

JOURNAL FÜR FERTILITÄT UND REPRODUKTION

KORGUN ET, BARTH S, DEMIR R, DESOYE G, DOHR G, HAHN D, HAHN T
*Das synthetische Glukokortikoid Triamcinolon-Acteonid inhibiert
die Expression von Glukosetransportern in Trophoblastzellen der
Plazenta*

*Journal für Fertilität und Reproduktion 1999; 9 (5) (Ausgabe für
Österreich), 7-16*

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR IN-VITRO-FERTILISIERUNG, ASSISTIERTE REPRODUKTION UND KONTRAZEPTION

**Erschaffen Sie sich Ihre
ertragreiche grüne Oase in
Ihrem Zuhause oder in Ihrer
Praxis**

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,
Kräuter und auch Ihr Gemüse
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz
ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



DAS SYNTHETISCHE GLUKOKORTIKOID TRIAMCINOLON-ACETONID INHIBIERT DIE EXPRESSION VON GLUKOSETRANSPORTERN IN TROPHOBLASTZELLEN DER PLAZENTA

DAS
SYNTHETISCHE
GLUKOKORTIKOID
TRIAMCINOLON-
ACETONID

Summary

Although glucocorticoids play important roles in development and fetal programming, they are administered over long periods in the course of assisted reproduction and are widely used for treatment of a variety of pregnancy-related diseases, too. In various tissues glucocorticoids down-regulate glucose transport systems, however, their effects on glucose transporters in the placenta are unknown. In the present study, the glucose carrier proteins GLUT1 and GLUT3 were localized in the trophoblast and endothelium of the human placenta. Subsequently, it was investigated whether glucocorticoids affect mRNA and protein

expression of these molecules by Northern and Western Blotting using human term placental trophoblast cells cultured in the presence or absence of 0.5, 5 and 50 μM of triamcinolone. Both, GLUT1 and GLUT3 glucose transporters were significantly down-regulated ($p < 0.05$). The results demonstrate that triamcinolone is a potent regulator of placental GLUT1 and GLUT3 expression. We speculate that impaired expression of placental glucose transporters following glucocorticoid administration might contribute to the adverse side effects, foremost of growth-retarded fetuses, of this treatment during pregnancy.

Glukokortikoidexposition zu ungünstigen Nebeneffekten (wie z.B. fetaler Wachstumsretardierung) einer Glukokortikoidbehandlung während der Schwangerschaft beitragen kann.

EINLEITUNG

Ein effizienter diaplazentarer Transfer von Glukose, dem primären Substrat für den gesamten fetalen oxidativen Metabolismus, ist von grundlegender Bedeutung, um die normale Entwicklung und das Überleben des Fetus *in utero* zu gewährleisten, da dessen eigene Glukoseproduktion nur minimal ist [1]. Der Glukosetransport durch die Plazenta erfolgt durch stereospezifische, Natrium-unabhängige, sog. „erleichterte Diffusion“ entlang eines Konzentrationsgradienten [2]. Dieser Prozeß wird durch bestimmte Isoformen einer Familie von Transporterproteinen mediiert, die die Aufnahme des Substrates in die Zelle ca. 10.000 mal schneller ermöglichen, als dies durch einfache Diffusion durch die Lipidmembranschicht zu realisieren wäre [3]. Diese Transportermoleküle bestehen aus ca. 500 Aminosäuren und gehören zu einer Gruppe von integralen Membranglykoproteinen, welche 12 die Zellmembran durchziehende Domänen aufweisen. Trotz ihrer hohen Sequenzanalogie werden die Glukosetransporter von sechs verschiedenen Genen, die als GLUT1–GLUT6 [4] bezeichnet werden und die mit Ausnahme des Pseudogens GLUT6 alle in

ZUSAMMENFASSUNG

Obwohl bekannt ist, daß Glukokortikoide maßgeblich in die Regulation fetaler Entwicklungsprozesse involviert sind, werden sie in der Assistierte Reproduktion über längere Zeiträume appliziert und darüberhinaus auch zur Behandlung einer Anzahl schwangerschaftsspezifischer Erkrankungen eingesetzt. In vielen Geweben inhibieren Glukokortikoide die Glukosetransport-Systeme, Effekte auf Glukosetransporter in der Plazenta wurden allerdings bisher nicht dokumentiert. In der vorliegenden Studie konnten die Glukose-Carrierproteine GLUT1 und GLUT3 in der Trophoblastschicht

und im Endothel der menschlichen Plazenta lokalisiert werden. Anschließend wurde mittels Northern und Western Blotting untersucht, inwieweit Glukokortikoide die Expression von mRNA und Protein dieser Moleküle beeinflussen. *In vitro* Kultur isolierter Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta in Gegenwart von 0,5, 5 bzw. 50 μM Triamcinolon führte zu einer signifikant reduzierten Expression ($p < 0,05$) dieser Glukosetransporter. Die Resultate demonstrieren, daß Triamcinolon die Expression der plazentaren GLUT1 und GLUT3 Glukosetransporter wirksam zu regulieren vermag. Wir spekulieren daher, daß die verminderte Glukosetransporterexpression in der Plazenta als Folge einer

Proteine translatiert werden, kodiert. Während GLUT2–5 eher gewebespezifisch exprimiert werden, ist das GLUT1-Protein nahezu ubiquitär verbreitet.

Wirksame humorale oder endokrine Faktoren, die zusätzlich zum mütterlich-fetalen Konzentrationsgradienten an der Regulierung des transplazentaren Glukosetransfers beteiligt sind, konnten bisher nicht identifiziert werden. Trotz der Expression von Insulinrezeptoren werden der plazentare Glukosetransport sowie -metabolismus als weitgehend Insulin-unabhängig betrachtet [6, 7]. Glukose selbst kann die plazentaren GLUT1-Transporter stimulieren wie auch hemmen [8, 9]. Glukokortikoide (GC) inhibieren den Glukosetransport in einer Vielzahl peripherer Gewebe, wie z. B. Skelettmuskel, Fettgewebe und Endothel. Hochaffine Glukokortikoidrezeptoren mit niedriger Kapazität wurden in der Plazenta von vielen Spezies, inklusive der des Menschen identifiziert [10]. Deshalb ist es naheliegend anzunehmen, daß GC die Expression von Glukosetransportern in der Plazenta in ähnlicher Weise wie in den oben erwähnten Geweben zu regulieren vermögen. Dies hätte beachtenswerte klinische Implikationen, da eine GC-induzierte Inhibierung des plazentaren Glukosetransportsystems Nebenwirkungen hervorrufen könnte, die beispielsweise als Ursache für die erhöhte Inzidenz wachstumsretardierter Neugeborener nach GC-Behandlung während der Schwangerschaft in Betracht kämen [11].

In der Assistierte Reproduktion werden Kortikoide über längere Zeiträume appliziert, um die

Ovulation zu induzieren und eine sich anschließende Schwangerschaft aufrecht zu erhalten [12, 13]. GC werden weiters zur Behandlung schwangerschaftsspezifischer Probleme eingesetzt, wie etwa bei drohender Frühgeburt zur Vermeidung des kindlichen respiratorischen Distress-Syndroms. Schließlich kann eine GC-Therapie auch notwendig werden, wenn die Schwangere an Lupus erythematodes, Asthma bronchiale oder Arthritis leidet.

Die hier präsentierte Untersuchung geht der Frage nach, inwieweit GC die Expression der plazentaren Glukosetransporter beeinflussen. Da Dexamethason, das ansonsten oft für experimentelle Studien der GC-Wirkung verwendet wird, wenn überhaupt, nur mit geringer Affinität an plazentare Glukokortikoidrezeptoren bindet, wurde hier das synthetische GC Triamcinolon-Acetonid (TA), das spezifisch an Glukokortikoidrezeptoren im plazentaren Zytosol bindet [10], verwendet. Dexamethason stellt darüber hinaus kein geeignetes Substrat für den wichtigen Prä-Rezeptor-Faktor 11 β -HSD-2 dar, ein Enzym, das die lokal aktive GC-Konzentration reguliert, indem es GC zu inaktiven Produkten umwandelt.

METHODEN

Trophoblast-Zellkultur

Die Trophoblastzellen wurden durch enzymatische Verdauung aus dem Gewebeverband herausgelöst, mittels Percoll-Dichtegradienten-Zentrifugation isoliert und durch Immunoabsorption von Nicht-Trophoblastzellen an

Magnet-Beads (Dynabeads M-280; Dynal, Hamburg, Deutschland), die mit W6/32-Antikörpern (Serotec, Kidlington, UK) konjugiert waren, gereinigt [9]. Die Trophoblastzellen wurden in Falcon-Kulturflaschen (Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) in einer Dichte von 500 Zellen/mm² ausgesät und in DMEM (Gibco, Paisley, UK) das mit 15 % chemisch definiertem Kälberserum (HyClone Laboratories Inc., Logan, Utah, USA) und 100 μ g/ml Streptomycin (Gibco), 100 IU/ml Penicillin (Gibco) sowie 100 μ g/ml Amphotericin B (Gibco) ergänzt wurde, kultiviert. Nach 24 h ($t = 0$) wurden die Zellen für weitere 24 h in der Gegenwart oder Abwesenheit (Kontrollen) von 0,5, 5 und 50 μ M Triamcinolon-Acetonid (Volon A 40; Squibb-von Heiden, München, Deutschland), kultiviert.

Charakterisierung der Zellen

Vor jedem Experiment wurde durch 0,05 % (v/v) Trypanblau (JRH Biosciences, Crawley Down, Sussex, England) Exklusion während einer 2-minütigen Inkubation die Vitalität der Zellen getestet. Weiters wurden sie durch ihre Fähigkeit zur Produktion und Sekretion von β -humanem Chorion-Gonadotropin; (OPUS^R Sandwich Immunoassay; Behring Diagnostics Inc., Westwood, MA) charakterisiert. Zusätzlich wurde die Qualität und Reinheit der jeweiligen Präparationen von Trophoblastzellen an Hand der immunhistochemischen Expression zellspezifischer Oberflächenantigene und elektronenmikroskopischer Evaluierung der Morphologie analysiert.

Immunhistochemie

Für elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden kultivierte Trophoblastzellen in Methanol fixiert und mit einem 1:100 verdünnten GLUT1 Antiserum (East Acres, Southbridge, MA), gefolgt von einem mit 5 nm Gold-Partikeln konjugierten Sekundärantikörper (AuroProbe™; Amersham, Aylesbury, UK), inkubiert. Die Zellen wurden mit 2 % (v/v) Glutaraldehyd (Fluka Chemie, Buchs, Schweiz) nachfixiert, mit 0,5 % (w/v) Uranylacetat in 1 % (w/v) Phosphorwolframsäure und 70 % (v/v) Ethanol kontrastiert und in Resin (TAAB Laboratories Equipment Ltd., Aldermaston, UK) eingebettet. Ultradünnschnitte (50 nm) wurden mit einem Zeiss 902 Elektronenmikroskop bei 50 kV untersucht.

Für die Lichtmikroskopie wurden Aceton-fixierte Kryostat-Schnitte von humanem Plazentagewebe (8 µm) mit polyklonalen Antiseren gegen ein 21-Aminosäuren-Peptid des GLUT1 Karboxy-Terminus bzw. ein 31-Aminosäuren-Peptid des GLUT3 Karboxy-Terminus (Dr. S.W. Cushman, NIH, Bethesda, MD und Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ) jeweils 1:500 in PBS verdünnt, inkubiert. Anschließend wurden die Schnitte mit einem Ziege-Anti-Kaninchen IgG-HRP-Konjugat (Jackson Immuno-Research Laboratories, West Grove, PA; Verdünnung 1:100) inkubiert. Die Immunmarkierung wurde mit 3-Amino-9-Ethylkarbazol-Dimethyl-Formamid (Sigma, Wien, Österreich; 0,4 mg/ml) visualisiert. Kontrollschnitte wurden mit Peptid-präadsorbierten Antiseren (10 µg/ml Peptid; Pichem, Graz, Österreich) inkubiert.

RNA-Isolierung, Elektrophorese und Northern Blotting

Die zelluläre Gesamt-RNA von kultivierten humanen Trophoblast-Zellen wurde mit dem RNeasy Mini Kit (Qiagen, Santa Clarita, CA) isoliert. Menge und Reinheit der RNA wurde durch Absorptionsmessung bei 260 und 280 nm bestimmt. Nach der elektrophoretischen Auftrennung in einem 1 % Agarose/2,2 M Formaldehyd-Gel wurde die RNA auf Hybond-N⁺ Membranen (Amersham) transferiert und anschließend für 2 Stunden bei 80°C fixiert. Die Integrität der geblotteten RNAs wurde durch Visualisierung der Ethydiumbromid gefärbten 28 S und 18 S ribosomalen Banden (UV-Shadowing) bestätigt. Die Membranen wurden mit α^[32P]-dCTP-markierten GLUT1 und GLUT3 cDNA-Sonden hybridisiert. Anschließend wurden die Membranen bei Raumtemperatur in 1 x SSC mit 0,1 % Natriumdodecylphosphat und bei 55 °C in 0,1 x SSC mit 0,05 % Natriumdodecylphosphat gewaschen und dann autoradiographisch ausgewertet.

SDS-PAGE und Western Blotting

Jeweils gleiche Mengen an Trophoblastzell-Protein wurden durch SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophorese in 150 min bei 600 V / 50 mA / 30 W in 8–18 % Gradientengelen (ExcelGel[®], Pharmacia, Uppsala, Schweden) mit SDS-Pufferstreifen (ExcelGel[®], Pharmacia) aufgetrennt und mittels semitrockenem Elektroblo-tting in einem Puffer der 0,2 M Glycin, 25 mM Tris und 20 % (v/v) Methanol enthält, auf Nitrozellulose-Membranen (Pharmacia) transferiert (45 min bei 30 V/100

mA/6 W). Die Membranen wurden für 1 Stunde bei Raumtemperatur mit Antiseren gegen GLUT1 und GLUT3 inkubiert (Verdünnungen: GLUT1 1:10,000, GLUT3 1:3000), danach gewaschen und mit einem Ziege-Anti-Kaninchen IgG-HRP Konjugat (BioRad, Hercules, CA) für eine weitere Stunde inkubiert (Verdünnungen: 1:10,000 [GLUT1], 1:5000 [GLUT3]). Die Immunmarkierung wurde mit dem auf Chemolumineszenz basierenden SuperSignal CL-HRP Substrate System (Pierce, Rockford, IL) visualisiert.

ERGEBNISSE

Immunhistochemische Lokalisation von GLUT1 und GLUT3 in der Plazenta

In den Zotten der reifen menschlichen Plazenta wurde die stärkste GLUT1-Immunreaktivität in der mikrovillösen Synzytiotrophoblastmembran detektiert. Auch in den villösen Zytotrophoblastzellen und im Endothel der fetalen Gefäße konnte GLUT1 lokalisiert werden. In kultivierten Trophoblastzellen wurde GLUT1 ultrastrukturell ebenfalls hauptsächlich in der mikrovillösen Membran visualisiert (Abb. 1). GLUT3 wurde in den fetalen Endothelzellen der Plazenta nachgewiesen (Abb. 2), während die Trophoblastschicht nicht gefärbt wurde.

Charakterisierung der kultivierten Trophoblastzellen der Plazenta

Mittels Trypanblau-Ausschlußtest wurde festgestellt, daß die Vitalität der Zellen über 90 % lag. Das immunhistochemische Reaktions-

muster der mononukleären Trophoblastzell-Präparationen zeigte eine etwa 85 % Reaktivität mit einem Zytokeratin-Antikörper unmittelbar nach der Isolierung. 90–95 % reagierten mit diesem Antikörper nach 48 Stunden in Kultur. 10 % der frisch präparierten Zellen reagierten mit W6/32, einem Antikörper gegen HLA, und dieser Wert war 48 Stunden später auf ca. 5 % reduziert. Anti-CD68, ein Antikörper, der mit Monozyten und Makrophagen reagiert, markierte 5 % der Zellen nach der Isolation, ein Anteil der nach 48 Stunden noch weiter

zurück ging. Weniger als 1 % der Zellen waren mit dem Endothelzellmarker Ulex europaeus-Lektin gefärbt.

Die Zellen hatten eine intakte Plasmamembran, zeigten eine für Trophoblastzellen charakteristische innere Architektur und hatten eine mikrovillöse Membran an einer Seite (Abb. 1). Sie erschienen als Zellpopulationen, die in Kultur Aggregate bilden, fusionierten aber auch nach 48

Stunden nicht zu vielkernigen Synzytien. TA-Applikation resultierte in einer deutlichen dosisabhängigen Erhöhung von β -hCG, das während der Kultivierungszeit von 24–48 Stunden in das Kulturmedium abgegeben wurde (Abb. 3).

GLUT Expression

Die auf Kontrollwerte (= 100 %) bezogenen TA-Effekte ($p < 0,05$, Mann-Whitney U-Test) sind in

Abbildung 1: Immuno-Gold Markierung von GLUT1 in kultivierten Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta. Das Protein wird am stärksten in der apikalen mikrovillösen Membran exprimiert. Vergrößerung: x 60.000.

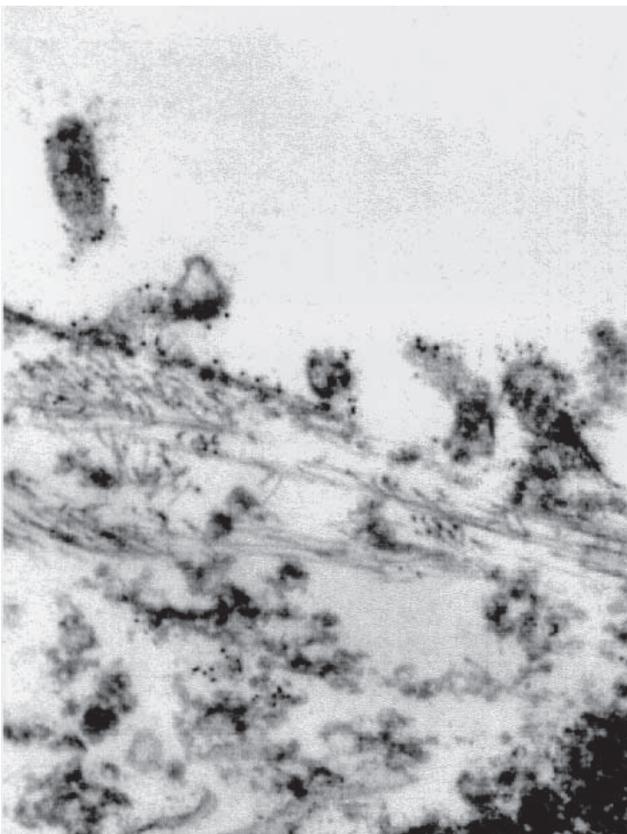


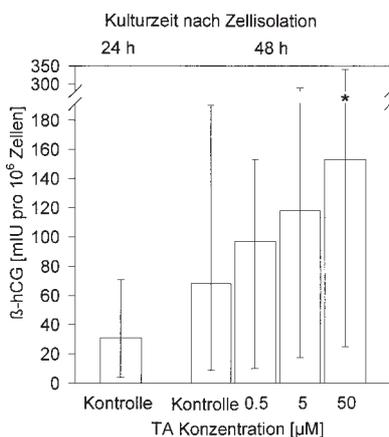
Abbildung 2: Immunhistochemischer Nachweis von GLUT3 in Endothelzellen der fetalen Gefäße der reifen menschlichen Plazenta (rote Pfeilspitzen). Schwarze Pfeilspitzen: Synzytiotrophoblast. Vergrößerung: x 400.



Tabelle 1 zusammengefaßt. GLUT1 mRNA- und Protein-Level waren in kultivierten humanen Trophoblastzellen der Plazenta nach TA-Exposition erniedrigt (Abb. 4 und 5). Dieser suppressive Effekt war dosisabhängig (Abb. 6 und 7).

Die Menge von GLUT3 mRNA in humanen Trophoblastzellen wurde durch TA nicht beeinflusst (Abb. 4 und 6). Im Gegensatz dazu wurde die GLUT3 Protein-Expression (Abb. 5) durch TA in einer dosisabhängigen Weise ähnlich wie GLUT1 Protein reduziert, allerdings in wesentlich geringerem Ausmaß. Nur die Dosis von 50 µM TA führte zu einem signifikanten Effekt ($p < 0,05$, Mann-Whitney U-Test; Abb. 7).

Abbildung 3: Akkumulierte β -hCG Werte (Mittelwert mit Gesamtbereich) im Medium von Trophoblastzellen nach 24 h (Beginn der TA Exposition) und 48 h (Ende der TA Exposition) Kultur in vitro. Dosisabhängige Zunahme der β -hCG Sekretion in Gegenwart von TA. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Mann-Whitney U-Test.



DISKUSSION

Eine GC-Behandlung in der Schwangerschaft verläuft oftmals nicht ohne ungünstige Nebenwirkungen: So kann das System, das den plazentaren Gefäßtonus kontrolliert, Veränderungen unterworfen sein [14]. Darüber hinaus kann hormonelles „Imprinting“ zu einer anhaltenden Amplifizierung von Rezeptorantworten bereits nach nur einmaliger Injektion des entsprechenden Liganden führen [15]. Auf diese Weise könnten GC bestimmte Reaktionsmuster prägen, die im Erwachsenenalter persistieren und zur nachfolgenden Entwicklung schwerwiegender Erkrankungen, wie Hypertension, führen [16]. Besonders hervorzuheben ist jedoch das Risiko der Entwicklung von wachstumsretardierten Feten nach GC Exposition [11, 16]. Da der menschliche Fetus nahezu vollständig von der durch die Plazenta transportierten mütterlichen

Glukosemenge abhängig ist, kann eine inadäquate transplazentare Glukoseversorgung dessen normale Entwicklung substantiell gefährden.

In der vorliegenden Studie wurden die hochaffinen Glukosetransporter-Isoformen GLUT1 und GLUT3 in jenen plazentaren Gewebeschichten lokalisiert, die den fetalen und den mütterlichen Kreislauf gegeneinander abgrenzen (Endothel bzw. Trophoblast). Aufgrund ihrer spezifischen Position spielen beide Zellpopulationen eine zentrale Rolle im Glukosetransport durch die villöse hämomonochoriale menschliche Plazenta. Die immunhistochemischen Ergebnisse stimmen mit früheren Daten zur Verteilung von GLUT1 in der humanen Plazenta überein [17, Review siehe 18]. Das Fehlen eines immunhistochemischen Signales für GLUT3 im humanen Trophoblasten, aber dessen eindeutige Identifizierung in diesem Gewebe mittels Northern und Western Blotting (Abb. 4 und 5) könnte darauf hindeuten, daß die Dichte von GLUT3 im Trophoblasten unterhalb der Sensitivität

Abbildung 4: Repräsentativer Northern Blot von GLUT1 und GLUT3 mRNA. Die mRNA Werte wurde auf G3PDH als internen Standard normalisiert. 1 = Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta (Kontrolle). 2 = Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta, die in Gegenwart von 50 µM TA kultiviert wurden.

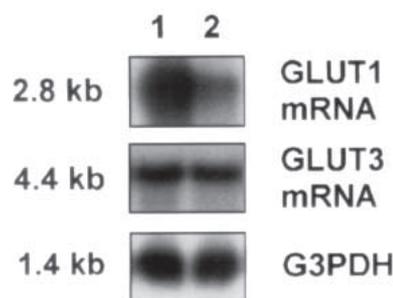
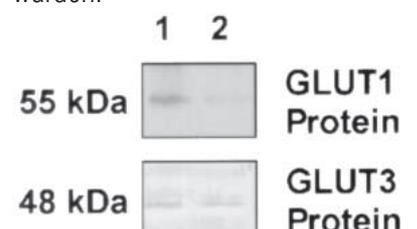


Abbildung 5: Repräsentativer Western Blot des GLUT1 und GLUT3 Proteins. 1 = Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta (Kontrolle). 2 = Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta, die in Gegenwart von 50 µM TA kultiviert wurden.



der immunhistochemischen Methode liegt. Diese Annahme wird durch Daten von Jansson et al. unterstützt [19], die ebenfalls im Immunoblot eine sehr schwache GLUT3-Bande für Synzytiotrophoblastmembranen beschrieben, diesen Befund aber nicht immunhistochemisch reproduzieren konnten.

Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta wurden bereits häufiger für Untersuchungen zur hormonellen Regulation der plazentaren Protein- und Genexpression genutzt [20]. Die Zellpräparationen der vorliegenden Untersuchung wurden genauestens charakterisiert. Die entsprechenden Ergebnisse haben gezeigt, daß die kultivierten Zellen lebensfähige und hoch gereinigte Trophoblastzellen repräsentierten. Der GC-medierte Anstieg der

Sekretion von β -hCG, dem dominierenden endokrinen Produkt des Trophoblasten der Plazenta, bestätigt frühere Ergebnisse [20] und dürfte die transkriptionelle Aktivierung des β -hCG Genes durch GC reflektieren. Eine GC-induzierte Stimulierung der Differenzierung der kultivierten Zellen ist nicht wahrscheinlich, da unter den für diese Untersuchung herrschenden *in vitro* Bedingungen keine Fusion der Trophoblasten zu Synzytien erfolgte.

Mütterliche GC zirkulieren im Blutkreislauf in fünf bis zehn Mal höheren Konzentrationen als im fetalen Kompartiment [16], und der Fetus ist bis relativ spät in der Schwangerschaft nicht in der Lage, eigene GC zu synthetisieren [21]. Die physiologische Kortisolkonzentration im mütterlichen Plasma liegt während der Schwangerschaft

im Bereich von 1 μ M [22]. Die höchste TA-Dosis, die in der vorliegenden Studie den Trophoblast-Zellkulturen verabreicht wurde, entspricht der im Blut resultierenden TA-Konzentration nach i.v. Injektion einer vom Hersteller empfohlenen therapeutischen Dosis.

Sowohl die Expression von GLUT1 als auch GLUT3 Transkripte und Proteine wurden in isolierten menschlichen Trophoblastzellen durch GC signifikant reduziert, was auf eine Regulierung auf der Transkriptionsebene schließen läßt. Ein GC-Effekt auf die GLUT3 Expression wird hier generell zum ersten Mal dokumentiert. In den wenigen Untersuchungen, die sich mit dem Einfluß von GC auf die Expression von GLUT1 beschäftigen, wurde eine Erniedrigung von mRNA und Protein auch in 3T3-F442A Fettzellen und in Adipozyten der Ratte gefunden [23, 24], in denen GLUT1 mit GLUT4 ko-exprimiert wird. Ein weiterer indirekter Hinweis darauf, daß die GC-induzierte Hemmung des Glukosetransportes auf eine verminderte Expression von GLUT-Proteinen zurückzuführen sein könnte, er-

Abbildung 6: Signifikante dosisabhängige Reduzierung der GLUT1, aber nicht der GLUT3 mRNA-Level (Mittelwert mit Gesamtbereich) in Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta, die für 24 h in Gegenwart von TA kultiviert wurden. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, Friedmann ANOVA mit anschließendem Wilcoxon signed rank Test.

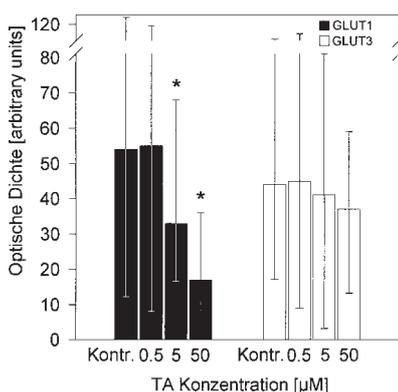


Abbildung 7: Signifikante dosisabhängige Reduzierung der GLUT1 und GLUT3 Proteinlevel (Mittelwert mit Gesamtbereich) in Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta, die für 24 h in Gegenwart von TA kultiviert wurden. * $p < 0,05$ vs. Kontrolle, Friedmann ANOVA mit anschließendem Wilcoxon signed rank Test.

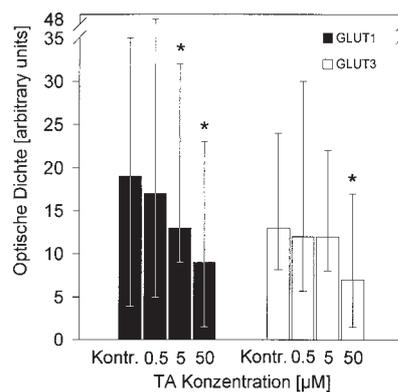


Tabelle 1: GLUT1 und GLUT3-Expression (bezogen auf Kontrollwerte = 100 %) in Trophoblastzellen der reifen menschlichen Plazenta, die für 24 h in Gegenwart von 50 μ M TA kultiviert wurde. Die Daten (Mittelwert \pm SD) wurden statistisch mit dem Wilcoxon signed rank Test geprüft, * $p < 0,05$ vs. Kontrolle.

		% von Kontrolle (= 100 %)
GLUT1	mRNA	28 \pm 3,2*
	Protein	57 \pm 6,0*
GLUT3	mRNA	86 \pm 7,4*
	Protein	63 \pm 5,8*

gibt sich aus kinetischen Studien in nicht-plazentaren Geweben, in denen V_{\max} des Glukosetransfers durch GC Einfluß reduziert wurde, während K_M konstant blieb [25, 26]. Die theoretische Möglichkeit einer GC-induzierten Konformationsänderung von GLUT mit resultierender reduzierter Affinität ist daher eher unwahrscheinlich. TA verändert außerdem auch nicht die Integrität der Zellmembranen [26], was eine veränderte Glukosetransportrate, unabhängig von der Gesamtmenge der in der Membran exprimierten GLUTs, zur Folge haben könnte [27, 28]. Wir können jedoch andere GC-medierte Mechanismen als potentielle Suppressoren des plazentaren Glukosetransportes, wie z. B. subzelluläre Translokalisierung der Transporter, oder die Induktion von spezifischen Proteinen, die entweder die Anzahl der funktionellen Transporter oder deren Aktivität herabsetzen [25], nicht ausschließen.

Zusammenfassend schlußfolgern wir aus den vorgelegten Daten, daß das synthetische GC Triamcinolon einen potenten Regulator der GLUT1 und GLUT3 Expression in der menschlichen Plazenta darstellt. Vor diesem Hintergrund ist es verlockend zu spekulieren, daß eine GC-induzierte Beeinträchtigung des plazentaren Glukosetransportsystems zu einer Retardierung des fetalen und plazentaren Wachstums beitragen dürfte, welche nach GC-Behandlung beobachtet wurde. Hier würde ein pathogener Mechanismus vorliegen, der sich von jenem, der zu intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) ohne GC-Exposition führt und bei der GLUT1 am Trophoblasten nicht verändert ist [19], unterscheidet.

DANKSAGUNG

Wir danken Astrid Blaschitz und Iris Greiner für exzellente technische Assistenz und dem Jubiläumsfonds der Österreichischen Nationalbank (Projekt Nr. 7361), sowie dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Wien (P13721-MED) für finanzielle Unterstützung.

Literatur:

1. Kalhan SC, D'Angelo LJ, Savin SM, Adam PAJ. Glucose production in pregnant women at term gestation. *J Clin Invest* 1979; 63: 388–94.
2. Sibley CP, Boyd RDH. Mechanisms of transfer across the human placenta. In: Polin RA, Fox WW (ed). *Fetal and neonatal physiology*, Saunders, Philadelphia, 1992; Vol. 1, 62–74.
3. Stein WD. The movement of molecules across cell membranes. Academic Press, New York, 1967.
4. Devaskar SU, Mueckler M. The mammalian glucose transporters. *Pediatr Res* 1992; 31: 1–13.
5. Waddell ID, Scott HM, Grant A, Burchell A. Identification and characterization of a hepatic microsomal glucose transport protein. *Biochem J* 1991; 275: 363–7.
6. Schmon B, Hartmann M, Jones CJ, Desoye G. Insulin and glucose do not affect the glycogen content in isolated and cultured cells of human term placentas. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 888–93.
7. Desoye G, Shafrir E. Placental metabolism and its regulation in health and diabetes. *Mol Asp Med* 1994; 15: 505–682.
8. Hauguel-de Mouzon S, Leturque A, Alsat E, Loizeau M, Evain-Brion D, Girard J. Developmental expression of Glut1 glucose transporter and c-fos genes in human placental cells. *Placenta* 1994; 15: 35–46.
9. Hahn T, Barth S, Weiss U, Mosgoeller W, Desoye G. Sustained hyperglycemia in vitro downregulates the GLUT1 glucose transport system of cultured human term placental trophoblast. A mechanism to protect fetal development? *FASEB J* 1998; 12: 1221–31.

10. Speeg KV, Harrison RW. The ontogeny of the human placental glucocorticoid receptor and inducibility of heat-stable alkaline phosphatase. *Endocrinology* 1979; 104: 1364–8.
11. Katz VL, Thorp JM, Bowes WA. Severe symmetric intrauterine growth retardation associated with the topical use of triamcinolone. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 396–7.
12. Kemeter P. The usefulness of corticoids in stimulated cycles for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1987; 4: 69–72.
13. Ruiz-Velasco V, Gonzalez-Alfani G, Pliego-Sanchez L, Alamillo-Vera M. Endometrial pathology and infertility. *Fertil Steril* 1997; 67: 687–92.
14. Hahn T, Graf R, Öney T, Desoye G. Effect of the synthetic glucocorticoid triamcinolone acetonide on vasoactive hydrolases of the human placenta in vitro. *Placenta* 1994; 15: 377–88.
15. Csaba G, Ronai A, Laszlo V, Darvas Z, Berzetei I. Amplification of hormone receptors by a neonatal oxytocin and vasopressin treatment. *Horm Metab Res* 1980; 12: 28–31.
16. Edwards CRW, Benediktsson R, Lindsay RS, Seckl JR. Dysfunction of placental glucocorticoid barrier: link between fetal environment and adult hypertension? *Lancet* 1993; 341: 355–7.
17. Hahn T, Hartmann M, Blaschitz A, et al. Localization of the high affinity facilitative glucose transporter GLUT1 in different developmental stages of the human, marmoset-monkey (*Callithrix jacchus*) and rat placenta. *Cell Tissue Res* 1995; 280: 49–57.
18. Hahn T, Desoye G. Ontogeny of glucose transport systems in the placenta and its progenitor tissues. *Early Preg Biol Med* 1996; 2: 168–82.
19. Jansson T, Wennergren M, Illsley NP. Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1554–62.
20. Ringer GE, Kallen CB, Strauss III JF. Regulation of human trophoblast function by glucocorticoids: dexamethasone promotes increased secretion of chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 1989; 124: 1625–31.
21. Pepe GJ, Albrecht ED. Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. *Endocr Rev* 1995; 16: 608–48.

22. Simmer HH, Tulchinsky D, Gold EM, Frankland M, Greipel M, Gold AS. On the regulation of estrogen production by cortisol and ACTH in human pregnancy at term. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 119: 283–96.
23. Garvey WT, Huecksteadt TP, Monzon R, Marshall S. Dexamethasone regulates the glucose transport system in primary cultured adipocytes: different mechanisms of insulin resistance after acute and chronic exposure. *Endocrinology* 1989; 124: 2063–73.
24. Hajduch E, Hainault I, Meunier C, et al. Regulation of glucose transporters in cultured rat adipocytes: synergistic effect of insulin and dexamethasone on GLUT4 gene expression through promoter activation. *Endocrinology* 1995; 136: 4782–9.
25. Livingston JN, Lockwood DH. Effect of glucocorticoids on the glucose transport system of isolated fat cells. *J Biol Chem* 1975; 250: 8353–60.
26. Braun HJ, Birkenhager JC, De-Jonge HR. Calcium and glucose uptake in rat small intestinal brush-border membrane vesicles. Modulation by exogenous hypercortisolism and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Biochim Biophys Acta* 1984; 774: 81–90.
27. Pilch PF, Thompson PA, Czech MP. Co-ordinate modulation of D-glucose transport activity and bilayer fluidity in plasma membranes derived from control and insulin-treated adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 915–8.
28. Meddings JB, De Souza D, Goel M, Thiesen S. Glucose transport and microvillus membrane physical properties along the crypt-villus axis of the rabbit. *J Clin Invest* 1990; 85: 1099–107.



Mag. rer. nat. Emin Türkay Korgun

Geboren 1967 in Ankara (Türkei). Studium der Medizinischen Biologie an der Cerrahpasa Medizinischen Fakultät der Universität Istanbul 1987–1992. Sponsion 1997 (Thema: „Die Rolle von Desmin, Vimentin und Laminin während der Dezidualisierung und Implantation“). Seit

1994 als Universitätsassistent am Institut für Histologie und Embryologie (Prof. R. Demir) der Medizinischen Fakultät der Mittelmeer-Universität Antalya (Türkei) tätig. Forschungsaufenthalte an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Deutschland) und an der Karl-Franzens-Universität Graz (Österreich).

Korrespondenzadresse:

Dr. rer. nat. Tom Hahn
Institut für Histologie und Embryologie
Karl-Franzens-Universität Graz
A-8010 Graz, Harrachgasse 21

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)