anat 100, 241-268 CLERMONT, Y. u. E. BUSTOS-OBREGON (1968): Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto" Am J Anat 122, 237-248 CLERMONT, Y. u. X. M. TANG (1985): Glycoprotein synthesis in the Golgi apparatus of spermatids during spermiogenesis of the rat Anat Rec 213, 33-43 CODESAL, J., J. REGADERA, M. NISTAL, J. REGADERA-REJAS u. R. PANIAGUA (1990): Involution of human fetal Leydig cells. An immunohistochemical, ultrastructural and quantitative study J Anat 172, 103-114 COUROT, M. (1980): ABP: The testicular protein that binds androgens Reprod Nutr Dev 20 (2), 587-591 DATHE, H. H. u. K.-M. SCHEIBE (1994): Biorhythmen der Hormonsekretion in: DÖCKE, F.: Veterinärmedizinische Endokrinologie Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 106-129 DE KRETSER, D. M. u. J. B. KERR (1994): The cytology of the testis in: HASELTLINE, E. P. u. J. K. FINLAY: Physioloy of Reproduction Cambridge Univ. Press, Cambridge, S.143-156 DIERICHS, R. u. K.-H. WROBEL (1973): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den peritubulären Zellen des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung Z Anat Entwicklungsgesch 143, 49-64 DIETRICH, T., W. SCHULZE u. M. RIEMER (1986): Untersuchung zur Gliederung der Keimepithels beim Javaneraffen (Macaca cynomolgus) mittels digitaler Bildverarbeitung Urologie [A] 25, 179-186

DÖCKE, F. (1994): Keimdrüsen in: DÖCKE, F.: Veterinärmedizinische Endokrinologie Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 399-489

DORFMAN, R. J. u. R. A SHIPLEY(1956): Relative activities of androgens in: DORFMAN, R. J. u. R. A. SHIPLEY: Androgens Wiley, New York, S. 116-119

DORST, J. u. H. SAJONSKI (1974a):

Morphometrische Untersuchungen am Tubulussystem des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung Monatsh Veterinärmed <u>29</u>, 650-652

#### DORST, J. u. H. SAJONSKI (1974b):

Zur Quantität der Gewebskomponenten des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung Monatsh Veterinärmed 29, 904-906

### DORST, J., H. TÖNHARDT, H. SAJONSKI u. B. SCHÜLKE (1976):

Untersuchungen zur endokrinen und spermiogenen Hodenfunktion Mitteilung: Zu Beziehungen zwischen dem Plasmatestosterongehalt und morphometrischen Merkmalen des Hodens bei Ebern verschiedenen Alters Arch Exp Vet Med <u>30</u>, 933-939

### DOSTAL, S. (1988):

Histologische, morphologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zur postnatalen Ontogenese der Gonaden des männlichen Rindes München, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztl. Fak., Diss.

#### DYM, M (1976):

The mammalian rete testis-a morphological examination Anat Rec <u>186</u>, 493-524

#### DYM, M (1988):

The male reproductive tissue in: WEISS, L.: Cell and Tissue Biology-a Textbook of Histology Verlag Urban u. Schwarzenberg München Wien Baltimore, S. 929-972

EDDY, E.M. (1984): Origin of the germ cells in: VAN BLERKOM, J. u. P. M. MOTTA: Ultrastructure of reproduction Martinus Nijhoff Publishers, Boston The Hague Dordrecht Lancaster, S. 1-11
<ul> <li>ENGLE, E. T. (1932):</li> <li>The action of extracts of anterior pituitary and of pregnancy urine on the testis of immature rats and monkeys</li> <li>Endocrinology <u>16</u>, 506-512</li> </ul>
ERGÜN, S., M. DAVIDOFF u. A. F. HOLSTEIN (1996): Capillaries in the lamina propria of human seminiferous tubules are partly fenestrated Cell Tissue Res <u>286</u> , 93-102
FLICKINGER, C. J. (1967): The postnatal development of the sertoli cells of the mouse Z Zellf <u>78</u> , 92-113
FLICKINGER, C. u. DON W. FAWCETT (1967): The junctional specialization of Sertoli cells in the seminiferous epithelium Anat Rec <u>158</u> , 207-222
FLORES, J. M., M. GONZALES, B. SANCHEZ u. B. PIZARRO (1989): Estudios histológicos de las células de Leydig en el testículo equino de diferentes edades Histología Médica <u>5</u> , 111-112
FORD, L. (1969): Testicular maturation in dogs Am J Vet Res <u>30</u> , (3), 331-336
FOREMAN, D. (1997): Seminiferous Tubule Stages in the Prairie Dog (Cynomys ludovicianus) during the annual breeding cycle Anat Rec <u>247</u> , 355-367
FOSSLAND, R. G. u. A. B. SCHULTZE (1961): A histological study of the postnatal development of the bovine testis Res Bull <u>199</u> , 3-16
<ul><li>FRANCHI, L. L. u. A. M. MANDL (1964):</li><li>The ultrastructure of germ cells in foetal and neonatal male rats</li><li>J Embryol Exp Morphol Part 2, 289-308</li></ul>

GALTON (1872): On blood relationship Proc Roy Soc 20 zit nach: WALDEYER, W. (1906): Die Geschlechtszellen in: Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 86 GONDOS, B. (1980): in: STEIGENBERGER, A. u. E. STEIGENBERGER: The testicular development, structure and function Raven Press, New York, S. 3-20 GONDOS, B. (1984): Germ cell differentiation and intercellular bridges in: VAN BLERKOM, J. u. P. M. MOTTA: Ultrastructure of reproduction Martinus Nijhoff Publishers, Boston The Hague Dordrecht Lancaster, S. 31-45 GONDOS, B. u. W. E. BERNDTSON (1993): Postnatal and pubertal development in: RUSSEL, L. u. M. D. GRISWALD: The Sertoli cell Cache River Press, Clearwater, S. 115-154 GONDOS, B., R. H. RENSTON u. D. A. GOLDSTEIN (1975): Postnatal differentiation of Leydig cells in the rabbit testis Am J Anat 145, 167-182 GONDOS, B, D. C. PAUL, J. ROSS u. R. A. GORSKI (1973): Utrastructural differentiation of Leydig cells in the fetal and postnatal hamster testis Anat Rec 178, 551-566 GOYAL, H. O. u. L. D. DHINGRA (1973): A study on the postnatal histology of the testis in buffalo I. From birth to one year Acta anat 84, 237-250 GÜNTHER, J. (1994): Vergleichende Untersuchungen zum Problem der Entwicklungsstadien bei Huhn, Maus, Katze, Schaf und Mensch, Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

GURAYA, S. S. (1995):

The comparative cell biology of accessory somatic (or Sertoli) cells in the animal testis Int Rev Cytol <u>160</u>, 164-220

HADZISELIMOVIC,	F. (	(1976):
-----------------	------	---------

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung des Tubulus seminiferus nach der Geburt bis zum vollendeten ersten Lebensjahr Acta Anat <u>95</u>, 287-299

## HADZISELIMOVIC, F. u. H. SEGUCHI (1974):

Ultramikroskopische Untersuchungen an Tubulus seminiferus bei Kindern von der Geburt bis zur Pubertät
II. Entwicklung und Morphologie der Sertolizellen
Verh Anat Ges 68, 149-161

 HARIK,S. I., R. N. KALARIA, L. ANDERSSON, P. LUNDAHL u. G. PERRY (1990): Immunocytochemical localization of the erythroid glucose transporter: Abundance in tissues with barrier functions J Neurosci <u>10</u>, 3862-3872

#### HILDEBRAND, M. (1971):

Ein Beitrag zur histometrischen Untersuchung am Eberhoden- Messungen an den Tubuli contorti und den Leydigschen Zwischenzellen sowie planimetrische Untersuchungen verschiedener Hodengewebskomponenten, Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

HILSCHER, B., W. HILSCHER, B. BÜLTHOFF-OHNOLZ, U. KRÄMER, A. BIRKE, H. PELZER u. G. GAUSS (1974): Kinetics of gametogenesis.
I. Comparative histological and autoradiographic studies of oocytes and transitional prospermatogonia during oogenesis and prespermatogenesis Cell Tissue Res <u>154</u>, 653-656

HINTON, T, B. u. B. P. SETCHELL (1993): Fluid secretion and movement in: RUSSEL, L. u. M. D. GRISWALD: The Sertoli cell Cache River Press, Clearwater, S. 249-268

HOLASH, J. A., S. I. HARIK, G. PRERRY u. P. A. STEWART (1993): Barrier properties of testis microvessels Proc Natl Acad Sci USA <u>90</u>, 11069-11073

HOLSTEIN, A. F. u. C. ECKMANN (1986): Multinucleated spermatocytes and spermatids in human seminiferous tubules Andrologia <u>18</u>, 5-16

HOVATTA, O. (1972):

Effects of androgens and antiandrogens on the development of the myoid cells of the rat seminiferous tubules (Organ culture) Z Zellf <u>131</u>, 299-308

ICHIHARA, I., H. KAWAMURA u. L. I. PELLINIEMI (1993): Ultrastructure and morphometry of testicular Leydig cells and the interstitial components correlated with testosterone in aging cats Cell Tissue Res <u>271</u> , 241-255
<ul> <li>KARG, H. u. O. KRONTHALER (1960):</li> <li>Hormonanalytische Kontrolle von Fortpflanzungsfunktionen</li> <li>in: DÖCKE, F.:</li> <li>Veterinärmedizinische Endokrinologie</li> <li>Gustav Fischer Verlag, Jena, S. 766-783</li> </ul>
<ul> <li>KAYE, J. S (1984):</li> <li>in: VAN BLERKOM, J. u. P. M. MOTTA:</li> <li>Ultrastructure of reproduction</li> <li>Martinus Nijhoff Publishers, Boston The Hague Dordrecht Lancaster, S. 86-96</li> </ul>
<ul> <li>KIRKPATRICK, J. F. (1985):</li> <li>Seasonal testosterone levels, testosterone clearance and testicular weights in male domestic cats.</li> <li>Can J Zool <u>63</u>, 1285-1287</li> </ul>
KÖNIG, H. E. (1992): Männlich Geschlechtsorgane in: KÖNIG, H. E.: Anatomie der Katze, Gustav Fischer Verlag, Jena, S.: 92-95
<ul> <li>KORMANO, M. u. O. HOVATTA (1972):</li> <li>Contractility and histochemistry of myoid cell layer of the rat seminiferous tubules during postnatal development Z Anat Entwicklungsgesch <u>137</u>, 239-248</li> </ul>
<ul> <li>KRÖLLING, O. (1960):</li> <li>VII. Männliche Geschlechtsorgane</li> <li>in: KRÖLLING, O. u. H. GRAU:</li> <li>Lehrbuch der Histoligie und vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere</li> <li>Paul Parey Verlag, Berlin Hamburg, 10. Auflage, S 315-324</li> </ul>
<ul> <li>KUHN-VELTEN, N., D. BOS, R. SHERMER u. W. STAIB (1987):</li> <li>Age-dependence of the rat Leydig cell and Sertoli cell function. Development of the peripheral testosterone level and its relationship to mitochondrial and microsomal cytochromes P-450 and to androgen-binding protein.</li> <li>Acta Endocrinol <u>115</u> (2), 275-281</li> </ul>

KYRLE, J. (1915): Über Hodenentwicklung im Kindesalter Beitr Pathol Anat <u>60</u>, 359-382

LARIOS-MERCHANT, H. (1984): Germ and somatic cell interaction during gonadal morphogenesis in: VAN BLERKOM, J. u. P. M. MOTTA: Ultrastructure of Reproduction Martinus Nijhoff Publishers, Boston The Hague Dordrecht Lancaster, S. 19-30
LEBLOND, C. P. u. Y. CLERMONT (1952): Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as reveals by "periodic acid- Fuchsin sulfurous acid" Am J Anat <u>90</u> , 167-215
LEESON, C. R. u. T. S. LEESON (1963): The postnatal development and differentiation of boudary tissue of seminiferous tubule of the rat Anat Rec <u>147</u> , 243-260
LÜDTKE, UR. (1987): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie des Interstitiums im Hoden der Katze, Gießen, Justus-Liebig-Universität, Veterinärmed. Fak., Diss.
MANCINI, R. E., R. NARBAITZ u. J. C. LAVIERI (1960): Origin and development of the germinative epithelium and Sertoli cells in the human testis: cytological, cytochemical and quantitative study Anat Rec <u>136</u> , 477-490
MASUI, K (1919): The Spermatogenesis of domestic animals. II. Spermatogenesis of cattle (Bos Taurus) J Colo Agric <u>3</u> , 377
McCANN, S. M., S. TALEISNIK u. H. M. FRIEDMANN (1960): LH-releasing activity in hypothalamic extracts Proc Soc Exp Biol Med <u>104</u> , 432-434
McFEE, A. F. u. J. R. EBLEN (1967): Testicular development in miniature swine J Anim Sci <u>26</u> , 772-776
MEANS, A. R., J. L. FAKUNDING, C. HUCKINGS, D. J. TINDALL u. R. VITALE (1976) Follicle stimulating hormone, the Sertoli cell and spermatogenesis Recent Prog Horm Res <u>32</u> , 477-522
<ul> <li>MICHEL, G. (1986):</li> <li>Die Entwicklung des Geschlechtsapparates</li> <li>in: MICHEL, G. (1986):</li> <li>Kompendium der Embryologie der Haustiere,</li> <li>Gustav Fischer Verlag, Jena, 4. Aufl.,S. 243-257</li> </ul>

MIETHING, A	A. (1989):
-------------	------------

Morphological studies on prespermatogonia and pre-Sertoli cells in the testes of 6- to 11-day-old golden hamsters Anat Embryol 179, 503-510

NAZIAN, S. J. (1986):

Concentration of free testosterone, total testosterone, and androgen binding protein in the perepheral serum of male rats during sexual maturation J Androl  $\frac{7}{2}$  (1), 49-54

NICANDER, L., M. ABDEL-RAOUF u. B. CRABO (1961): The ultrastructure of seminiferous tubules in bull calves Acta Morph Neerlando-Scand 4, 127-135

NIEMI, M., M. IKONEN u. A. HERVONEN (1967): Histochemistry and fine structure of the interstitial tissue in the human foetal testis Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology

- NISTAL, M., R. PANIAGUA, J. REGADERA, L. SANTAMARINA u. P. AMAT (1986): A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood Cell Tissue Res <u>246</u>, 229-236
- NISTAL, M., u. R. PANIAGUA (1983): The postnatal development of the human Sertoli cells Z Mikrosk Anat Forsch <u>97</u>, 739-752
- Nomina Anatomica Veterinaria (1994): International Comitte on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature Gent, 4<sup>th</sup> Ed.

Nomina Histologica (1994):

International Comitte on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature Gent, 4<sup>th</sup> Ed.

NUSSBAUM, M. (1914):

Zur Frage von der Entstehung und Bedeutung der Geschlechtszellen Anat Anz <u>47</u>, 465-471

PEREY, B., Y. CLERMONT u. C. P. LEBLOND (1961): The wave of the seminiferous epithelium in the rat Am J Anat <u>108</u>, 47-77

PIER, C. (1985):

Der Samenepithelzyklus des Katers, Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

PLÖEN, L. u. M. RITZEN (1984): Fine structural features of Sertoli cells	
in: VAN BLERKOM, J. u. P. M. MOTTA:	
Ultrastructure of Reproduction Martinus Nijhoff Publishers, Boston The Hague Dordrecht Lancaster, S. 67-74	
PREM, J. (1992):	
Nebenhoden der Katze (Felis silvestris familiaris) München, Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztl. Fak., Diss.	
PRINCE, F. P. (1984): Ultrastructure of immature Leydig cells in the human prepubertal testis Anat Rec <u>209</u> , 165-176	
ROMEIS, B. (1989): Mikroskopische Technik Verlag Urban u. Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 17. Aufl.	
ROOSEN-RUNGE, E. C. (1951): Motions of seminiferous tubules of the rat and dog Anat Rec Suppl <u>153</u> (109), 413	
DE ROSAS, J. C. u. J. RUSSO (1971): Pre- and post-natal differentiation of the Hamster Leydig cell Z Anat Entwicklungsgesch <u>134</u> , 235-242	
ROSS, M. H. (1967): The fine structure and development of the peritubular contractile cell component in th seminiferous tubules of the mouse Am J Anat <u>121</u> , 523-558	e
RUBASCHKIN, W. (1909): Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren Anat H <u>119</u> , (39, H. 3), 603-652	
RÜSSE, I. (1991): Harn- und Geschlechtsorgane in: RÜSSE, I. u. F. SINOWATZ: Lehrbuch der Embryologie der Haustiere Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, S 313-322	
RÜSSE, I. u. F. SINOWATZ (1991): Gametogenese in: RÜSSE, I. u. F. SINOWATZ: Lehrbuch der Embryologie der Haustiere Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, S 42-92	

- RUSSEL, L. D., H. P. REN, I. S. HIKIM, W. SCHULZE u. A. P. S. HIKIM (1990): A comparative study in twelve mammalian species of volume densisties, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell Am J Anat <u>188</u>, 21-30
- SANCHEZ, B., M. PIZARRO, P. GARCIA u. J. M. FLORES (1993a): Development of seminiferous tubules in the cat J Reprod Fertil Suppl <u>47</u>, 343-348
- SANCHEZ, B., M. PIZARRO, P. GARCIA u. J. M. FLORES (1993b): Study of Leydig cells in the cat from birth to sexual maturity J Reprod Fertil Suppl <u>47</u>, 249-353

SANTAMARINA, E u. R. P. REECE (1957): Normal development of germinal epithelium and seminiferous tubules in the bull Am J Vet Res <u>18</u>, 261-278

SAPSFORD, C. S. (1962):

Changes in the cells of the sex cords and seminiferous tubules during the development of the testis of the rat and mouse Aust J Zool <u>10</u>, 178-192

SAUNDERS, P. T. K., M. R. MILLAR,, G. MAJDIC, W. J. BREMNER, T. T. McLAREN, K. M. GRIGOR u. R. M. SHARPE (1996): Testicular androgen receptor protein: Distribution and control of expression in: DESJARDINS, C.: Cellular and molecular regulation of testicular cells Serono Symposia USA Norwell, Massachusetts Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg, S 213-229

SCHEBITZ, H. (1985):

Hoden in: SCHEBITZ, H. u. W. BRASS: Operation an Hund und Katze Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, S. 170-171

SCHULZE, C. (1984): Sertoli cells and Leydig cells in man Adv Anat Embryol Cell Biol <u>88</u>, 1-104

SCHUMMER, A. u. B. VOLLMERHAUS (1987): Geschlechtsorgane in: NICKEL, R., A. SCHUMMER u. E. SEIFERLE : Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. II Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, 5. Aufl. 1987, S. 328-334

- SCOTT, M. G. u. P. P. SCOTT (1957): Post-natal development of the testis and epididymis in the cat J Physiol <u>136</u>, 40-41
- SETCHELL, B. P., S. MADDOCKS, D. E. BROOK (1994): Anatomy vasculature and fluids of male reproductive tract in: KNOBIL, E. u. J. D. NEIL: Physiology of Reproduction, Vol 1 Plenum, New York, 2. Aufl., S. 1063-1176
- SICKELS, K. I. u. E. HEATH (1986): Disposition of the manchette and related events in the feline spermatid Anat Rec <u>216</u>, 367-372
- SINOWATZ, F. u. W. AMSELGRUBER (1986): Postnatal development of bovine Sertoli cells Anat Embryol <u>174</u>, 413-423
- SINOWATZ, F., K.-H. WROBEL u. E. SCHILLING (1983): Morphologische Aspekte der postnatalen Hodendifferenzierung Wien Tierärtzl Monatsschr. <u>70</u> (6/7), 194-197
- SINOWATZ, F., K.-H. WROBEL u. A. E. FRIESS (1985): Zur Histochemie und Zytochemie des Nebenhodens von Säugetieren Acta Anat Suppl XXXI, 151-158

SOLARI, A. J. u. I. B. FRITZ (1978):

The ultrastructure of immature Sertoli cells. Maturation-like changes during culture and the maintenance of mitotic potentiality. Biol Reprod <u>18</u>, 329-345

#### SPANGARO, S. (1902):

Über die histologischen Veränderungen des Hodens, Nebenhodens und Samenleiters von Geburt an bis zum Greisenalter, mit besonderer Berücksichtigung der Hodenatrophie des elastischen Gewebes und des Vorkommens von Krystallen im Hoden

Anat H <u>18</u> (3), 593-771

STAGEL, G. (1987):

Definition und relative Frequenzen der Spermatogenesestadien bei Haussäugetieren, unter Berücksichtigung der Verhältnisse beim Menschen, Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.

#### STARK, D. (1955):

Keimzellen und Keimzellbildung, Befruchtung, Chromosomentheorie der Vererbung, Geschlechtbestimmung, Sexualität in:STARK, D.: Embryologie, Ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, S. 1-80

### STEGER, K. u. K.-H. WROBEL (1996):

Postantal development of ovine seminiferou tubules: an electron and morphometric study

Ann Anat 178, 201-213

#### STIEVE, H. (1930):

Männliche Genitalorgane in: MOELLENDORF, W: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd VII/2 Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, S. 4-155

# SUAREZ-QUIAN, C. A., B. O. OKE, W. VORNBERGER, G. PRINS, S. XIAO u. N. A.

MUSTO (1996): Androgen receptor distribution in the testis in: DESJARDINS, C.: Cellular and molecular regulation of testicular cells Serono Symposia USA Norwell, Massachusetts Springer-Verlag New York Berlin Heidelberg, S 213-229

# TAKATA, K., T. KASAHARA, M. KARAHARA, O EZAKI u. H. HIRANO (1990): Erythrocyte/HepG2-type glucose transporter is concentrated in cells of blood-tissue barriers Biochem Biophys Pes Commun 173, 67, 73

Biochem Biophys Res Commun 173, 67-73

### TIBA, T. (1965):

Methodologisch orientierte quantitative Untersuchung der Spermatogenese beim Bullen Jpn J Vet Res Suppl 2 (13), 1-127

#### TONUTTI, E., O. WELLER, H. E. SCHUCHARDT u. E. HENKE (1960): Die männliche Keimdrüse. Struktur, Funktion, Klinik: Grundzüge der Andrologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

### VILAR (1970):

Histoloy of human testis from neonatal period to adolescence in: ROSENBERG, E. u. C. A. PAULSEN: The human testis Plenum, New York, S. 95-101

- VIOTTO, M. J. S., A. M. ORSI, S. MELLO DIAS u. H. K. NEWMANN (1991): Struktur des Hodennetzes der Katze Anat Anz 172, 341-349
- VITALE, R., DON W. FAWCETT u. M. DYM (1973): The normal development of the blood-testis-barrier and the effect of Clomiphene and estrogen treatment Anat Rec <u>176</u>, 333-344
- VOGL, A. W., D. C. PFEIFFER, D. M. REDENBACH (1991): Sertoli cell cytosceleton. Influence on spermatogenic cells. Proc Serono Symp, 704-715
- VOLLMERHAUS, B., F. SINOWATZ u. W. AMSELGRUBER (1994): Geschlechtsapparat in: FREWEIN, J u. B. VOLLMERHAUS: Anatomie von Hund und Katze Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin, S. 202-242
- VAN WAGENEN, G. u. M. E. SIMPSON (1954): Testicular development of the rhesus monkey Anat Rec <u>118</u>, 231-243
- VAN WAGENEN, G. u. M. E. SIMPSON (1965): Embryology of the ovary and the testis Homo sapiens and Macaca mulatta Yale University Press, New Haven London
- WARTENBERG, H. (1978):
   Human testicular development and the role of mesonephros in the origin of dual SERTOLI cell system
   Andrologia <u>10</u>, 1-130
- WARTENBERG, H. (1981): Differentiation and development of the testes in: BURGER, H u. D. DE KRETSER: The testis Raven Press, New York, S. 39-80
- WEISMANN (1885):
  - Die Kontinuität des Keimplasmas als Grundlage für eine Theorie der Vererbung Gustav Fischer Verlag, Jena
- WENSING, C. J. G (1968):
  - Testicular descent in some domestic animals. I. Anatomical aspects of testicular descent.
  - Proc Kon Acad Wetensch [C] 71, 423-434

WISLOCKI, G. B. (1933):

Observation on the descent of the testis in the macaque and the chimpaneeze Anat Rec 57, 133-148

-134-

WITSCHI, E. (1948):

Migration of the germ cells of human embryos from yolc sac to the primitive gonadal fold

Contrib Embryol 32

WROBEL K. H. u. H. HEES (1987):

Über heterotope Leydigzelle bei der Katze Anat Histol Embryol <u>16</u>, 289-292

WROBEL K. H. u. M. SCHIMMEL (1989):

Morphologoy of bovine Sertoli cells during the spermatogenic cycle Cell Tissue Res <u>257</u>, 93-103

ZEROBIN, K. u. R. THUN (1983):

Testosteron beim wachsenden Stierkalb Wien Tierärztl Monatssch. <u>70</u> Bd 6/7, 198-202

ZGOLL, M. (1996):

Adspektorische und palpatorische Befunde sowie Sektionsergebnisse zum Descensus testis beim Kater Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.

ZHOU, H., A. KUDO, H. KAWAKAMI u. H. HIRANO (1996):

Immunohistochemical localization of androgen receptors in mouse testicular germ cells during fetal and postnatal development Anat Rec 245, 509-518

### **Danksagung**

Meinem Doktorvater und Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Böhme gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die jederzeit freundlich gewährte Unterstützung.

Frau Ch. Rückauer danke ich für die Einarbeitung in die Grundlagen der histologischen Techniken und die Hilfe bei meinen lichtmikroskopischen Arbeiten.

Frau G. Schröer und Frau Ch. Spielmann möchte ich für die Durchführung der

elektronenmikroskopischen Arbeiten und das Anfertigen der Fotos danken.

Des weiteren danke ich Frau S. Gamalski für die Durchführung des Radioimmunassays im Isotopenlabbor der Klinik für Klauentiere.

Besonders zu Dank verpflichtet bin ich meinem Kollegen, Herrn Dr. S. Reese, der mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand und mich besonders bei den morphometrischen Arbeiten sowie bei der Gestaltung und Formulierung der Arbeit unterstützt hat.

Herrn Dr. habil W. Köpp und Herrn Dr. B. Tittel danke ich für die motivierende Unterstützung und die Beratung in statistischen Fragen.

Für die Korrekturarbeiten danke ich außerdem Herrn Dr. Ch. Mülling.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinen Eltern und allen Freunden, die direkt oder indirekt zu dieser Arbeit beigetragen haben.

# <u>Lebenslauf</u>

Name:	Gesine Krefft
Geburtsdatum:	07.12.1966
Geburtsort:	Hamburg
Eltern:	Friedrich und Gisela Krefft, geb. Heberlein
Familienstand:	ledig

# Schulischer Werdegang:

1972-1977:	Besuch der Grundschule Ballerstaedtsweg in Hamburg
1977-1986:	Besuch des Gymnasiums Hartzloh in Hamburg
11.06.1986:	Abitur

# Beruflicher Werdegang:

WS 86/87 – WS 91/92:	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität
	Berlin
09.04.1992:	Approbation als Tierärztin
seit Mai 1992	Doktorandin am Institut für Veterinär-Anatomie der Freien
	Universität Berlin
SS 92-WS 93/94:	Lehrbeauftragte am Institut für Veterinär-Anatomie der Freien
	Universität Berlin
Juli 1993-Dez. 1993:	NaföG-Stipendiatin
Seit 1994:	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Veterinär-
	Anatomie der Freien Universität Berlin

Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Promotionsstipendium nach dem Gesetz zur Förderung des künstlerischen und wissenschaftlichen Nachwuchses (NaföG) des Landes Berlin gefördert.