

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie



**8. Arbeitskreis Molekularbiologie der Deutschen
Gesellschaft für Gynäkologische Endokrinologie und
Fortpflanzungsmedizin (DGGEF). 29.-30. August 2008**

Essen (Abstracts)

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2008; 5 (6), 364-372

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, D-I-R, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz



ENDO FERTI FORUM

ENDOKRINOLOGIE & FERTILITÄT
FÜR KLINIK & PRAXIS

20.-21. März 2026

Universitätsmedizin Mainz

Einladung zu unserer wissenschaftlichen Veranstaltung Endo-Ferti-Forum

Brücke(n) zwischen Unikliniken und Praxen an Rhein und Main(z)

– die aus dem bisherigen Format „Ferti Forum“ ab 2026 hervorgeht –



Freuen Sie sich auf spannende Vorträge und den lebendigen Austausch mit Kolleg:innen und Expert:innen aus Klinik und Praxis. Freitagabend laden wir Sie herzlich zu einem entspannten Empfang ein – eine perfekte Gelegenheit, Kontakte zu knüpfen und den Tag genussvoll ausklingen zu lassen.

Wissenschaftliche Leitung: Univ.-Professorin Annette Hasenburg, Dr. Susanne Theis, Universitätsmedizin Mainz, Sanitätsrat Dr. Werner Harlfinger, BVF Rheinland-Pfalz Dr. Rüdiger Gaase, BVF Hessen Dr. Klaus J. Doubek

Schirmherrschaften: Prof. Nicole Sänger, Uniklinik Bonn, Prof. Jan-Steffen Krüssel, Uniklinik Düsseldorf, Dr. Annette Bachmann, Uniklinik Frankfurt am Main, Prof. Christine Skala, Uniklinik Köln

Weitere Informationen
& Anmeldung unter



8. ARBEITSKREIS MOLEKULARBIOLOGIE DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR GYNÄKO- LOGISCHE ENDOKRINOLOGIE UND FORT- PFLANZUNGSMEDIZIN (DGGEF) 29.–30. AUGUST 2008, ESSEN (ABSTRACTS*)

Einführung

In den vergangenen 8 Jahren hat sich das **jährliche Meeting des Arbeitskreises Molekularbiologie der DGGEF** zu einer festen Größe entwickelt, das vor allem jüngeren Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, die sich im Rahmen ihrer Forschungsprojekte mit molekularbiologischen Aspekten der Reproduktionsmedizin beschäftigen, eine informelle Möglichkeit bietet, ihre Arbeiten vorzustellen. Die Tagung, deren Teilnehmerzahl auf 30 begrenzt ist, ist so konzipiert, dass viel Raum für Diskussionen bleibt und die Teilnehmer so auf ähnlichem Gebiet arbeitende Forschergruppen kennenlernen und neue Kooperationen etablieren können.

Das 8. Treffen dieses Arbeitskreises fand dieses Jahr in Essen statt. Der Hauptteil des Treffens wurde durch Vorträge der einzelnen Teilnehmer gestaltet. Zur Eröffnung wurde auf Einladung der Veranstalter von Frau Dr. Birgit Gellersen, ENDOKRINOLOGIKUM Hamburg, ein Übersichtsvortrag zu den molekularen Mechanismen der Progesteronwirkung gehalten. Wie in jedem Jahr wurde von der Firma Serono ein Preis für den besten freien Vortrag ausgelobt. Dieser Preis in Höhe von € 500,– wurde in diesem Jahr zweimal vergeben. Er ging zum einen an Anna Schneider, Universitätsfrauenklinik Heidelberg, für ihren Vortrag über den „Einfluss von endometrialem Stroma und Dezidua auf die Genexpression des Zytotrophoblasten in einem Kokulturmodell“, zum anderen an Dunja Baston-Büst, Uniklinikum Düsseldorf, für ihren Vortrag über die „Rolle der Zysteinproteinase Cathepsin S und ihrer Inhibitoren in der frühen embryonalen Implantation der Maus“.

Die Auswahlbegutachtung der wissenschaftlichen Abstracts erfolgte durch die Organisatoren des Treffens, Prof. Dr. Ruth Grümmer und Prof. Dr. Peter Bielfeld, Essen. Die Vergabe des Vortragspreises erfolgte – wie bei diesem Arbeitstreffen üblich – durch geheime Wahl aller Teilnehmer.

Prof. Dr. Ruth Grümmer
Organisationskomitee

DIE ROLLE DER ZYSTEINPROTEINASE CATHEPSIN S UND IHRER INHIBITOREN IN DER FRÜHEN EMBRYONALEN IMPLANTATION DER MAUS

D. M. Baston-Büst, A. Schanz, C. Hölling,
J. Hirchenhain, J.-S. Krüssel, A. P. Hess
UniKiD-Zentrum für Reproduktions-
medizin der Universitätsfrauenklinik
Düsseldorf

Einleitung: Die Familie der Cathepsine besteht beim Menschen aus 11 Mitgliedern, die eine konservierte Sequenz aus Cystein- und Histidinresten in ihrem aktiven Zentrum aufweisen. Die Aktivierung erfahren die proteolytisch inaktiven Vorstufen in der sauren Umgebung der Lyso- und Endosomen. Eine Ausnahme stellt hierbei Cathepsin S (CtsS) dar, das auch im neutralen pH-Bereich stabil und aktiv ist. Die gewebspezifisch lokalisierten Cathepsine sind sowohl in

physiologische – z. B. Angiogenese, Wundheilung, Apoptose, Antigen-Prozessierung für die MHC-II-Präsentation – als auch in pathologische Prozesse – z. B. Alzheimer-Demenz, Kanzerogenese und Arthritis – involviert.

Ihre Inhibitoren, die zur Familie der Cystatine (Cst) gehören und intra- und extrazellulär bzw. intravaskulär lokalisiert sind, dienen vorwiegend dem Schutz von Zellen und Geweben vor der proteolytischen Aktivität lysosomaler Proteinasen. In bisher veröffentlichten Studien zur Bedeutung der Cathepsine innerhalb der Implantation fiel das Augenmerk vorwiegend auf CtsB und L. Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigten eine vielfache Steigerung der CtsS-mRNA-Expression in humanen endometrialen Stromazellen nach Koinkubation mit Trophoblast-konditioniertem Medium gegenüber der unbehandelten Kontrolle auf [Hess et al., 2007].

Material und Methoden: Basierend hierauf wollten wir die In-vivo-Situation der Lokalisation von CtsS und ihren Inhibitoren CstC (auch Cst3) bzw. CstF (auch Cst7) in Östrogen- und Progesteron-dominanten Zyklen der Maus in Embryo und Endometrium auf mRNA- und Proteinebene untersuchen. Die Proben für die Progesteron-dominanten Zyklen wurden an den Tagen 2,5; 3,5; 5,5 und 7,5 (mit Implantationsstellen) nach Verpaarung entnommen. Die mit-

tels reverser Transkription mit nachfolgender Nested-PCR untersuchten Blastozysten wurden an Tag 3,5 nach Verpaarung aus den Uteri superovulierter Weibchen der Stämme B6C3F1 bzw. B6129F2 gespült.

Ergebnisse und Schlussfolgerung: Neben einer ubiquitären Expression der Zysteinprotease CtsS im murinen Endometrium mit einem Anstieg unter Progesteroneinfluss konnten wir die Expression des Inhibitors CstC im Embryoblasten detektieren. Wider unsere Erwartung exprimierten die untersuchten Embryonen nicht die proteolytisch aktive und folglich implantationsfördernde Proteinase CtsS. Vielmehr scheint auch der Embryo selbst an der Reglementierung seiner Invasion beteiligt zu sein.

PROGESTERONREZEPTOREN IM REPRODUKTIONSTRAKT – KONZEPTE UND IRRWEGE

B. Gellersen
ENDOKRINOLOGIKUM Hamburg

Das Steroidhormon Progesteron spielt eine unerlässliche Rolle in der Kontrolle reproduktiver Vorgänge wie der Ovulation, Implantation der Blastozyste, Aufrechterhaltung der Schwangerschaft und Entwicklung der Brustdrüse. Viele dieser Prozesse werden durch die klassischen Progesteronrezeptoren PR-B und PR-A

* In alphabetischer Reihenfolge nach Erstautoren. Begutachtet und zusammengestellt von den Organisatoren Prof. Dr. Ruth Grümmer und Prof. Dr. Peter Bielfeld, Essen.

Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 372.

vermittelt, die als ligandenabhängige Transkriptionsfaktoren fungieren. Neben langsamen genomischen Effekten löst Progesteron jedoch auch schnelle nicht-genomische zelluläre Antworten aus. Obwohl gezeigt worden ist, dass die Aktivierung von Signaltransduktionskaskaden durch eine extranukleäre Subpopulation des klassischen PR möglich ist, wurde immer wieder die Existenz distinkter membranständiger Progesteronrezeptoren postuliert. Ein Kandidat ist das PGRMC-1 („progesterone receptor membrane component-1“), ein Protein mit einer singulären Transmembrandomäne, das einen Komplex mit SERBP1 eingehen kann („serpine RNA binding protein 1“). Dieser Komplex ist an der anti-apoptotischen Wirkung von Progesteron in Granulosa- und Lutealzellen beteiligt; die Progesteronbindungsfähigkeit von PGRMC-1 ist jedoch noch nicht abschließend charakterisiert.

Als besonders vielversprechende Entdeckung galt die Klonierung der sogenannten Membran-Progestinrezeptoren mPRaa, mPRb und mPRg. Die Mitglieder dieser Familie wurden als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren mit 7 Transmembrandomänen beschrieben, die nach Ligandenbindung einerseits eine Aktivierung der MAP-Kinasen p42/p44 oder p38, andererseits über eine Hemmung der Adenylatzyklase eine Senkung des cAMP-Spiegels auslösen. Eine Hochregulierung der mPRs am Ende der Schwangerschaft bot sich als attraktive Erklärung für das Enigma des „funktionellen Progesteronentzugs“ zu Beginn der Wehentätigkeit an. Dieser Begriff beschreibt das Phänomen, dass trotz anhaltend hoher Progesteronspiegel die progesteronabhängige Ruhigstellung des menschlichen Myometriums beim Geburtsvorgang aufgehoben wird. In eigenen Untersuchungen konnten wir jedoch weder bestätigen, dass die mPR-Expression bei Wehentätigkeit erhöht ist, noch, dass die humanen mPRs die ihnen zugeschriebenen Eigenschaften besitzen. Wir fanden die mPRs nicht in der Plasmamembran, sondern im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert, beobachteten keine durch mPRs vermittelte Veränderung der Adenylatzyklase- oder MAP-Kinase-Aktivität und konnten nicht einmal bestätigen, dass die mPRs Progestine binden.

Eine andere Hypothese zur Erklärung des funktionellen Progesteronentzugs

besagt, dass es im Myometrium am Ende der Schwangerschaft zu einem dramatischen Anstieg einer kurzen, inhibitorischen Isoform des klassischen PR kommt. Dieser als PR-C bezeichnete Rezeptor ist N-terminal trunkiert und besitzt zwar die Liganden-, jedoch keine intakte DNA-Bindungsdomäne. Es wurde postuliert, dass er wie ein Schwamm das Progesteron in Myometriummzellen abfängt und es den transkriptionell aktiven nukleären PRs entzieht. PR-C wurde als ein 60 kDa-Protein beschrieben, das durch Translationsinitiation am Methionin-595-Kodon des PR-Transkripts entsteht. In systematischen Untersuchungen stellten wir jedoch fest, dass Methionin-595 in vivo nicht als Startkodons genutzt wird, und dass gegen den C-Terminus gerichtete PR-Antikörper ein hohes Maß an unspezifischer Kreuzreaktivität aufweisen und somit zu Fehlinterpretationen von Western Blots führen können.

Somit bleibt die klinisch hochrelevante Aufklärung der genomischen und nicht-genomischen Wirkungsweisen von Progesteron ein von Kontroversen gekennzeichnetes Forschungsgebiet.

DIE REGULATION DER CCN-PROTEINE CYR61 UND NOV ÜBER HYPOXIE IN PRÄEKLAMPTISCHEN PLAZENTEN UND IM HUMANEN TROPHOBLASTEN

A. Gellhaus¹, N. Wolf¹, J. Scheidler¹,
M. Schmidt², C. Dunk³, R. Kimmig²,
S. J. Lye³, E. Winterhager¹

¹Institut für Molekularbiologie, ²Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Essen, ³Department of Obstetrics and Gynecology, Mount Sinai Hospital, Toronto, Kanada

Die Präeklampsie ist immer noch eine der Hauptursachen maternaler und fetaler sowie neonataler Mortalität. 5–10 % der Schwangeren entwickeln eine Präeklampsie, die für ca. 25 % der Frühgeburten verantwortlich ist. Ganz besonders schwerwiegend ist die „Early-onset“-Präeklampsie, bei der die Leitsymptome Hypertonie und Proteinurie schon vor der 34. Schwangerschaftswoche auftreten. Die Pathogenese der Präeklampsie ist weitgehend ungeklärt. Eine der Ursachen ist die unzureichende Einwanderung des extravillösen Tro-

phoblasten in das mütterliche Gewebe und die Gefäße. Dies wiederum führt zu einem reduzierten Blutstrom in den intervillösen Raum der Plazenta, begleitet durch Hypoxie und damit zu einer Unterversorgung des Kindes mit Nährstoffen und Sauerstoff und zu einer erheblichen Wachstumsretardierung.

Da die Angiogenese und/oder Migration des Trophoblasten in dieser Erkrankung beeinträchtigt sind, haben wir uns auf eine Proteinfamilie fokussiert, die eine wichtige Rolle in diesen Prozessen spielt, die CCN-Proteine CYR61 (CCN1) und NOV (CCN3). Diese Moleküle sind matrizelluläre Proteine, die an der Regulation von Adhäsion, Migration, Proliferation und Differenzierung beteiligt sind. Kürzlich konnten wir zeigen, dass die beiden Proteine sehr stark in der humanen Plazenta in den Gefäßen und besonders im invasiven Trophoblasten, der in die Dezidua und in die maternalen Spiralarterien einwandert, exprimiert werden. Interessanterweise konnte eine signifikante Downregulation von CYR61 und NOV im villösen Kompartiment, der für den fetomaternalen Austausch verantwortlich ist, in frühen präeklampsischen Plazenten im Vergleich zu Kontrollen nachgewiesen werden. Es ist bekannt, dass in der Präeklampsie viele z. B. angiogene Faktoren durch Sauerstoff reguliert werden. Daher haben wir die Expression von CYR61- und NOV-Transkripten und Protein in der humanen Trophoblastzelllinie Jeg3, einem Modell für den invasiven extravillösen Trophoblasten, unter hypoxischen Bedingungen untersucht. Es zeigte sich eine transiente Zunahme der CYR61 mRNA und des intrazellulären und sekretierten Proteins unter 1 % O₂, verglichen mit Standardbedingungen (20 % O₂). Dagegen konnte neben einer Hochregulierung der NOV mRNA und des intrazellulären Proteins eine Abnahme des sekretierten NOV-Proteins festgestellt werden. Die erhöhten Level von CYR61 und NOV wurden durch eine Stabilisierung des HIF1α-Proteins begleitet. Ob dieser Effekt über HIF1α vermittelt wird, wurde zum einen mit dem Prolylhydroxylase-Inhibitor Dimethyl-oxalylglycin (DMOG), der die hypoxische Situation durch Stabilisierung von HIF1α simuliert, und mithilfe von HIF1α siRNA analysiert. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Stabilisierung von HIF1α über DMOG zu einem ähnlichen Anstieg der CYR61- und NOV-

Expression führt wie unter Hypoxie. Ebenfalls kam es zu einer Abnahme der CYR61- und NOV-Expression nach Behandlung der Jeg3-Zellen mit HIF1 α siRNA unter Hypoxie.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei der Analyse einer anderen Proteinfamilie der Gap Junction-Proteine Connexin 40 und 43, die beide eine wichtige Rolle in der humanen Plazentaentwicklung spielen, gefunden.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass CYR61 und NOV sowie die Connexine Cx43 und Cx40 Hypoxie-induzierte Gene im invasiven Trophoblasten sind. Daher vermuten wir, dass ein Ungleichgewicht in der Expression dieser Moleküle an der feto-maternalen Grenzschicht, hervorgerufen durch Hypoxie, ein Grund dafür sein kann, dass es zu einer verringerten Invasion in der Präeklampsie kommt. Zurzeit untersuchen wir die Expression dieser Moleküle und die Wirkung auf Proliferations- und Invasionseigenschaften unter Hypoxie in plazentalen Explantkulturen, die der Situation in vivo eher entsprechen.

REGULATION VON APOLIPOPROTEIN D UND E IM HUMANEN ENDOMETRIUM

A. Germeyer¹, F. Schlicksupp¹, U. von Rango², J. Jauckus¹, R. M. Popovic¹, T. Strowitzki¹, M. von Wolff¹

¹Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Universitätsklinikum Heidelberg, ²Institut für Anatomie, Universitätsklinikum Aachen

Einleitung: Das Endometrium stellt ein plastisches Gewebe mit zyklischen Genveränderungen dar, die die optimale Implantation des Embryos ermöglichen sollen. Zahlreiche dieser Genveränderungen wurden durch Einzelgenanalysen, ebenso wie durch globale Mikroarrayuntersuchungen aufgedeckt. Beim Vergleich von proliferativem mit sekretorischem Gesamtendometrium fand sich in einer solchen globalen Genuntersuchung u. a. eine vermehrte Genexpression von Apolipoprotein D und E. Einzelnen Apolipoproteinen (Apo), welche überwiegend als Lipidtransporter im peripheren Blut beschrieben sind, wurde bereits früher eine Funktion im Reproduktionstrakt zugeschrieben, so u. a. beim prämenstruellen

Apoptosevorgang im humanen Endometrium (Apo J) und in der murinen Frühschwangerschaft von Mäusen (Apo E), sodass im Rahmen dieser Studie Lokalisation und Regulation im humanen Endometrium untersucht werden sollen.

Material und Methoden: Nach Einverständniserklärung (Ethikprotokoll der Universität Heidelberg) wurden dezentrale Proben aus legalen Schwangerschaftsabbrüchen und endometriale Biopsien von gesunden, regelmäßig menstruierenden Frauen gewonnen.

Genexpressionsanalysen mittels Taqman-Realtime-PCR erfolgten an proliferativem und mittelsekretorischem Gesamtendometrium (n = 14). Des Weiteren erfolgte eine Auftrennung des Gesamtendometriums in Einzelzellfraktionen (Epithel-[EZ], Stroma-[SZ] und CD45-positive Immunzellen [IZ]) mittels magnetischer Beads. Zur Kontrolle der hormonellen Regulation dieser Proteine wurden SZ und EP nach hormoneller Stimulation in vitro untersucht. Die Proteinexpressionsanalyse erfolgte mittels Immunhistochemie und Western Blot im Gesamtendometrium.

Ergebnisse: Apo D- und -E-mRNA fanden sich in allen untersuchten endometrialen Einzelzellfraktionen sowohl in der proliferativen als auch in der sekretorischen Phase. Die zuvor im Mikroarray beschriebene vermehrte Expression von Apo D und E im Gesamtendometrium in der sekretorischen Phase konnte bestätigt werden. In Einzelzellfraktionen fand sich diese zyklusabhängige mRNA-Regulation für Apo D deutlich in EZ, SZ und IZ, während Apo E nur geringe Veränderungen in SZ und IZ aufwies. Mittels In-vitro-Dezidualisierung von SZ konnte ein hormoneller Einfluss auf die Genexpression von Apo D bestätigt werden.

Auch im Western Blot fand sich bei Apo D und E ein geringer Anstieg in der sekretorischen Phase. Die Proteinlokalisierung mittels Immunhistochemie ergab eine deutliche Expression von Apo D im glandulären Epithel sowie im Stroma mit einem Anstieg der Proteinexpression im sekretorischen Epithel. Apo E jedoch war fast ausschließlich in Endothelzellen nachweisbar mit minimaler Expression in endometrialem Stroma.

Schlussfolgerung: Wir konnten erstmals die zyklusabhängige und zelltypspezifi-

sche Lokalisation von Apo D und Apo E im humanen Endometrium beschreiben. Wir vermuten, dass diese Proteine den vermehrten Nährstoffbedarf der Zellen in der zweiten Zyklushälfte unterstützen und somit die Voraussetzungen zur Implantation des Trophoblasten verbessern. Die definitive Klärung der Funktion dieser Proteine im Endometrium steht jedoch noch aus.

ERHÖHTE EXPRESSION DES STAMMZELLMARKERS MUSASHI-1 IM ENDOMETRIUM – POTENZIELLE BEDEUTUNG FÜR DIE PATHOGENESE VON ENDOMETRIOSE UND ENDOMETRIUMKARZINOM

M. Götte¹, M. Wolf¹, N. Schulte¹, A. Staebler², O. Buchweitz¹, A. Schüring¹, L. Kiesel¹

¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, ²Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Münster

Einleitung: Während des Menstruationszyklus laufen im humanen Endometrium zyklische Prozesse der Regeneration, Zelldifferenzierung und Desquamation ab. Als Grundlage dieser regenerativen Kapazität wird eine Beteiligung endometrialer Stammzellen angenommen [1, 2]. Weiterhin wird deren Beteiligung an der Pathogenese von Endometriose und Endometriumkarzinom diskutiert. Hierbei stellt das RNA-bindende Protein Musashi-1 (Msi1) einen potenziellen Marker dar, da es die Pluripotenz von Progenitorzellen durch Modulation des Notch-Signalweges aufrechterhält [3].

Patienten und Methoden: Die Expression von Msi1 wurde mittels Immunhistochemie, quantitativer RT-PCR und Immunfluoreszenzmikroskopie in endometrialen Stromazellklonen [4], in Endometriums-, Endometriose- und Endometriumkarzinomgewebe von 46 Patientinnen charakterisiert. Das osteogene Differenzierungspotenzial endometrialer Stromazellklone wurde in vitro untersucht.

Ergebnisse: Endometriale Stromazellklone exprimieren Msi1 und Notch-1. Eine Subpopulation der Stromazellklone ließ sich osteogen differenzieren. Im Gewebe war der Prozentsatz Msi1-positiver Zellen in der Basalis im Vergleich zur Functionalis signifikant erhöht. Die

Zahl Msi1-exprimierender Zellgruppen war im proliferativen Endometrium, im Endometriumkarzinomgewebe und in Endometrioseläsionen gegenüber sekretorischem Endometrium signifikant erhöht. Eine hohe Expression von Msi1 und Telomerase wurde im Endometrium, nicht aber im Myometrium nachgewiesen. Im Endometriumkarzinomgewebe mit hoher Leukozyteninfiltration wurde eine partielle Kolokalisation von Msi1 mit CD45 beobachtet.

Schlussfolgerungen: Unsere Daten stützen aktuelle Hypothesen über Stammzell-vermittelte Pathogenesemechanismen endometrialer Erkrankungen [1, 2]. Die induzierte Differenzierung von Progenitorzellen könnte daher einen zukünftigen therapeutischen Ansatz darstellen [5, 6]. Unsere Daten zur In-vitro-Differenzierung endometrialer Stromazellklone zeigen jedoch die Notwendigkeit einer genauen immunophänotypischen Charakterisierung endometrialer Stammzellen auf.

Literatur:

1. Schwab KE, Chan RW, Gargett CE. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2005; 84 (Suppl 2): 1124–30.
2. Gargett BE, Chan RW. Endometrial stem/progenitor cells and proliferative disorders of the endometrium. *Minerva Ginecol* 2006; 58: 511–26.
3. Okano H, Kawahara H, Toriya M, Nakao K, Shibata S, Imai T. Function of RNA-binding protein Musashi-1 in stem cells. *Exp Cell Res* 2005; 306: 349–56.
4. Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod* 2004; 70: 1738–50.
5. Yip GW, Smollich M, Götte M. Therapeutic value of glycosaminoglycans in cancer. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2139–48.
6. Tang B, Yoo N, Vu M, Mamura M, Nam JS, Ooshima A, Du Z, Desprez PY, Anver MR, Michalowska AM, Shih J, Parks WT, Wakefield LM. Transforming growth factor-beta can suppress tumorigenesis through effects on the putative cancer stem or early progenitor cell and committed progeny in a breast cancer xenograft model. *Cancer Res* 2007; 67: 8643–52.

UNTERSUCHUNG VON SIGNALKASKADEN DER IGF-II-VERMITTELTEN TROPHOBLASTEN-INVASION IN VITRO

A. P. Hess^{1,2}, D. M. Baston-Büst², A. Schanz², M. Nyegaard¹, J.-S. Krüssel², L. C. Giudice¹

¹Department of Obstetrics & Gynecology, Stanford University, Stanford, CA, USA, ²UniKiD-Zentrum für Reproduktionsmedizin der Universitätsfrauenklinik Düsseldorf

Einleitung: Insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) wird progesteronabhängig in dezidualisierten endometrialen Stromazellen (ESC) exprimiert und ist im Rahmen der Etablierung einer Schwangerschaft an entscheidenden Vorgängen auf maternalen und fetalen Seite, z. B. Wachstum, Differenzierung und Implantation, beteiligt. Aufseiten des Trophoblasten nimmt Insulin-like growth factor- (IGF-) II während der embryonalen Invasion die vorherrschende Rolle als implantationsförderndes Sekretionsprodukt ein.

Das Ziel unserer Studie war es, die Signalwege in in vitro dezidualisierten primären endometrialen Stromazellen (ESC) zu untersuchen, die an der IGF-II-regulierten Expression von IGFBP-1 beteiligt sind und somit Rückschlüsse auf Interaktionen im Rahmen der regelrechten Implantation erlauben.

Material und Methoden: Hierfür wurden ESC aus Endometriumbiopsien von Patientinnen im reproduktiven Alter isoliert und kultiviert. Die Dezidualisierung erfolgte mit Progesteron und Estradiol und wurde mittels IGFBP-1-ELISA verifiziert. Im Anschluss an die Dezidualisierung wurden die Zellen mit IGF-II, dem PI3-Kinase-Inhibitor Wortmannin bzw. PD98059 als MAP-Kinase-Inhibitor und einer Kombination beider Inhibitoren inkubiert.

Ergebnisse: Die Analyse der Expression von IGFBP-1 erfolgte anhand von Western Blots für die Produkte der PI3- bzw. MAP-Kinase-Aktivierung, phosphoryliertes ERK (Extracellular-signal Regulated Kinase) und AKT (Proteinkinase B). Wir konnten feststellen, dass IGF-II die Expression von IGFBP-1 in endometrialen Stromazellen erniedrigt und diese Reduktion vorwie-

gend über den MAP-Kinase-Signalweg erfolgt.

Schlussfolgerungen: Diese Ergebnisse legen nahe, dass der Embryo seine eigene Invasion mittels IGF-II vor allem über eine Aktivierung der MAP-Kinase-Signalkaskade zur Erniedrigung des anti-invasiven IGFBP-1 reguliert.

METHYLENTETRAHYDROFOLAT-REDUKTASE (MTHFR)-677C>T-MUTATION VERMIN-DERT CYP17- UND CYP19-ABHÄNGIGE STEROIDMETABOLITE

K. Keck¹, R. Pavlik¹, S. Hecht¹, U. Noss², S. J. Soldin³, C. J. Thaler¹

¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum der Universität München-Großhadern, ²Zentrum für Reproduktionsmedizin, München, ³Bioanalytical Core Laboratory, General Clinical Research Center, Georgetown University Medical Center, Washington, D.C., USA

Wir konnten zeigen, dass die MTHFR-677C>T-Mutation mit einer erniedrigten Estradiol- (E2-) Konzentration in der Follikelflüssigkeit (FF) und einer deutlich verminderten E2-Syntheseleistung humaner Granulosazellen (GZ) assoziiert ist [1]. Wir haben untersucht, ob neben E2 weitere Metabolite im Steroidstoffwechsel des Ovars von dieser Mutation beeinflusst werden.

FF und GZ wurden aus Follikelpunkten von IVF-/ICSI-Patientinnen gewonnen. Nach Aufreinigung mittels Percoll-Dichtegradienten-Zentrifugation und Anti-CD14- und Anti-CD45-Dynalbeads wurden die GZ für insgesamt 5 Tage in FCS-haltigem M199-Medium kultiviert. Die MTHFR-677C>T-Genotypisierung wurde mittels PCR-RFLP durchgeführt. Zur weiteren differenzierten Hormonanalyse wurden FF und Zellkulturüberstände von jeweils 5 homozygoten (T/T-) Patientinnen und 5 Wildtyp- (C/C-) Individuen ausgewählt. Bei diesen wurde mittels HPLC-Tandem-Massenspektrometrie im Überstand der kultivierten GZ Estron (E1), E2, 17-OH-Progesteron und Progesteron (P4) quantifiziert.

In den FF und Kulturüberständen der homozygoten T/T-Patientinnen fand sich im Vergleich zum Wildtyp (C/C) eine

signifikante Verminderung der CYP17- und CYP19-abhängigen Metabolite 17-OH-Progesteron (GZ: $p < 0,009$), E1 ($p < 0,045$) und E2 ($p < 0,033$). Die Verminderung von 17-OH-Progesteron in der FF der T/T-Patientinnen erreichte noch kein statistisches Signifikanzniveau ($p < 0,09$). Das HSD3B-abhängige Progesteron zeigte weder in der FF noch in den GZ-Kulturüberständen Unterschiede zwischen den T/T- und C/C-Genotypen.

Diese Ergebnisse deuten auf einen spezifischen Einfluss der MTHFR-677C>T-Mutation auf den ovariellen CYP17- und CYP19-abhängigen Steroidmetabolismus hin.

Literatur:

1. Hecht S, Pavlik R, Lohse P, Noss U, Fries K, Thaler CJ. Common 677C->T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects follicular estradiol synthesis. *Fertil Steril* 2008, Feb 2; [Epub ahead of print].

DAS SYSTEM VON JANUS KINASEN (JAKs), SIGNAL TRANSDUCERS UND ACTIVATORS OF TRANSCRIPTION (STATs) UND DEREN INHIBITOREN REGULIERT DIE INVASIVITÄT VON TROPHOBLASTÄREN ZELLEN

L. Khachaturyan, T. G. Poehlmann, D. M. Morales, A. L. Forti, C. Ermisch, M. Weber, M. Trück, T. de la Motte, J. S. Fitzgerald, E. Schleussner, U. R. Markert
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Hintergrund: Signal Transducer und Activator of Transcription 3 (STAT3) ist ein intrazelluläres Signalmolekül in trophoblastären Zellen, das durch Leukämie-Inhibitorische-Factor- (LIF-) Rezeptorbindung durch Janus Kinasen (JAKs) an seinem tyr705-Rest phosphoryliert werden kann. Diese Phosphorylierung korreliert mit der Invasivität. Suppressors of Cytokine Signalling inhibieren die Phosphorylierung der STATs und Protein Inhibitors of Activated STATs (PIAS) inhibieren bereits phosphorylierte STATs. Deswegen wird erwartet, dass beide die Trophoblastinvasion regulieren.

Methoden: Wir haben die spontane Expression verschiedener JAKs, STATs und PIAS in den folgenden 6 qualitativ verschiedenen trophoblastären Zelllinien

durch Gel-Elektrophorese und Western Blot analysiert: Jeg-3 (Chorionkarzinom), ACH-3P (Hybrid von Jeg-3 und 1. Trimester-Trophoblast), AC1-M59 (Hybrid von Jeg-3 und 3. Trimester-Trophoblast), HTR (Trophoblast), Jar (Chorionkarzinom), Jar SOCS3 (Suppressor of Cytokine Signaling 3)-„knockdown“ (transfizierte, small hairpin-RNA für SOCS3 exprimierende Jar-Zellen). Die Expression wurde außerdem immunhistochemisch in Plazentagewebe des 1. und 3. Trimesters analysiert. Wir haben zahlreiche Faktoren des Systems mittels spezifischer small interfering-RNA (siRNA) oder small hairpin-RNA ausgeschaltet und jeweils die Wirkung auf Proliferation, Migration und Invasion untersucht.

Ergebnisse und Fazit: Die Untersuchungen unterstreichen, dass das gesamte System die Invasivität trophoblastärer Zellen reguliert. Ein interessanter Aspekt ist, dass einige Zelllinien kein nachweisbares PIAS3 exprimieren, sodass dessen Präsenz oder Abwesenheit gut mit der Ausprägung von Zellfunktionen korreliert werden kann.

SURFACE ENHANCED LASER DESORPTION UND IONISATION (SELDI) MASSENSPEKTROMETRIE ZUR UNTERSUCHUNG VON FOLLIKELFLÜSSIGKEIT

S. Neubeck, I. Hoppe, F. von Eggeling, W. Starker, E. Schleussner, U. R. Markert
Plazenta-Labor, Abteilung für Geburtshilfe, Institut für Humangenetik, IVF-Labor, Abteilung für Frauenheilkunde, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Einleitung: Das Proteom der Follikelflüssigkeit (FF) und seine Unterschiede zum Serum sind noch nicht detailliert bekannt. Massenspektrometrie ist eine sehr sensitive Methode zur Erkennung des Proteinprofils von biologischen Flüssigkeiten. Surface Enhanced Laser Desorption Ionisation-Time of Flight (SELDI-TOF-) Massenspektrometrie ist eine weiter fortgeschrittene Methode zur Reduzierung überlappender Signale.

Patienten und Methoden: 150 verblindete FF von 18 hormonell stimulierten Patientinnen wurden mittels SELDI-TOF mit Protein-Chips unterschiedlich beschichteter Oberflächen analysiert.

Parallel wurde Serum analysiert, um Unterschiede zur FF zu erkennen.

Ergebnisse: In Abhängigkeit der jeweiligen Protein-Chip-Oberfläche und anschließender Massenspektrometrie war die biostatistische Software des SELDI-TOF-Systems in der Lage, die verblindeten FF korrekt jeder Patientin zuzuordnen und somit die FF der verschiedenen Individuen zu unterscheiden. Gleichzeitig unterschieden sich verschiedene Follikel innerhalb einer Patientin durch mindestens 30 differenziell exprimierte Proteine. Es wurden 5 Protein Peaks gefunden, die ausschließlich in FF, aber nie im Serum nachweisbar waren, sowie 17, die nur im Serum, aber nie in FF gefunden wurden.

Fazit: Proteinprofile und einzelne Proteine, die mittels SELDI-TOF detektiert wurden, können für die Diskriminierung verschiedener Patientinnen und unterschiedlicher Follikel genutzt werden. Diese Methode könnte sich zu einem wichtigen Instrument für die prognostische Evaluierung von Follikeln und Eizellen im Hinblick auf die Fertilisierung und Implantation entwickeln.

CXCL12 ALS MARKER DER TROPHOBLAST-ZELLDIFFERENZIERUNG UND PRÄEKLAMPSIE

A. Schanz¹, A. P. Hess¹, D. M. Baston-Büst¹, J.-S. Krüssel¹, S. J. Fisher²

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, ²Department of Cell and Tissue Biology, University of California, San Francisco, CA, USA

Hintergrund: Humane Plazentation ist durch Trophoblastzelldifferenzierung in den invasiven Trophoblast oder den Synzytiotrophoblast gekennzeichnet. CXCL12, ein angiogenetisches Chemo-kin, wird vom invasiven Trophoblast exprimiert. Mechanistisch spielt CXCL12 eine Rolle bei der Chemokinesis und Chemotaxis dieser Zellen. Weiterhin vermittelt es die Rekrutierung von natürlichen Killerzellen in die Dezidua. In Präeklampsie ist die Invasionstiefe der Trophoblastzellen deutlich vermindert und es wird vermutet, dass dieser frühe Differenzierungsdefekt essenziell an der Pathogenese der Präeklampsie beteiligt ist. In dieser Studie haben wir die Expression von CXCL12 im mütterlichen

Blut und in der Plazenta von präeklampsischen Patientinnen und einem gesunden Kontrollkollektiv untersucht.

Methoden: Plazentagewebe wurde nach elektiven Interruptiones im ersten (n = 12) und zweiten Trimenon (n = 12) gewonnen. Plazenten aus dem dritten Trimenon (n = 16) wurden nach Entbindung von Patientinnen mit (n = 14) oder ohne (Kontrollgruppe) präeklampsischen Symptomen untersucht (n = 14). Das Gewebe wurde immunhistochemisch auf CXCL12-Expression untersucht. Plazentavillus-Kulturen und isolierte Trophoblastzellen wurden in Zelldifferenzierungsassays mit Immunohistochemie oder Western Blot analysiert. CXCL12 wurde via ELISA im Blut der folgenden Untersuchungsgruppen untersucht: (1) schwangeren Patienten zum Zeitpunkt von klinischen Symptomen einer Präeklampsie (n = 14) und (2) Kontrollkollektiv mit unpathologischer Schwangerschaft (n = 14); (3) Patientinnen in der 20. Schwangerschaftswoche (n = 20) vor dem Auftreten von klinischen Präeklampsiesymptomen, die jedoch im späteren Verlauf eine Präeklampsie entwickelten oder (4) einen unpathologischen Verlauf (n = 20) (Kontrollgruppe) zeigten.

Ergebnisse: Die Immunhistochemie des Plazentagewebes von unkomplizierten Schwangerschaften aus allen Trimestern zeigte, dass invasive Trophoblastzellen eine starke CXCL12-Expression aufweisen, während der Synzytiotrophoblast keine CXCL12-Färbung zeigte. Auch in den Differenzierungsassays zeigte sich, dass differenziertes, invasives Trophoblast CXCL12 exprimiert. Im Gegensatz dazu zeigte die Plazenta von Patientinnen mit Präeklampsie zusätzlich eine starke Färbung des Synzytiotrophoblasten. Die Messung von CXCL12 im mütterlichen Blut zeigte eine signifikant erhöhte CXCL12-Konzentration in Präeklampsie, sowohl bei Patientinnen, welche noch keine Symptome aufzeigten, als auch bei Patientinnen mit klinischen Zeichen der Präeklampsie.

Diskussion: Unsere Daten zeigen, dass in dem Differenzierungsprozess des Trophoblasten die CXCL12-Expression hochreguliert wird. Im Gegensatz hierzu zeigte sich bei Präeklampsie zusätzlich eine Expression im Synzytiotrophoblasten, welcher im direkten Kontakt mit dem mütterlichen Blut steht. Wir postulieren, dass die Hochregulation

von CXCL12 im Synzytiotrophoblasten eine Differenzierungsstörung aufzeigt und zu einer Zunahme der CXCL12-Konzentration im mütterlichen Blut führt. Wir vermuten, dass eine hohe Konzentration von CXCL12 zu einer Dysregulation von Immunzellrekrutierung führt und so an der Pathogenese der Präeklampsie beteiligt sein könnte. Zusätzlich postulieren wir, dass CXCL12, welches schon vor dem Auftreten von klinischen Symptomen der Präeklampsie erhöht ist, als prädiktiv-diagnostischer Marker verwendet werden und somit eine frühzeitige Therapie ermöglichen könnte.

EINFLUSS VON ENDOMETRIALEM STROMA UND DEZIDUA AUF DIE GENEXPRESSION DES ZYTOTROPHOBLASTEN IN EINEM KOKULTUR-MODELL

A. Schneider, B. Marsch, T. Strowitzki, M. von Wolff, R. M. Popovici
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie und Fertilitätsstörungen, Heidelberg

Einleitung: Während der Invasion des Trophoblasten in das mütterliche Endometrium erfolgen auf beiden Seiten multiple Veränderungen, welche in vivo nicht untersucht werden können. Mithilfe eines Kokulturmodells haben wir die Genexpression von Zytotrophoblastzellen nach Kokultur mit endometrialen Stromazellen, nach Kultur mit Überstand von endometrialen Stromazellen und nach Kultur mit Überstand von Schwangerschaftsdezidua analysiert, um den Einfluss von endometrialem Stroma auf Zytotrophoblast zu untersuchen.

Material und Methoden: Explantate von Trophoblast des ersten Trimenons wurden in 6 verschiedenen Gruppen kultiviert. Zum Teil erfolgte die Kultur direkt auf Stromazellen, zum anderen Teil mit Überstand von Stromazellen sowie mit Überstand von Dezidua. Nach 48 Stunden wurden die herausgewachsenen Zytotrophoblastzellen jeder Versuchsgruppe isoliert und die RNA extrahiert. Nach Aufreinigung erfolgte die Real-Time-PCR-Untersuchung von Glycodelin, Hypoxia responsive Factor-1, IGFBP-3, INSL-4, LOX und HSD11B2.

Ergebnisse: In Zytotrophoblast des ersten Trimenons wird von den untersuch-

ten Genen in allen Gruppen PP14 mRNA deutlich hochreguliert. Die höchste Regulation von PP14 wird bei der Kokultur von Zytotrophoblast auf dezidualisierten endometrialen Stromazellen sowie bei der Kultur von Zytotrophoblast mit Überstand von Schwangerschaftsdezidua beobachtet. Eine Regulation von anderen Genen im Zytotrophoblasten, welche mit der Implantation in Verbindung gebracht wurden, wie Hypoxia responsive Factor-1, IGFBP-1, INSL-4 LOX und HSD11B2, konnten wir nicht nachweisen.

Schlussfolgerung: Ein direkter Einfluss von endometrialem Stroma und Dezidua auf den invasiven Zytotrophoblasten wird hier erstmalig anhand eines Gens, PP14, gezeigt. Andere Zytotrophoblastgene müssen im Weiteren noch untersucht werden, um ein genaueres Bild des Einflusses des Endometriums auf den Trophoblasten zu erhalten.

HÖHERE AMH-SERUMKONZENTRATIONEN KÖNNTEN REDUZIERT FSH-EFFEKTE BEI TRÄGERINNEN DER MTHFR-677C>T-MUTATION MITERKLÄREN

A. Schröder¹, S. Hecht¹, R. Pavlik¹, P. Lohse², U. Noss³, C. J. Thaler¹
¹Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der LMU München-Großhadern, ²Institut für Klinische Chemie der LMU München-Großhadern, ³Zentrum für Reproduktionsmedizin, München

Wir konnten zeigen, dass Trägerinnen der MTHFR-677C>T-Mutation bei der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation ein deutlich erniedrigtes Serum-estradiol aufweisen [Thaler et al., Am J Reprod Immunol 2006; 55: 251–8]. Dieser Effekt könnte auf eine Verminderung der FSH-induzierten Follikulogenese und Aromataseaktivität zurückzuführen sein. Da AMH das FSH-induzierte Follikelwachstum und die Genexpression der Aromatase hemmt, haben wir untersucht, ob die MTHFR-677C>T-Mutation einen Einfluss auf die AMH-Konzentration im Serum hat.

Es wurden 92 Patientinnen untersucht, bei denen aufgrund männlicher Subfertilität (n = 49) oder tubarer Sterilität

(n = 43) eine IVF oder ICSI durchgeführt wurde. Die kontrollierte Hyperstimulation fand mit rekombinantem FSH im „long protocol“ statt. Die Blutentnahme zur AMH-Bestimmung erfolgte nach Downregulation und vor Beginn der Stimulation. Die AMH-Bestimmung wurde mittels ELISA-Kit gemessen und die MTHFR-Genotypisierung mittels PCR-RFLP durchgeführt.

Die MTHFR-Genotypen waren folgendermaßen verteilt: C/C: n = 36; C/T: n = 41; T/T: n = 15. Die AMH-Serumkonzentration homozygoter T/T-Individuen war mit $2,34 \pm 1,48$ ng/ml signifikant höher als bei C/C-Wildtyp ($1,25 \pm 0,89$ ng/ml; p = 0,012) und heterozygoten (C/T) Patientinnen ($1,53 \pm 1,44$ ng/ml; p = 0,047).

Die signifikant erhöhten AMH-Serumkonzentrationen bei T/T-Patientinnen könnten über die resultierende Hemmung der FSH-induzierten Aromataseaktivität die von uns gezeigte Minderung der Estradiolproduktion bei T/T-Individuen miterklären.

EXPRESSION OF VEGF, PLGF, FLT-1, AND FLK-1 IN HUMAN CHORION VILLI OF EARLY GESTATIONAL AGE AND CORRELATION WITH PREGNANCY OUTCOME

A. N. Schüring, B. Krause, R. Schmitz, W. Klockenbusch, L. Kiesel, J. Steinhard
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Introduction: Altered angiogenesis compromising placental development and function is considered a key element in the etiology of frequent pregnancy disorders, e. g. pre-term birth, pre-eclampsia and abnormal fetal growth. Whereas the correlation of angiogenic factors with pregnancy outcome has been analyzed in serum and placental tissue after birth, their role in placental tissue of early, ongoing pregnancies has not been investigated. We studied the expression of angiogenic factors in chorion villi of ongoing pregnancies and correlated findings with pregnancy outcome.

Material and Methods: Placental specimens were derived by chorion villi biopsy during pre-natal diagnostics from

October 29 to April 22, 2003 in the Department of Prenatal Medicine at the University Clinic of Münster. Tissue not used for routine diagnostics was acquired for the study. Correlation with fetal weight at birth was performed in the group of 119 live births. Specimens underwent an antigen demasking process and were immunostained with Anti-Human VEGF, Anti-Human PlGF, Anti-Human Flt-1 and Anti-Human Flk-1. Staining intensities of chorion villi were analyzed microscopically (CON) and with a newly developed computer assisted method using Image-Pro® Plus (CASCA). The non-parametric Wilcoxon test, the Mann Whitney U-test and the non-parametric Kruskal Wallis test were used to compare groups. A p < 0.005 was considered as statistically significant. ROC (receiver operating curve) analysis, analysis of sensitivity, specificity and positive and negative likelihood quotient and univariate parametric discrimination analysis and the calculation of relative risk were performed to test for eligibility of the studied parameters as a diagnostic test.

Results: Comparing staining intensities of normotrophic, hypotrophic and hypertrophic newborns, VEGF (CASCA), VEGF (CON), PlGF (CASCA), PlGF (CON) and Flk-1 (CASCA), the group of hypotrophic children displayed the least staining intensity, normal weight children represented a middle position and hypertrophic children showed the strongest intensity. Flt-1 (CON) and Flt-1 (CASCA) showed the lowest intensity in normotrophic children, whereas hypotrophic and hypertrophic children showed stronger and comparable intensities. Staining intensities were significantly different for VEGF (CASCA) comparing the hyper- with normotrophic children (p = 0.043) and for PlGF (CASCA), comparing the hypo- with the normotrophic children (p = 0.036). Analyzing staining intensities of hypotrophic newborns compared with all other newborns including the hypertrophic children, the significant differences could be confirmed for PlGF (CASCA) (p = 0.019). For VEGF (CASCA), the integral below the ROC curve was 0.65 and for PlGF (CON), the integral under the ROC curve was 0.63.

Conclusion: As a novelty, this study analyses the expression of angiogenic factors in chorion villi of ongoing pregnancies

Table 1: A. N. Schüring et al. Eligibility as a diagnostic test of PlGF and VEGF predicting abnormal birth weight.

	PlGF (CON)	VEGF (CASCA)
Sensitivity (%)	94.12	52.63
Specificity (%)	25.3	65.06
Positive likelihood quotient	1.26	1.51
Negative likelihood quotient	0.23	0.73
Relative risk	4.51	1.79

derived at routine chorion villi biopsy. We observed significant correlations of the expression of angiogenic factors with pregnancy outcome, e. g. abnormal birth weight. The precision of correlations is underlined by the fact that some of the studied parameters showed theoretical eligibility for a diagnostic test predicting these prevents (**Tab. 1**).

ANGIOGENESE UND LYMPHANGIOGENESE IN HUMANEN EKTOPISCHEN ENDOMETRIALEN LÄSIONEN IN IMMUNDEFIZIENTEN MAUS-MODELLEN

L. Söhngen¹, M. Schmidt², R. Kimmig², E. Winterhager¹, R. Grümmer¹
¹Institut für Molekularbiologie und ²Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Essen

Einleitung: Mit einer Prävalenz von 15–20 % der gebärfähigen Frauen ist die Endometriose eine der führenden benignen gynäkologischen Erkrankungen. Die Symptomatik beinhaltet starke Unterbauchschmerzen, Dyspareunie und eine verminderte Fertilität. Da die gängigen medikamentösen Therapien eine hohe Rezidivrate sowie starke Nebenwirkungen aufweisen, ist die Entwicklung neuer, spezifischerer Therapieansätze wünschenswert. Ein wesentlicher Parameter für die Entwicklung und Persistenz endometrialer Läsionen und damit ein mögliches Target für neue innovative Therapieansätze ist die Angiogenese. Im Gegensatz dazu ist die mögliche Rolle von Lymphgefäßen für die Pathogenese der Endometriose noch unbekannt.

Methode: Humanes proliferatives Endometrium wurde subkutan (s.c.) und in-

traperitoneal (i.p.) in immundefiziente Mäuse (Rag1^{-/-} und Nacktmäuse) implantiert und über einen Zeitraum von bis zu 12 Wochen kultiviert. Während Nacktmäusen funktionelle T-Lymphozyten fehlen, weisen Rag1^{-/-}-Mäuse zusätzlich einen B-Zell-Defekt auf. Nach 4, 8 und 12 Wochen wurden die Läsionen histologisch aufgearbeitet. Die Darstellung von Gefäßendothelien der invadingen Wirtsgefäße erfolgte immunhistochemisch mittels eines CD31-Antikörpers, die Lokalisation von Perizyten reifer Gefäße mit anti-alpha-Smooth muscle actin und Lymphgefäße wurden mit Hilfe des gegen den Hyaluronsäurerezeptor der Lymphgefäßendothelzellen gerichteten Antikörpers Lyve-1 gefärbt und quantitativ ausgewertet.

Ergebnisse: Die in die Mäuse implantierten humanen endometrialen Läsionen zeigten über den beobachteten Zeitraum von bis zu 12 Wochen unabhängig von der Lokalisation (s.c. oder i.p.) und vom Mausstamm eine gut erhaltene Morphologie. Die Einsprossung von Blut- sowie auch von Lymphgefäßen zeigte sich in den intraperitoneal implantierten Läsionen deutlicher als nach subkutaner Implantation, wobei die Hämangiogenese generell stärker war als die Lymphangiogenese. Interessanterweise zeigte sich bei den intraperitoneal in Rag1^{-/-}-Mäusen, nicht aber in den in Nacktmäusen kultivierten Fragmenten nach 12 Wochen eine Verschiebung von unreifen zu reifen, von Perizyten umgebenen Blutgefäßen.

Schlussfolgerungen: Humane endometriale Läsionen können über einen Zeitraum von 12 Wochen erfolgreich in immundefizienten Mäusen kultiviert werden. Es konnte ein Einwachsen sowohl von Blut- als auch von Lymphgefäßen in die ektopischen Läsionen nachgewiesen werden. Hierbei zeigte sich nach längerer intraperitonealer Kultur in dem in Rag1^{-/-}-Mäusen kultivierten Endometrium eine höhere Anzahl reifer, von gefäßstabilisierenden Perizyten umgebener Blutgefäße als in dem in Nacktmäusen kultivierten humanen Gewebe.

YB-1-EXPRESSION BEI ENDOMETRIOSE

C. Thaler, S. Djalali, A. Agic, D. Finas, K. Diedrich, D. Hornung
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe,
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein,
Campus Lübeck

Einleitung: Die Endometriose zählt zu den häufigsten benignen gynäkologischen Erkrankungen. Sie ist charakterisiert durch Ausbreitung und Wachstum von endometrialem Gewebe außerhalb des Endometriums, also z. B. in Myometrium, Eileitern, Ovarien oder Organen des Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes.

Das Y-Box-bindende Protein (YB-1) ist ein stressregulierter Transkriptionsfaktor, der die Expression unterschiedlicher Gene steuert, die für DNA-Synthese und Zellwachstum relevant sind. Bisher wurde eine erhöhte Expression von YB-1 u. a. in Mamma-, Bronchial-, Prostata-, Ovarial- und hepatozellulären Karzinomen sowie im Rahmen inflammatorischer Prozesse nachgewiesen. In unserer Studie wurde diese YB-1-Überexpression erstmals auch bei Endometriose festgestellt.

Material und Methoden: Der Nachweis von YB-1 aus ektopem Endometriosegewebe sowie aus Endometrium von Frauen mit und ohne Endometriose erfolgte auf Proteinebene durch Immunhistologie, Immunzytologie (nach Zellkultur von Epithel- und Stromazellen) und Western Blot. YB-1-mRNA-Mengen wurden bestimmt durch quantitative RT-PCR von Gesamtgewebe, Zellkulturen (Epithel und Stroma getrennt) sowie von Endometrium-Epithel und -Stroma, welches durch Mikrodissektion getrennt wurde.

Resultate: Immunhistochemisch konnte im glandulären Anteil des Endometriums eine deutlich stärkere Expression von YB-1 als im stromalen Anteil nachgewiesen werden, wobei das Gewebe von Patientinnen mit Endometriose eine signifikant stärkere Färbung im Vergleich zu dem Gewebe von Frauen ohne Endometriose zeigte. Immunzytochemisch fand sich ebenfalls signifikant mehr YB-1 in Epithelzellen als im Stroma. Die quantitative Bestimmung von YB-1-mRNA mittels RT-PCR aus nativem Endometrium ergab eine um 65 % erhöhte Expression bei Endometriose- im Vergleich zu Kontrollpatientinnen. Für eine

differenziertere Darstellung wurden primäre Zellkulturen jeweils aus Epithel- und Stromazellen angelegt und wiederum mittels RT-PCR untersucht. Im epithelialen Teil des Endometriums von Endometriosepatientinnen war die YB-1-Expression um 40 % höher als bei Kontrollpatientinnen.

Zusammenfassung: Die erhöhte YB-1-Expression bei Frauen mit Endometriose könnte durch die ausgeprägte metabolische und proliferative Aktivität des endometrialen Drüsenepithels erklärt werden. YB-1 wurde außerdem als wichtiger Faktor in der Pathogenese maligner Tumoren beschrieben. Ein Zusammenhang zwischen p53-Mutationen und YB-1-Expression wurde vermutet. YB-1 ist ein Zellzyklus-regulierter Faktor für die Transkription und Translation. Durch YB-1 kann z. B. auch die Transkription des Proteins CCL5 (RANTES) stimuliert werden, welches die inflammatorische Dimension von Endometriose belegt.

POLYMORPHISMEN IM LEPTIN-, LEPTIN-REZEPTOR- UND PPARGAMMA-GEN BEI HYPERTENSIVEN SCHWANGERSCHAFTS-ERKRANKUNGEN

A. Wiedemann¹, F. Vocke¹, C. Deppe¹, K. Friese¹, P. Lohse², B. Toth¹
¹Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauenheilkunde, Klinikum der Universität München-Großhadern, ²Institut für Klinische Chemie der Universität München

Einleitung: Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen (SH, Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom) betreffen 10–15 % aller Schwangerschaften. Ursachen und Risikofaktoren für deren Auftreten sind bis heute nicht vollständig geklärt. Leptin und Peroxisomen-Proliferator-aktivierter Rezeptor γ (PPAR γ) spielen eine wesentliche Rolle bei der Plazentation und fetalen Entwicklung, weshalb in dieser Studie Polymorphismen im Leptin-, Leptin-Rezeptor- (LepR-) und PPAR γ -Gen bei Patientinnen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen analysiert wurden.

Methoden: Mittels PCR und Restriktionsverdau wurde die Häufigkeit des Leptin-Tetranukleotid-Repeat (TTTC)_n-, LepR Q223R- und PPAR γ P12A-Geno-

typs bei 103 Patientinnen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (SIH n = 39, Präeklampsie n = 27, Eklampsie n = 5, HELLP n = 32) im Vergleich zu 100 Kontrollpatientinnen (unauffälliger Schwangerschaftsverlauf) bestimmt. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Chi-Square-, Mann-Whitney-U- und Kruskal-Wallis-Test ($p < 0,05$ signifikant).

Ergebnisse: Die Genotyp-Frequenzen der Patienten- und Kontrollgruppe und der einzelnen Patientengruppen wiesen keinen statistisch signifikanten Unterschied auf (Leptin [TTTC]_n: $p = 0,43$; LepR Q223R: $p = 0,94$; PPAR γ P12A: $p = 0,94$). Klinisch zeigte sich bei homozygoten Trägern der LepR-Q223R-Substitution ein niedrigerer diastolischer Blutdruck im postpartalen Verlauf (vs.

Heterozygote $p = 0,02$ vs. Wildtypen $p < 0,01$).

Zusammenfassung: Es konnte kein Zusammenhang zwischen Polymorphismen im Leptin-, LepR- und PPAR γ -Gen und hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen gefunden werden. Aufgrund der niedrigen Fallzahl sind jedoch weitere Untersuchungen geplant.

VERZEICHNIS DER ERSTAUTOREN IN ALPHABETISCHER REIHENFOLGE

Baston-Büst DM	364	Keck K	367	Schüring AN	370
Gellersen B	364	Khachaturyan L	368	Söhngen L	370
Gellhaus A	365	Neubeck S	368	Thaler C	371
Germeyer A	366	Schanz A	368	Wiedemann A	371
Götte M	366	Schneider A	369		
Hess AP	367	Schröder A	369		

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

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