

Autoradiographische Untersuchungen über das Proliferationsverhalten der menschlichen Placenta unter normalen und pathologischen Bedingungen*

F. J. Kaltenbach, O. Fettig und M. L. Krieger

Universitäts-Frauenklinik Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-G. Hillemanns)

Eingegangen am 21. September 1973

Radioautographic Observations on DNA-Synthesis in the Human Placenta under Normal and Pathologic Conditions

Summary. It is reported about a radioautographic study of human placenta tissue from normal and abnormal pregnancies. The material was obtained from pregnancies from 10 to 43 weeks gestation. Specimens of placenta tissue from 39 normal and 31 pathological pregnancies (diabetes mellitus, toxemia, erythroblastosis and hydatiform mole) were incubated with tritiated thymidine.

Based on determination of ^3H -thymidine labelling indices marked variation in DNA-synthesis was noted in trophoblast and stroma cells of placenta villi under normal conditions. A significant correlation to duration of pregnancy was observed.

DNA-synthesis pattern was different in placenta villi of pathological cases, compared with placenta tissue from normal pregnancies.

The possible relation of these results to morphological findings is discussed.

Zusammenfassung. Es wird über autoradiographische Untersuchung zum Aufschluß des Proliferationsverhaltens der Placenta unter normalen und pathologischen Bedingungen berichtet. Gewebeproben von 39 Placenten normaler und 31 pathologischer Schwangerschaften (Diabetes mellitus, Erythroblastose, EPH-Gestose und Blasenmole) der 10.—43. Schwangerschaftswoche wurden in ^3H -Thymidin inkubiert.

Unter normalen Bedingungen wurden statistisch signifikante Unterschiede in der Intensität der DNS-Synthese sowohl in Abhängigkeit von der Lokalisation (Trophoblast, Stroma) als auch vom Alter der Schwangerschaft gefunden. Das Placentagewebe von pathologischen, verglichen mit dem von normalen Schwangerschaften, ließ unterschiedliche Stärke der DNS-Synthese erkennen. Der mögliche Zusammenhang der Untersuchungsergebnisse zu entsprechenden morphologischen Befunden wird diskutiert.

* Auszugsweise vorgetragen auf der 39. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie vom 19.—23. September 1972 in Wiesbaden.

Einleitung

Zur Untersuchung des Zellwachstums der menschlichen Placenta wurde neben biochemischen Verfahren [15, 32, 39] auch die autoradiographische Inkubationsmethode angewandt [14, 19, 20, 30, 34]. Diese Untersuchungen wurden an Placentagewebe der frühen und späten Schwangerschaft durchgeführt, lassen jedoch eine differenzierte Analyse der Einzelabschnitte der Placenta vermissen.

Die bisherigen *in vivo*-Arbeiten sind ausschließlich Tierversuche gewesen. Neben Untersuchungen zur Klärung der Frage der Abstammung des Trophoblasten [25] wurden solche durchgeführt, die den Nachweis der DNS-Synthese während der Gestation bei der Ratte und bei der Maus führten [3, 18, 37].

Der Zweck unserer Untersuchungen war, Aufschluß über das Proliferationsverhalten der Einzelabschnitte der menschlichen Placentazotte in Beziehung zum Schwangerschaftsalter unter normalen und pathologischen Bedingungen zu bekommen.

Wir benutzten hierzu die autoradiographische Inkubationsmethode [9, 26], da frühere Untersuchungen an anderen Geweben gezeigt haben, daß die *in vitro*-Inkubation von malignen und benignen Geweben mit Tritium markierten Thymidin Aufschluß über die DNS-Synthese von Geweben unter *in vivo*-Bedingungen gibt [9, 10, 28, 31].

Material und Methode

Es wurde Placenta-Biopsiematerial von insgesamt 85 Patientinnen untersucht. Davon konnten 70 Placenten autoradiographisch ausgewertet werden. 39 Placenten stammten von unkomplizierten Schwangerschaften unterschiedlichen Schwangerschaftsalters (10.—43. Schwangerschaftswoche). Das Placentamaterial von frühen Graviditäten wurde bei medizinisch indiziertem Schwangerschaftsabbruch gewonnen. Bei älteren Schwangerschaften wurde sofort nach Expression der Placenta oder nach Placentaentwicklung bei Sectio caesarea Gewebe von der maternalen Placentaseite entnommen.

Von pathologisch verlaufenden Schwangerschaften standen insgesamt 31 Placenten von Frauen mit schwerer Gestose, Diabetes mellitus, Rh-Inkompatibilität und Molenschwangerschaft für unsere Untersuchungen zur Verfügung.

Das entnommene Gewebe wurde zu kleinen, 3 × 3 mm großen Gewebstückchen zugeschnitten und sofort in 5 ml Ringer-Lösung von 37°C gebracht, die Tritiummarkiertes Thymidin mit einer Aktivitätskonzentration von 2 µC/ml enthielt. Zur Verbesserung der Eindringtiefe der radioaktiven Substanz in das Placentagewebe wurde der jeweiligen Inkubationslösung Hyaluronidase hinzugegeben (50 i.E. Hyaluronidase/ml Inkubationslösung) [9, 10].

Die Inkubation wurde im Schüttelinkubator bei einer mittleren Schüttelintensität und bei konstanter Temperatur von 37°C durchgeführt. Durch den Hyaluronidase-Zusatz und durch den Schüttelvorgang wurde der Kontakt der Gewebsoberfläche mit dem Inkubationsmedium verbessert und die Eindringtiefe von 100 µ [17] auf 400—530 µ [9] erhöht. Die Inkubationsdauer betrug 1/2 Std. Nach Beendigung der Inkubation wurde das Gewebe nach mehrmaligem Waschen in 5%igem, neutral gepuffertem Formalin für 24 Std in der gleichen Lösung fixiert. Anschließend wur-

den die Gewebstücke in Paraffin gebettet und in Serienschritte aufgearbeitet. Die Schnittdicke betrug 5μ .

Als autoradiographische Technik wurde die von Bélanger und Leblond [6] angegebene Methode mit flüssigen Emulsionen (Dipping-Methode) angewandt. Zur Herstellung der Autoradiogramme benutzten wir die flüssige K5-Emulsion (Illford) [9].

Nach 27tägiger Expositionszeit wurden die Präparate photographisch entwickelt und fixiert. Die Färbung der Präparate erfolgte mit Hämatoxylin und Eosin nach Ehrlich durch die Photoemulsion hindurch. Zur Feststellung der Proliferationsaktivität der Einzelabschnitte der Placenta erfolgte die Auszählung der Gewebstücke nach der Zahl der ^3H -Thymidinmarkierten Zellen. Pro Gewebe wurden 5×100 Zellen ausgezählt. Trophoblast- und Stromazellen wurden hierbei getrennt ausgewertet. Die Gesamtzahl der ausgezählten Zellen betrug 70000.

Die Berechnung des ^3H -Index erfolgte entsprechend folgender Formel:

$$^3\text{H-Index-}\% = \frac{\text{Zahl markierter Zellen} \times 100}{\text{Gesamtzellzahl}}.$$

Ergebnisse

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

I. Das Proliferationsverhalten von Placentagewebe unter normalen Bedingungen

In analog vorausgegangenen autoradiographischen Untersuchungen (s. Einleitung) ließen sich als ^3H -Thymidin-aufnehmende Zellen die Cytotrophoblast- und Mesenchymzellen des Zottenstroma sowie die Gefäßendothelien der Zottencapillaren identifizieren.

Wir fanden markierte Zellen in den Placentazotten jeder Schwangerschaftswoche. Eine Markierung des Syncytiotrophoblasten konnten wir nicht beobachten (Abb. 1 und 2).

Es bestand kein Unterschied der Proliferationsintensität bei Placenten, die mittels Sectio caesarea oder nach Spontangeburt gewonnen wurden (Tabelle 1).

Unter normalen Bedingungen ist die Stärke des Einbaues von radioaktiv markiertem Thymidin in Trophoblast- und Stromazellen abhängig vom Alter der Schwangerschaft (Abb. 3). Im Trophoblasten beobachtet man zu Beginn der Schwangerschaft bis zur 15. Woche die stärkste Proliferationsaktivität. Im Stroma dagegen trifft man zu Beginn der Schwangerschaft eine geringere DNS-Synthesetätigkeit an. Die Stärke der DNS-Synthese ist bis zur 15. Woche analog der Proliferationsaktivität des Trophoblasten hoch mit anschließendem Nachlassen der Aktivität. Gegen Ende der Schwangerschaft zeigt sich eine nur noch geringe Proliferationsaktivität in Trophoblast- und Stromazellen (Tabelle 1 und Abb. 3).

Tabelle 1. ^3H -Indices von 70 Placenten bei normalen

Alter der Schwangerschaft in Wochen	Normale Placenta		Molenschwangerschaft	
	^3H -Index in %		^3H -Index in %	
	Trophoblast	Stroma	Trophoblast	Stroma
bis 12. Woche	15,9	0,313	24,73	15,26
13.—28. Woche	17,8	7,4	33,5	
	14,37	5,02	8,8	
	9,35	1,62	12,3	5,72
	4,87	5,37	34,45	6,65
	7,57	3,43	33,0	0,0
29.—38. Woche	4,94 ^a	0,65 ^a		
	3,25	0,0		
	3,67 ^a	0,54 ^a		
	3,66	3,63		
	2,90	2,74		
39.—40. Woche	3,73	4,05		
	3,11	1,27		
	2,79	2,34		
	8,45	4,49		
	4,48 ^a	0,99 ^a		
	4,46	0,0		
	3,57	0,66		
	2,70	1,55		
	2,44	0,91		
	2,25	3,94		
41. Woche	8,01	3,31	4,21	2,66
	7,25	2,81	4,98	3,40
	5,86	2,73	5,81	1,72
	5,60	2,61	1,34	3,71
	5,42		3,41	
	5,34		1,85	
	4,94		3,22	
	4,66		1,6	
	4,61		1,72	
	3,95		4,03	
3,41		0,92		
42. Woche	3,95	0,49		
	2,16	2,10		
	0,36	0,74		
43. Woche	—	—	—	—
Fallzahl: 70	39		6	

^a = Sektio.

und pathologischen Schwangerschaften

Diabetes		Gestose		Rh-Inkompatibilität	
³ H-Index in %		³ H-Index in %		³ H-Index in %	
Tropho- blast	Stroma	Tropho- blast	Stroma	Tropho- blast	Stroma
3,49 ^a	0,83	3,76	3,09	2,67	0,64
2,17	1,91	3,49	0,83		
3,00	1,62	2,17	1,91		
3,05	4,05	1,58	3,49		
		3,68	0,29		
		2,44	1,21		
		5,61	0,93	3,58	4,96
		4,64	1,61	6,91	0,52
		1,86	0,49		
3,16	2,06	6,36	0,85	4,54 ^a	0,0
		3,81	1,27	4,53	3,26
		2,95	2,81	4,21	4,34
		3,84	1,31		
—	—	3,84	0,59		
	5		14		6

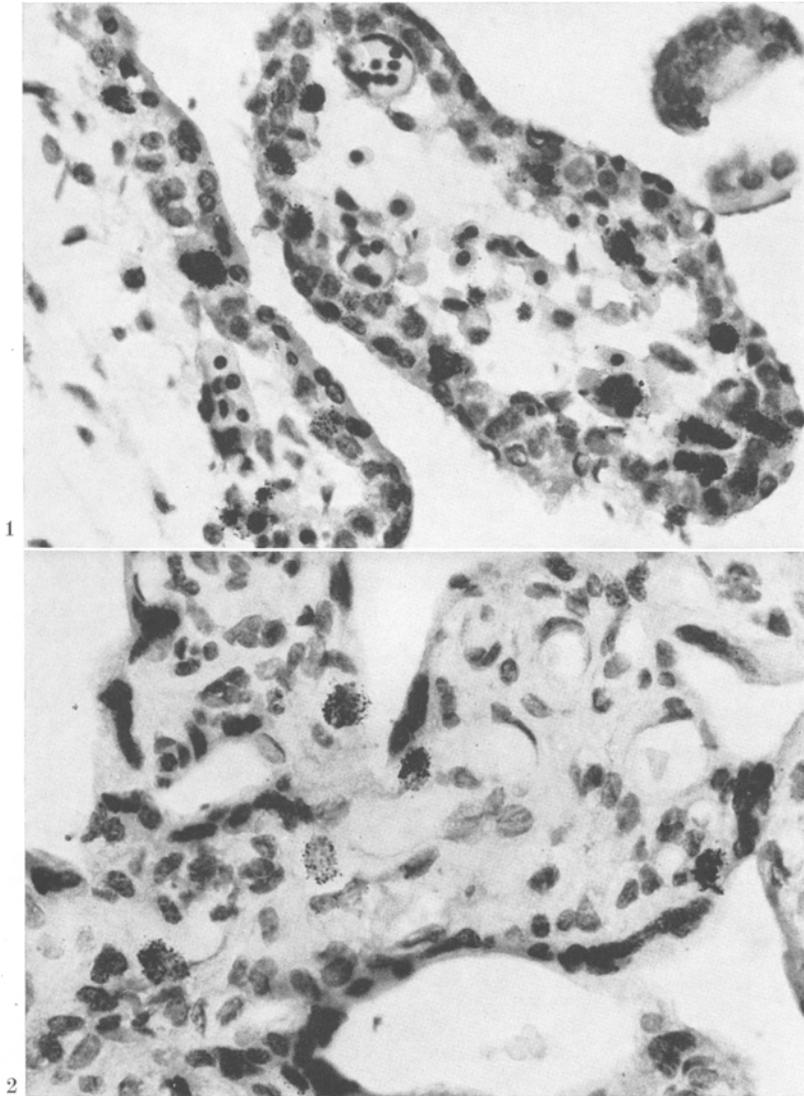


Abb. 1. Placenta, 10. Schwangerschaftswoche. Dichte Markierung des Cytotrophoblasten; die Trophoblastschicht ist zweischichtig angelegt. Der Syncytiotrophoblast ist nicht markiert. Fehlende bzw. geringe Markierung des Zottenstroma.

^3H -Index: Trophoblast: 15,9%, Stroma: 0,3%. 140/70, 144 \times

Abb. 2. Placenta, 41. Schwangerschaftswoche. Spontangeburt. Markierung des Cytotrophoblasten, der noch in der 41. Schwangerschaftswoche eindeutig vorhanden ist. Markierung des Stroma. ^3H -Index: Trophoblast: 5,86%, Stroma: 5,81%. 695/69,

144 \times

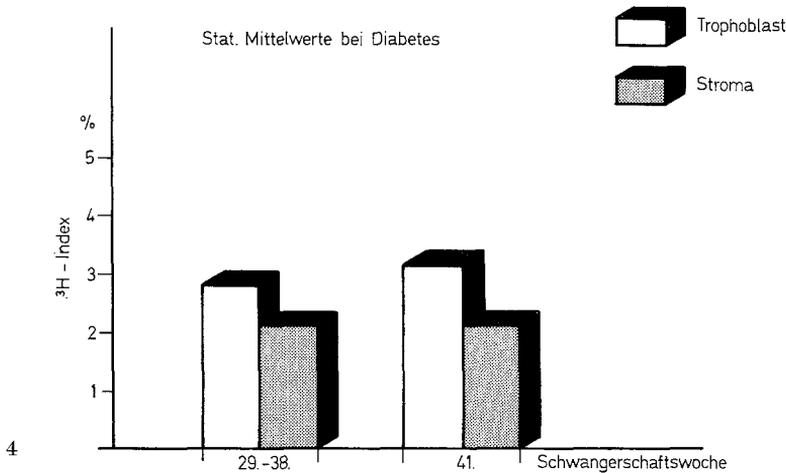
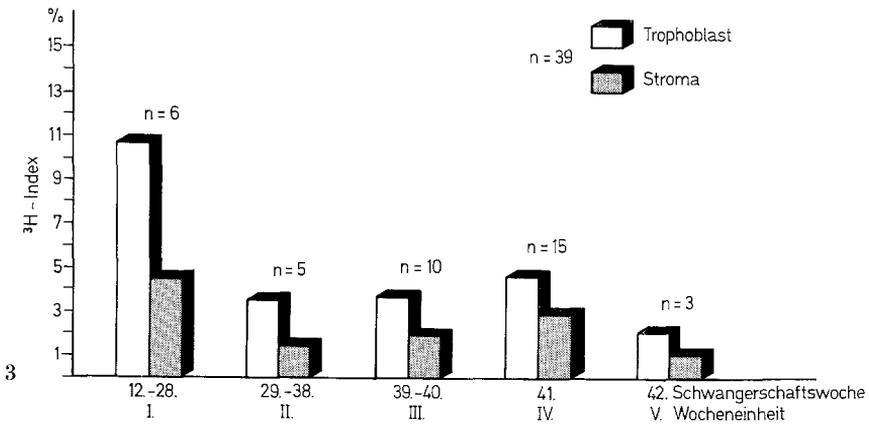


Abb. 3. Das Proliferationsverhalten von Trophoblast und Stroma, ausgedrückt durch den mittleren ^3H -Index bei normaler Schwangerschaft in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter

Abb. 4. ^3H -Indices von Placenten bei Diabetes mellitus

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse für das Proliferationsverhalten der Placenten unter normalen Verhältnissen führten wir nach Berechnung der Mittelwerte und der Mittelwertabweichungen den *t*-Test durch.

Die gefundenen unterschiedlichen Indices zwischen Stroma und Trophoblastmarkierung zeigten statistische Signifikanz ($p < 0,05$) für alle Wocheneinheiten bis zur 41. Schwangerschaftswoche (Abb. 3 und

Tabelle 2. Mittlere ^3H -Indices und Mittelwertabweichungen für Trophoblast und Stroma. Einteilung der Schwangerschaftswochen in Wocheneinheiten (I—V)

Wochen- einheit	Schwanger- schafts- woche	Mittlerer ^3H -Index und Mittelwertsabweichung Trophoblast	Mittlerer ^3H -Index und Mittelwertsabweichung Stroma
I	12.—28.	10,752 $\pm 2,3698$	4,5680 $\pm 0,9704$
II	29.—38.	3,6840 $\pm 0,3451$	1,5120 $\pm 0,7059$
III	39.—40.	3,7980 $\pm 0,5728$	2,0200 $\pm 0,5057$
IV	41.	4,7006 $\pm 0,4174$	2,9720 $\pm 0,3713$
V	42.	2,1566 $\pm 1,0364$	1,1100 $\pm 0,5001$

Tabelle 2). In der 42. Schwangerschaftswoche war ein eindeutiger Trend zu einer unterschiedlichen Markierungsrate festzustellen ($p < 0,25 > 0,20$). Ein hochsignifikanter Unterschied wurde für die Stärke der DNS-Synthese des Trophoblasten zwischen der 1. und 2. Wocheneinheit ($p < 0,01$) berechnet. Der Vergleich der übrigen Wocheneinheiten (2.—5. Wocheneinheit) brachte keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3). Für die 5. Wocheneinheit (42. Schwangerschaftswoche) fand sich keine statistische Signifikanz. Ein Trend zu einem erneuten Indexabfall war jedoch erkennbar.

Die statistische Prüfung der Ergebnisse der Proliferationsaktivität des Stroma ergab beim Vergleich von 1. und 2. Wocheneinheit $p < 0,25 > 0,125$, was einen Trend zu unterschiedlicher Markierung bedeutet. Analog den Ergebnissen der Signifikanzprüfung für den Trophoblasten wurden beim Vergleich der 2.—5. Wocheneinheit im Stroma keine signifikanten Unterschiede in der Stärke der DNS-Synthese festgestellt. Ein hochsignifikanter Abfall wurde jedoch für die 42. Schwangerschaftswoche berechnet ($p < 0,01$).

II. Das Proliferationsverhalten der Placenta unter pathologischen Bedingungen

Auch unter pathologischen Bedingungen findet eine deutliche Markierung von Trophoblast- und Stromazellen statt (Tabelle 1).

A. Das Proliferationsverhalten von Placenten beim mütterlichen Diabetes mellitus

Die untersuchten Diabetes-Placenten entstammen der 36., 37., 38. und 41. Schwangerschaftswoche (Tabelle 1). In Abb. 4 sind die ^3H -In-

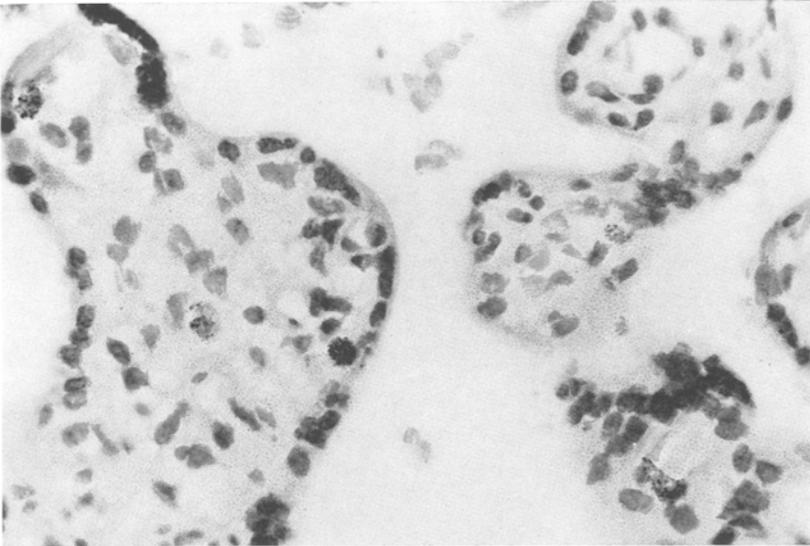


Abb. 5. Placenta bei Diabetes mellitus. 37. Schwangerschaftswoche. Markierung von Cytotrophoblasten, Stromazellen und Endothelien. ^3H -Index: Trophoblast: 3,0%, Stroma: 1,6%. 792/70, 144 \times

dices für Diabetes-Placenten im Vergleich zu den Indices von Placenten unter normalen Bedingungen graphisch dargestellt. Es findet sich eine größere Proliferationsaktivität im Stroma der Placentazotten bei Diabetes mellitus der Mutter gegenüber den Befunden an normalen Placenten. Die Proliferationsstärke des Cytotrophoblasten beim Diabetes liegt gering unter der Norm. Morphologisch zeigt sich, entsprechend den Beobachtungen anderer Autoren [4, 5], das Vorliegen einer Reifungsstörung der Placentazotten (Abb. 5). So findet sich ein faserreiches Zottenstroma, in das relativ enge Capillaren eingebaut sind und ein zweischichtiger Trophoblastüberzug, einer jüngeren Gravidität entsprechend.

Die statistische Prüfung der Ergebnisse (*t*-Test, Student-Verteilung) im Vergleich von normalen und diabetischen Placenten ließ für den Trophoblasten bei annähernd 95%iger Wahrscheinlichkeit ($p < 0,10 > 0,05$) einen offensichtlichen Trend zur unterschiedlichen Markierungsstärke feststellen. Der Vergleich der Stroma-Markierungsrate ergab keine Signifikanz.

B. Das Proliferationsverhalten von Placenten bei EPH-Gestose

Das mit ^3H -Thymidin inkubierte Placentamaterial bei EPH-Gestose zeigt einen Einbau von Tritium-markiertem Thymidin in Trophoblast- und Stromazellen. Die Proliferationstätigkeit in den Stromazellen ist

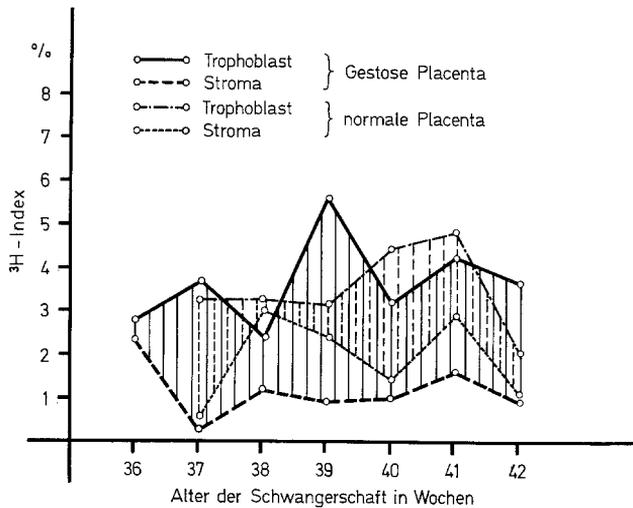


Abb. 6. ^3H -Indices von Trophoblast- und Stromazellen bei EPH-Gestose im Vergleich zu den ^3H -Indices normaler Placenten

jedoch wesentlich geringer als unter normalen Bedingungen. Es zeigt sich eine deutliche Verbreiterung der Amplitude von Trophoblast- und Stromamarkierung unter Gestosebedingungen im Vergleich zu den Normalbefunden in der entsprechenden Schwangerschaft (Abb. 6).

Morphologisch fand sich ein entsprechendes Korrelat, wie Degeneration des Syncytium, Fibrosierung des Zottenstroma und der Endzotten und auch Gefäßsklerose von Stammzottengefäßen. Auffällig häufig ließen sich Trophoblastknospungen, insbesondere bei Eklampsie nachweisen (Abb. 7).

Die statistische Prüfung der Ergebnisse für Gestose-Placenten ergab beim Vergleich von normalen Placenten mit solchen unter Gestose-Bedingungen für Trophoblast- und Stromazellen insgesamt einen Trend zur unterschiedlichen Markierungsrate. Ein statistisch signifikanter Unterschied fand sich für die Stromamarkierung in der 41. Schwangerschaftswoche.

C. Das Proliferationsverhalten von Placenten bei der fetalen Erythroblastose

Bei den 6 zur Untersuchung kommenden Placenten von Müttern mit fetaler Erythroblastose weist der ^3H -Index des Trophoblasten von der 38. Schwangerschaftswoche an einen Anstieg von 2,69% bis 6,9% auf (Tabelle 1). In der 41. Woche findet sich ein Indexabfall. Histologisch wurden z.T. große, plumpe Placentazotten mit einem zwei-

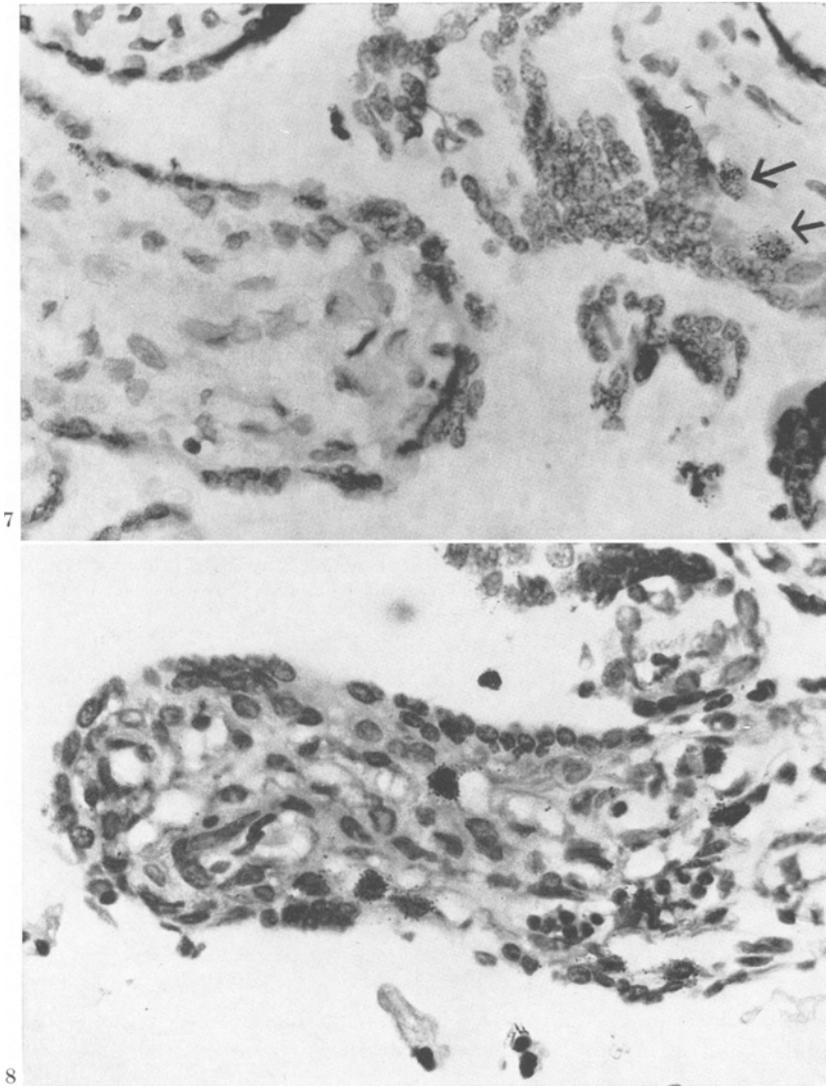


Abb. 7. Placenta bei Eklampsie. 41. Schwangerschaftswoche. Deutliche Markierung des Cytotrophoblasten an der Basis von Syncytiotrophoblastknospen (s. Pfeile).

^3H -Index: Trophoblast: 6,36%, Stroma: 0,85%. 475/70, 144 \times

Abb. 8. Erythroblastose. 38. Schwangerschaftswoche. Zelldichtes Stroma, an den Rand gedrängte Gefäße, die Erythrocytenvorläufer enthalten. Einbau von ^3H -Thymidin in Cytotrophoblast- und Stromazellen, sowie Gefäßendothelien. ^3H -Index:

Trophoblast: 2,8%, Stroma: 0,6%. 800/70, 144 \times

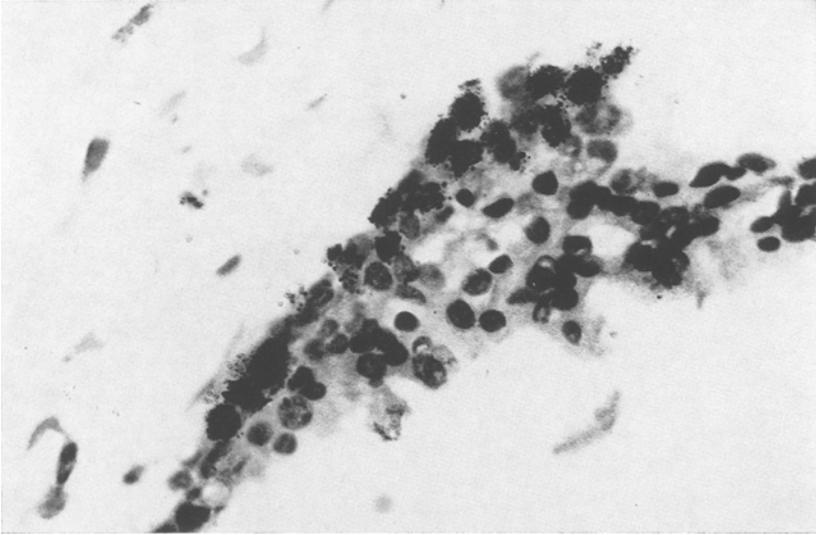


Abb. 9. Proliferation von Cytotrophoblastzellen, ^3H -Thymidin-Inkorporation der Zellkerne bei Blasenmole. ^3H -Index: Trophoblast: 39,65 %, Stroma: 6,65 %. 142/70, 144 \times

schichtigen Trophoblasten gefunden. Die StromagefäÙe lagen z. T. an den Rand der Zotten gedrängt; in diesen GefäÙen lieÙen sich Erythrocytenvorläufer nachweisen. Auch im Stroma fanden sich Zeichen von Proliferationsaktivität (Abb. 8).

Eine statistische Aussage ist wegen der geringen Fallzahl nicht möglich.

D. Das Proliferationsverhalten von Placentagewebe bei Molenschwangerschaft

Die Ergebnisse der Untersuchung über die DNS-Synthese in Trophoblast- und Stromazellen bei Blasenmolen (Tabelle 1) lassen gegenüber den Befunden an normalen Placenten von junger Schwangerschaftsdauer eine erheblich höhere Proliferationstendenz erkennen. Zum Teil findet man im Molentrophoblasten Markierungsindices von über 30%. Markiert werden, wie auch Marquez-Monter [23] an Organkulturen feststellte, Cytotrophoblast- und Stromazellen einschließlich der Hofbauer-Zellen. Eine Markierung des Syncytiotrophoblasten konnten auch wir mit der direkten autoradiographischen Methode nicht feststellen (Abb. 9). Die statistische Prüfung dieser Ergebnisse brachte einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Intensität der Trophoblastmarkierung unter normalen Bedingungen und Molenschwangerschaft. Für das Stroma fand sich keine Signifikanz, was durch die starke Hydropisierung des Zottenstromas einzelner Blasenmolen zu erklären ist.

Besprechung der Ergebnisse

Vorausgegangene autoradiographische Studien anderer Autoren an Placentakulturen und an der reifen Placenta zeigten, daß Tritium-markiertes Thymidin zuerst im Kern des Cytotrophoblasten und bei länger dauernder Inkubation auch im Kern des Syncytiotrophoblasten eingebaut wird [14, 19, 20, 30, 34]. Diese Untersuchungen haben u. a. gezeigt, daß der Syncytiotrophoblast vom Cytotrophoblasten abstammt.

Unsere Untersuchungen bestätigen diese Befunde. In dem frischen, d. h. direkt bei der Curettage oder unter der Geburt gewonnenen Placentamaterial findet sich eine selektive Markierung der Cytotrophoblastkerne wie auch der Kerne der Stromazellen und Gefäßendothelien. Dabei findet man eine deutlich unterschiedliche Intensität der DNS-Synthese in Cytotrophoblast- und Stromazellen in Abhängigkeit vom Schwangerschaftsalter.

Diese Befunde stimmen weitgehend mit denen von Krauer [19, 20] überein. Im Gegensatz zu vorliegender Untersuchung konnte Krauer kein Wachstum der Stromazellen nach dem 5. Schwangerschaftsmonat feststellen. Darüber hinaus finden sich anhand unserer Untersuchungen doppelt so hohe ^3H -Thymidin-Indices, besonders zu Beginn der Schwangerschaft. Der Grund für diese Diskrepanz liegt u. E. in der unterschiedlichen Latenz zwischen Gewinnung und Inkubation des Materials.

Die außergewöhnlich hohe Proliferationsaktivität des jungen Trophoblasten zu Beginn der Schwangerschaft läßt sich mit den Implantationsvorgängen und Stoffwechselerfordernissen erklären. Das Zottenstroma dagegen, welches zum frühen Zeitpunkt der Schwangerschaft weniger differenziert ist als die Trophoblastschicht, zeigt in dieser Zeit geringere Proliferationstätigkeit, läßt jedoch aufgrund der Stärke der DNS-Synthese Differenzierungsvorgänge des Bindegewebes vermuten. Hierfür spricht auch die statistisch signifikant unterschiedliche Markierungsrate von Trophoblast- und Stromazellen während der gesamten Schwangerschaft. Hinweisend auf eine nachlassende Proliferations- und Stoffwechsellätigkeit der alternden Placenta ist der statistisch hochsignifikante Abfall der DNS-Synthese in Trophoblast und Stroma am Ende der ersten Wocheneinheit (12.—28. Schwangerschaftswoche) mit Trend zum weiteren Nachlassen der DNS-Synthesetätigkeit in der 42. Schwangerschaftswoche.

Unsere Befunde zeigen ferner, daß auch in den Zotten der geburtsreifen Placenta nicht nur der Syncytiotrophoblast, sondern auch der Cytotrophoblast, wenn auch nicht mehr in geschlossener Formation, anzutreffen ist. Der Cytotrophoblast zeigt deutliche ^3H -Thymidin-Inkorporation und steht somit für die folgende Mitosephase zur Bildung des Syncytiotrophoblasten zur Verfügung [14, 19, 20, 30, 32].

Auch unter pathologischen Bedingungen findet eine Markierung von Trophoblast- und Stromazellen nach ^3H -Thymidin-Inkubation statt (Tabelle 1). Bei den Inkubationsversuchen mit Placenten *diabetischer* Mütter konnte ein nachweisbarer Einbau von ^3H -Thymidin in Trophoblast- und Stromazellen gefunden werden (Abb. 5). Gegenüber den Befunden an normalen Placenten zeigt sich andeutungsweise eine stärkere Proliferationsaktivität im Stroma der Placentazotten (Abb. 4). Dieser Befund entspricht den morphologischen Kriterien einer Reifungsstörung der Placentazotten. Da die Diffusionsstrecke zwischen mütterlichem intervillösem Raum und den fetalen Capillaren weit ist und der Austausch über zahlreiche zwischengeschaltete Zellelemente erfolgt [5], scheint es nicht verwunderlich, daß im Zottenstroma der diabetischen Placenta eine gesteigerte DNS-Synthese stattfindet.

Der ^3H -Index der Trophoblastzellen in Placentazotten bei *EPH-Gestose* entspricht dem der normalen Placenta. Auffallend ist die verhältnismäßig geringe Proliferationsaktivität des Zottenstroma, so daß hieraus eine Verschiebung der Markierungsrelation Stroma \leftrightarrow Trophoblast gegenüber der Norm resultiert. Stellt man dies graphisch dar, so erkennt man, daß die Amplitude von Stroma- und Trophoblastindices bei der Gestose größer als unter normalen Verhältnissen ist (Abb. 6). Der Grund hierfür mag in den morphologischen Verhältnissen, die man an Gestoseplacenten findet, zu suchen sein [3, 8, 22, 27]. Wir fanden u. a. Degeneration des Syncytium, häufige Fibrosierung des Zottenstammes und der Endzotten und auch Gefäßsklerose von Choriongefäßen. Häufig finden sich Syncytiotrophoblastknospungen als morphologisches Substrat [1, 11]. Die Degenerationsvorgänge im Zottenstroma erklären die geringe Stärke der DNS-Synthese in diesem Bereich der Placentazotte bei Gestose. Der relativ hohe Proliferationsindex im Bereich der Trophoblastschicht ist ein Beweis für eine reaktive Proliferation als Ausdruck auf den reduzierten fetalen bzw. maternalen Blutstrom [11, 13, 35].

Die Syncytiotrophoblastknospung scheint in Beziehung zum O_2 -Druck im intervillösen Blutraum zu stehen [28]. Fox [12] untersuchte die Auswirkung einer Hypoxie auf den Trophoblasten an Organkulturen. Er konnte nachweisen, daß unter hypoxischen Bedingungen (6% O_2) der Einbau von ^3H -Thymidin in den Cytotrophoblasten anstieg und der Syncytiotrophoblast zunächst degenerierte. Nach einer Inkubationsdauer von 72 Std war jedoch auch eine Markierung des Syncytiotrophoblasten zu erkennen. Fox vermutet, daß der proliferierende Cytotrophoblast unter Sauerstoffmangel versucht, den geschädigten Syncytiotrophoblasten zu regenerieren und bezieht diesen Vorgang auf die durch Ischämie geschädigte Gestoseplacenta.

Auch Tominaga und Page [36] untersuchten die syncytiale Knotenbildung an Placentaexplantaten unter vermindertem und vermehrtem

O₂-Angebot. Sie stellten unter hypoxischen Bedingungen eine deutliche Dilatation und unter einem hohen O₂-Angebot eine Vasoconstriction der fetalen Capillaren fest. Die Autoren erklärten dieses Phänomen als Anpassungsvorgang an das veränderte O₂-Angebot. Unter hypoxischen Bedingungen beobachteten sie morphologische Veränderungen, wie die oben beschriebene syncytiale Knotenbildung. Diese morphologischen Veränderungen waren, falls 6 Std nicht überschritten wurden, reversibel. Abb. 7 demonstriert Syncytiotrophoblastknotenbildung unter Eklampsiebedingungen. An der Basis des syncytialen Proliferationsknotens befinden sich Cytotrophoblastzellen, die einen Einbau Tritium-markierten Thymidins in den Zellkern erkennen lassen.

In Übereinstimmung mit den geschilderten Befunden an Trophoblastkulturen unter hypoxischen Bedingungen nehmen auch wir einen Sauerstoffmangel unter Gestosebedingungen als Reiz für eine Syncytiumregeneration im Sinne einer Vergrößerung der O₂-Austauschfläche an. Die Syncytiumregeneration geht ihrerseits vom Cytotrophoblasten aus, der unter unseren Versuchsbedingungen eindeutig DNS synthetisiert.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, ist bei der *Erythroblastose* die Intensität der Trophoblast- und Stromamarkierung von variabler Größe und macht daher, besonders bei der geringen Fallzahl, die Deutung dieser Befunde schwierig. Im Einzelfall scheint der Markierungsindex für Trophoblast- und Stromazellen (40. Woche) bei der Erythroblastose gering gegenüber der Norm gesteigert. Dies ist entsprechend der analogen histologischen Befunde zu erwarten. Da man auch syncytiale Knotenbildung findet, nehmen wir als Ursache für die Proliferationsaktivität der Langhanschen Epithelien die Hypoxie und Hypoxämie infolge der fetalen Anämie an. Auf diesen Kausalzusammenhang wiesen McKay [24] und Wigglesworth [38] schon hin.

Unsere Untersuchungen der DNS-Synthese im Trophoblasten und Stroma bei *Blasenmolen* zeigen gegenüber den Befunden an normalen Placenten von junger Schwangerschaftsdauer eine signifikant höhere Proliferationsstendenz. Markiert werden, wie Marquez-Monter [23] an Organkulturen feststellte, Cytotrophoblast- und Stromazellen, einschließlich der Hofbauer-Zellen. Eine Markierung des Syncytiotrophoblasten wurde nicht beobachtet. Auf die Ursache der relativ hohen DNS-Synthese-Intensität im Mesenchym einzelner Molenzotten, wird in der uns zur Verfügung stehenden Literatur kein Hinweis gegeben. Obwohl autoradiographisch markierte Hofbauer-Zellen von Marquez-Monter [23] beschrieben wurden, wird eine Mitosetätigkeit dieser Zellen allgemein angezweifelt. Horky [16] konnte in den Hofbauer-Zellen bei Diabetes mellitus keine Mitosen beobachten. Er beschrieb jedoch Bilder, die Ähnlichkeit mit der mitotischen Teilung aufwiesen. Da wir ³H-Thymidin-

Inkorporation vereinzelter Zellkerne der Hofbauer-Zellen bei Blasenmolen fanden und damit eine DNS-Synthesetätigkeit der Hofbauer-Zellen zu vermuten ist, stellt sich die Frage nach der Mitosefähigkeit der Hofbauer-Zellen erneut.

Literatur

1. Aladjem, S.: The syncytial knot: A sign of active syncytial proliferation. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **99**, 350—385 (1967)
2. Alvarez, H., Benedetti, W., De Leonis, V. K.: Syncytial proliferation in normal and toxæmic pregnancies. *Obstet. Gynec.* **29**, 637 (1967)
3. Atlas, M., Bond, V. P., Cronkite, E. P.: DNA-synthesis in the developing mouseembryo, studied with tritiated thymidine. *J. Histochem. Cytochem.* **8**, 171—181 (1960)
4. Becker, V.: Die Chronopathologie der Placenta. *Dtsch. med. Wschr.* **96**, 1845—1849 (1971)
5. Becker, V.: Funktionelle Morphologie der Placenta. *Arch. Gynäk.* **198**, 3 (1963)
6. Bélanger, L. F., Leblond, C. P.: A method of locating radioactive elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion. *Endocrinology* **39**, 8—13 (1946)
7. Benirschke, K.: Handbuch der speziellen Pathologie, S. 394. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967
8. Burstein, R., Handler, F. P., Soule, S. D., Blumenthal, H. T.: Histogenesis of degenerative processes in the normal placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **72**, 332 (1956)
9. Fettig, O., Oehlert, W.: Autoradiographische Untersuchungen der DNS- und Eiweißneubildung im gynäkologischen Untersuchungsmaterial. *Arch. Gynäk.* **199**, 649—662 (1964)
10. Fettig, O.: ³H-Index-Bestimmungen und Berechnungen der mittleren Generationszeit (Lebensdauer) der Einzelabschnitte des gesunden und krankhaften Endometriums nach autoradiographischen Untersuchungen mit ³H-Thymidin. *Arch. Gynäk.* **200**, 659—677 (1965)
11. Fox, H.: The significance of villous syncytial knots in the human placenta. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth* **72**, 347 (1965)
12. Fox, H.: Effect of hypoxia on trophoblast in organ culture—a morphologic and autoradiographic study. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **107**, 1058—1064 (1970)
13. Fox, H., Kharkongor, N. F.: The effect of hypoxia on the enzyme histochemistry of placental villi maintained in organ culture. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth* **77**, 526—530 (1970)
14. Gerbie, A. B., Hathaway, H. H., Brewer, J. I.: Autoradiographic analysis of normal trophoblastic proliferation. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **100**, 640—648 (1968)
15. Hörmann, G., Lemptis, H.: Die menschliche Placenta: In: *Klinik der Frauenheilkunde*, Bd. III, S. 500. München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1965
16. Horky, Z.: Beitrag zur Funktionsbedeutung der Hofbauerzellen (Beobachtungen in der Placenta bei Diabetes mellitus). *Zbl. Gynäk.* **86**, 1621—1626 (1964)
17. Johnson, H. A., Bond, V. P.: A method of labelling tissues with tritiated thymidine in vitro and its use in comparing rates of cell proliferation in duct epithelium, fibroadenoma and carcinoma of human breast. *Cancer (Philad.)* **14**, 639—643 (1961)

18. Jollie, W. P.: Radioautographic observations on variations in DNA-synthesis in rat placenta with increasing gestational age. *Amer. J. Anat.* **114**, 161 (1964)
19. Krauer, F.: Die Veränderungen des Tritium-Thymidin-Index in der wachsenden Placenta. In: Festschrift Prof. Dr. Th. Koller: Aktuelle Probleme in Gynäkologie und Geburtshilfe, Hsg.: Dino Da Rugna. Basel-Stuttgart: Schwabe 1969
20. Krauer, F.: Der ^3H -Thymidin-Index normaler und pathologischer Placenten verschiedenen Alters. In: Spätgestose, Hrsg.: E. T. Rippmann. Basel-Stuttgart: Schwabe 1970
21. Kim, Ch. K., Benirschke, K.: Autoradiographic study of the "X-cells". In: The human placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **109**, 96—102 (1971)
22. Kubli, F., Budliger, H.: Beitrag zur Pathologie der insuffizienten Placenta. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **23**, 37 (1963)
23. Marquez-Monter, H.: Desoxyribonucleic acid synthesis of hydatiform moles in organ culture. An autoradiographic investigation. *Nature (Lond.)* **209**, 1037 (1960)
24. McKay, D. G., Hertig, A. T., Adams, E. G., Richardson, M. V.: Histochemical observations in the human placenta. *Obstet. Gynec.* **12**, 1 (1958)
25. Midgley, A. R., Pierce, G. B., Deneau, G. A., Gosling, J. R. G.: The morphogenesis of syncytiotrophoblast in vivo. An autoradiographic demonstration. *Science* **141**, 349 (1963)
26. Oehlert, W., Lesch, R., Dörmer, P.: Autoradiographische Untersuchungen des DNS-, RNS-Stoffwechsels am menschlichen Exsisionsmaterial. *Naturwissenschaften* **23**, 713—714 (1963)
27. Paine, G. G.: Observations on placental histology in normal and abnormal pregnancy. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* **64**, 668 (1957)
28. Rajéwsky, U. F.: In vitro studies of cell proliferation in tumors. II. Characteristics of a standardized in vitro system for the measurement of ^3H -thymidine incorporation into tissue explants. *Europ. J. Cancer* **1**, 281—287 (1965)
29. Reynolds, S. R. U.: Formation of fetal cotyledon in the hemochorial placenta. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **95**, 948 (1966)
30. Richart, R.: Studies of placental morphogenesis. *Proc. Soc. exp. Biol. Med. (N.Y.)* **106**, 829 (1961)
31. Rubini, J. R., Cronkite, E. P., Bond, V. P., Keller, S.: In vitro labelling of proliferating tissues and tumors with tritiated thymidine. *J. nucl. Med.* **2**, 223—230 (1961)
32. Schiebler, T. H.: Neuere Erkenntnisse über die normale Anatomie der Placenta. *Med. Klin.* **67**, 73—77 (1972)
33. Stark, G., Klinhart, H.: Nucleinsäuren und Wachstum der Placenta. *Klin. Wschr.* **34**, 1251 (1956)
34. Tao, T. W., Hertig, A. T.: Viability and differentiation of human trophoblast in organ culture. *Amer. J. Anat.* **116**, 315 (1965)
35. Thomsen, K.: Zur Morphologie und Genese der sog. Placentainfarkte. *Arch. Gynäk.* **185**, 211 (1960)
36. Tominaga, T., Page, E. W.: Accommodation of human placenta to hypoxia. *Amer. J. Obstet. Gynec.* **94**, 679—691 (1966)
37. Wegener, K., Hollweg, S., Maurer, W.: Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopplungszeit und anderer Teilphasen des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte. *Z. Zellforsch.* **63**, 309—326 (1964)
38. Wigglesworth, J. S.: The Langhans Layer in late pregnancy. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth* **69**, 355—365 (1962)

39. Winick, M., Coscia, A., Noble, A.: Cellular growth in human placenta. I. Normal placental growth. *Pediatrics* **39**, 248 (1967)

Dr. F. J. Kaltenbach
Universitäts-Frauenklinik
D-7800 Freiburg i. Brsg.
Hugstetterstr. 55

Prof. Dr. O. Fettig
Geb.-gyn. Klinik
der St. Vincentius-Krankenhäuser
D-7500 Karlsruhe 1
Südenstraße 32
Bundesrepublik Deutschland