

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



**10. Arbeitskreis der Deutschen Gesellschaft für
Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin
(DGGEF) - 5.-6. November 2010, Düsseldorf. Abstracts**

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2011; 8 (1), 32-38

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



10. Arbeitskreis der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin (DGGEF)

5.–6. November 2010, Düsseldorf

Abstracts*

Einführung

Das jährliche Treffen des Arbeitskreises Molekularbiologie der DGGEF feierte 2010 in seiner Gründungsstadt Düsseldorf sein 10-jähriges Jubiläum. Dieses Arbeitskreistreffen ist in den vergangenen Jahren zu einer der wichtigsten Austauschplattformen gerade für junge Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die sich mit molekularbiologischen Grundlagen der Reproduktionsbiologie und -physiologie beschäftigen, geworden, was sich auch diesmal wieder in der hohen Teilnehmeranzahl und der außerordentlichen wissenschaftlichen Qualität der Vorträge widerspiegelte. Empfehlungen der Teilnehmer ehemaliger Treffen sowie daraus entstandener Kooperationen haben auch 2010 wieder dazu geführt, dass nicht nur Gynäkologen und Reproduktionsbiologen, sondern auch Veterinärmediziner, Biochemiker, Physiker und Physiologen an dem Treffen teilgenommen und dieses mit ihren unterschiedlichen Spektren des Reproduktionsgeschehens bereichert haben.

Der Eröffnungsvortrag wurde auf Einladung der Veranstalter von Frau **Professor Petra Arck** vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf zum Thema „Die Weiche zu Gesundheit oder Krankheit: Mechanismen der Prägung des Kindes in utero“ gehalten. Wie in jedem Jahr wurde von der Firma Merck-Serono ein Preis für den besten Vortrag ausgelobt. Der Preis in Höhe von € 500,- wurde an Frau **Kristina Schädlich** vom Institut für Anatomie und Zellbiologie der Martin-Luther-Universität zu Halle für den sehr aktuellen Vortrag „Störung der *De-novo*-Methylierung und des Metabolismus embryonaler Zellen durch DEHP und PCBs“ verliehen.

Die Auswahlbegutachtung der wissenschaftlichen Abstracts erfolgte durch die Organisatoren des Treffens, Dr. Alexandra Hess und Professor Jan-Steffen Krüssel. Die Vergabe des Preises erfolgte, wie bei diesem Arbeitstreffen üblich, durch geheime Wahl der Teilnehmer.

Dr. Alexandra Hess, Professor Jan-Steffen Krüssel
Organisationskomitee

Regulation von Chemokinese und Chemotaxis in undifferenzierten und dezidualisierten endometrialen Stromazellen

M. Schwenke¹, A. Wolf², A. M. Bamberger²,
B. Gellersen¹

¹Endokrinologikum Hamburg; ²Arbeitsgruppe Endokrinologie und Stoffwechsel des Alters, Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf

Die menschliche Plazenta wird durch einen maternalen und einen fötalen Teil gebildet und setzt hierfür das Eindringen der Blastozyste und die Invasion der extravillösen Trophoblastzellen in die Dezidua voraus. Unsere Gruppe zeigte, dass die Dezidua dabei kein passives Gewebe darstellt, sondern ihre Zellen ebenfalls Motilität aufweisen [1]. Wir postulieren, dass dezidualisierte Zellen aktiv um die Blastozyste herumwandern und diese einschließen. Ziel dieser Studie war es, mithilfe von Migrationsassays die Regulation

gerichteter und ungerichteter Motilität endometrialer Stromazellen durch lokale Faktoren zu untersuchen.

Als Zellmodell wurde die immortalisierte endometriale Stromazell-Linie St-T1b verwendet [2]. Die Dezidualisierung erfolgte durch 5-tägige Behandlung mit 8-Br-cAMP und Medroxyprogesteronacetat. Für die Untersuchung der Chemotaxis wurde der klassische Transwell-Migrationsassay, für die Chemokinese der Oris-Migrationsassay angewendet. Getestet wurden die Faktoren PDGF-BB, HB-EGF, IL-1 β und rekombinantes hCG. Des Weiteren wurden undifferenzierte und dezidualisierte St-T1b Zellen für 10 bzw. 30 Minuten mit obigen Faktoren stimuliert, um Hinweise auf involvierte Signalwege für die Motilität zu erhalten. Die Phosphorylierung von p38, PDK1, Akt, ERK1/ERK2 und NF- κ B wurde mittels Western-Blot verfolgt.

Im Transwell-Migrationsassay erwiesen sich PDGF-BB und HB-EGF als chemotaktisch wirksam. Hierbei war die Motilitätssteigerung bei dezidualisierten Zellen höher als bei undifferenzierten Zellen. Im Oris-Migrationsassay löste PDGF-BB als einziger Faktor Chemokinese aus.

Die Kurzstimulation zeigte, dass IL-1 β die p38-Aktivierung sowohl in undifferenzierten

als auch in differenzierten Zellen auslöste. IL-1 β erhöhte außerdem die Phosphorylierung von NF- κ B. Alle Faktoren außer rekombinantem hCG bewirkten eine kurzfristige Aktivierung von ERK1/ERK2, wobei dezidualisierte Zellen im Vergleich zu undifferenzierten Zellen stärker auf HB-EGF ansprachen. PDGF-BB bewirkte eine Phosphorylierung von Akt an Ser473.

Dezidualisierte Zellen sprechen stärker auf chemotaktische Reize an als undifferenzierte Zellen. Die Rolle der an der Motilität beteiligten Kinasen ist noch nicht abschließend geklärt. Es wurde aber bereits ein Zusammenhang zwischen der ERK1/ERK2-Aktivierung durch Wachstumsfaktoren und der Migration undifferenzierter endometrialer Stromazellen berichtet [3].

Literatur:

1. Gellersen B, Reimann K, Samalecos A, Aupers S, Bamberger AM. Hum Reprod 2010; 25: 862–73.
2. Samalecos A, Reimann K, Wittmann S, Schulte HM, Brosens JJ, Bamberger AM, Gellersen B. Reprod Biol Endocrinol 2009; 7: 76.
3. Gentilini D, Busacca M, Di Francesco S, Vignali M, Vigano P, Di Blasio AM. Mol Hum Reprod 2007; 13: 317–22.

* Begutachtet und zusammengestellt von den Organisatoren Dr. Alexandra Hess und Professor Jan-Steffen Krüssel.

Ein alphabetisches Verzeichnis der Erstautoren finden Sie auf Seite 38.

AKT-Phosphorylierung und Modulation der Insulin- und IGF-I- und -II-Rezeptor-Genexpression in dezidualisierten endometrialen Stromazellen nach Insulin-, IGF-I- und -II-Stimulation unter Metformin

A. Germeyer¹, J. Jauckus¹, H. Colet², E. Capp², B. Toth¹, T. Strowitzki¹

¹Abteilung Gynäkologische Endokrinologie, Universität Heidelberg, Deutschland; ²Abteilung Gynäkologie und Geburtshilfe, Universität Rio Grande de Sul, Porto Alegre, Brasilien

Insulin und die Wachstumsfaktoren IGF I und II spielen eine wichtige Rolle bei der fetomaternalen Interaktion während der Implantation. Über parakrine Interaktionswege beeinflussen die embryonalen Zellen mit diesen Botenstoffen die Zusammensetzung des endometrialen Mikromilieus, während die maternalen Zellen die Embryonen in ihrem Wachstum und der weiteren Entwicklung durch diese Mediatoren unterstützen. Metformin, ein Antidiabetikum, welches unter anderem bei Frauen mit polyzystischen Ovarien und Insulinresistenz zur Verbesserung der Ovulation eingesetzt wird, kann möglicherweise auch auf diese frühe Kommunikation einwirken. Ziel dieser Untersuchung ist es daher, den Einfluss von Metformin auf maternalen Seite anhand von endometrialen Stromazellen in vitro unter dem Einfluss von Insulin, IGF I und II im Hinblick auf den Insulin- und IGF-Stoffwechsel näher zu untersuchen.

Der lokale Metformineffekt wird auf die AKT-Phosphorylierung (ein im Endometrium vorhandener Signaltransduktionsweg von Insulin, IGF I und II) und die Genexpression von Insulinrezeptor, IGF-I- und -II-Rezeptoren in dezidualisierten Stromazellen unter der Stimulation mit Insulin, IGF I und IGF II näher untersucht.

Nach Einverständniserklärung wurden endometriale Biopsien von 5 gesunden, regelmäßig menstruierenden Frauen (Ethikkommission der Universität Heidelberg), ohne hormonelle Substitution und ohne Anhalt auf Endokrinopathien oder sonstige endometriale Veränderungen entnommen. Nach typischer Isolation der Stromazellen wurden diese nach 2-maliger Passage mit 17 β -Estradiol (10 nM), Progesteron (1 μ M) und Zugabe von 20 ng/ml EGF mit oder ohne 1 mmol/l Metformin dezidualisiert. Nach Bestätigung der Dezidualisierung anhand der Prolaktinmessung im Überstand erfolgte die Behandlung mit jeweils 100 ng/ml Insulin, IGF I oder IGF II.

Für die Realtime-PCR kamen Tagman Primer der Firma R&D Systems zum Einsatz, der Western-Blot wurde mit Kaninchen-AKT-Antikörpern der Firma New England Biolab durchgeführt und photometrisch ausgewertet. Die anschließende statistische Analyse der Ct-Werte und Photometrie erfolgte mittels Student's-T-test, dabei wurde $p < 0,05$ als statistisch signifikant festgelegt.

Die Dezidualisierung, gemessen anhand der Prolaktinkonzentrationen im Zellüberstand

nach 14-tägiger Hormongabe, war nach Zugabe von Metformin deutlich reduziert. Auf RNA-Expressionsebene der individuellen Rezeptoren wurde nach Zugabe von Insulin, IGF I und II bereits nach 6 Stunden eine deutliche Reduktion der Genexpression von den Rezeptoren verzeichnet, die für den Insulin- und IGF-I-Rezeptor statistisch signifikant war, während erst durch Zugabe von Metformin die statistische Signifikanz für den IGF-II-Rezeptor erreicht wurde. Nach 24 Stunden verstärkte sich dieser Effekt der Genexpressionsreduktion aller Rezeptoren weiter. Bei Dezidualisierung unter Metformin ohne Zugabe von den Stimulanzen zeigte sich keine statistisch signifikante Regulation gegenüber der Kontrolle ohne Metformin. Nach Zugabe der Stimulanzen kam es lediglich zu einer leicht verstärkten Reduktion der Genexpression der untersuchten Rezeptoren. Bei der Analyse der AKT-Kaskade zeigte sich eine signifikant ansteigende AKT-Phosphorylierung unter dem Einfluss von Insulin, IGF I und IGF II in dezidualisierten endometrialen Stromazellen bereits nach 1 min, die im Verlauf der ersten 10 Minuten weiterhin nachweisbar war. Die Metforminzugabe während der Dezidualisierung hatte keinen Einfluss auf die AKT-Phosphorylierung.

Der lokale Zucker-/Insulinstoffwechsel im Endometrium wird durch Metformin beeinflusst. Die eigentliche Wirkungsweise von Metformin muss jedoch noch durch weiterführende Untersuchungen geklärt werden.

TNF- α und IFN- γ zeigen ein spezielles Interaktionsmuster in humanen endometrialen Stromazellen

A. Oemus, M. Zygmunt, H. Fluhr

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Greifswald

Störungen der Implantation des Embryos im maternalen Endometrium können Ursache für Implantationsversagen, frühe Fehlgeburten und Komplikationen im Verlauf der Schwangerschaft sein. Die beiden Zytokine TNF- (tumor necrosis factor-) α und IFN- (interferon-) γ sind Produkte dezidualer NK- (natural killer-) Zellen und weisen inflammatorische Effekte auf, welche den Implantationsvorgang beeinflussen können. Die Arbeitsgruppe konnte bereits zeigen, dass nur ihre Kombination, aber nicht eines der beiden Zytokine alleine, humane endometriale Stromazellen (ESCs) für Fas-vermittelte Apoptose sensibilisiert. In dieser Arbeit wird daher die Interaktion von TNF- α und IFN- γ sowie der beteiligten Signalwege genauer charakterisiert.

Humane endometriale Stromazellen wurden aus Hysterektomiepräparaten isoliert und in vitro mittels Inkubation mit 17 β -Östradiol und Progesteron dezidualisiert. Anschließend erfolgte eine simultane oder sequenzielle Stimulation der Zellen mit IFN- γ und/oder TNF- α . Mittels ELISA und Realtime-RT-PCR wurden die Sekretion und Expression von LIF (leukemia inhibitory factor) und RANTES (regulated and activated nor-

mal T-cell expressed and secreted) gemessen. Die Aktivierung (Phosphorylierung) von STAT- (signal transducer and activator of transcription-) 1 und NF- (nuclear factor-) κ B p65 wurde mit einem In-Cell-Western-Assay bestimmt.

Es konnte gezeigt werden, dass IFN- γ -ESCs für eine TNF- α -vermittelte Hochregulation von RANTES sensibilisiert. Auf Proteinebene war diese Interaktion am stärksten ausgeprägt, wenn beide Zytokine gleichzeitig (und nicht sequenziell) vorhanden waren. Im Hinblick auf LIF scheint IFN- γ auf eine TNF- α -vermittelte Induktion jedoch eher gegenregulatorisch zu wirken. Interessanterweise wurde die TNF- α -vermittelte Phosphorylierung von NF κ B p65 nicht durch IFN- γ beeinflusst. Auch TNF- α hatte keinen Einfluss auf die durch IFN- γ -vermittelte Phosphorylierung von STAT1.

Die beiden inflammatorischen Zytokine TNF- α und IFN- γ zeigen ein spezielles Interaktionsmuster in ihrer Wirkung auf das humane Endometrium. Da beide Faktoren für die Pathogenese des wiederholten Implantationsversagens und habitueller Aborte wichtig sind, kann ein tieferes Verständnis ihrer molekularen Wirkungsweise und möglicher Interaktionen der Signalwege neue therapeutische Ansatzpunkte in der Reproduktionsmedizin aufzeigen.

Heparin interagiert mit dem IFN- γ -Signalweg in humanen endometrialen Stromazellen durch Hemmung der Bindung von IFN- γ an die Zelle

J. Spratte, M. Zygmunt, H. Fluhr

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Greifswald

Das inflammatorisch wirkende Zytokin Interferon- (IFN-) γ wird von dezidualen NK- (natural killer-) Zellen produziert und hat modulierenden Einfluss auf die endometriale Dezidualisierung sowie die Implantation des Embryos. Es ist davon auszugehen, dass IFN- γ in der Pathophysiologie von wiederholtem Implantationsversagen und habituellen Aborten eine wichtige Rolle spielt. Unfraktioniertes Heparin (UFH) und niedermolekulare Heparine (NMH) werden häufig in der Kinderwunschbehandlung eingesetzt und scheinen die Implantationsraten zu verbessern. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss von Heparinen auf den IFN- γ -Signalweg in humanen endometrialen Stromazellen (ESCs) in vitro untersucht.

Aus Hysterektomiepräparaten von prämenopausalen Frauen wurden ESCs isoliert und in vitro mit 17 β -Östradiol und Progesteron dezidualisiert. In verschiedenen Experimenten wurden die Zellen mit IFN- γ mit/ohne UFH bzw. NMH inkubiert. Mittels Realtime-RT-PCR wurde die Expression von IRF- (interferon response factor-) 1 und Nmi (N-myc interactor) bestimmt. Die Expression des IFN- γ -Rezeptors wurde durchflusszytometrisch gemessen. Zur Bestimmung der Aktivierung (Phosphorylierung) von STAT-

(signal transducer and activator of transcription-) 1 wurde ein In-Cell-Western-Assay verwendet, die Bindung von $\text{INF-}\gamma$ wurde mithilfe eines ELISA gemessen.

UFH und NMH hemmen dosisabhängig die $\text{INF-}\gamma$ -vermittelte Hochregulation von IRF-1 sowohl in undifferenzierten als auch in dezidualisierten ESCs. Demgegenüber wird die $\text{INF-}\gamma$ -induzierte Expressionssteigerung von Nmi nicht von Heparinen beeinflusst. Die Phosphorylierung von STAT-1 nach $\text{INF-}\gamma$ -Inkubation wird ebenfalls dosisabhängig von UFH inhibiert. Heparine haben jedoch keinen Effekt auf die Expression des $\text{INF-}\gamma$ -Rezeptors, sondern stören die Bindung von $\text{INF-}\gamma$ an die Zelle.

Sowohl UFH als auch NMH sind in der Lage, den $\text{INF-}\gamma$ -Signalweg in ESCs zu hemmen. Diese klinisch gut etablierten Substanzen können somit ein wahrscheinlich pathophysiologisch relevantes inflammatorisches Milieu im Endometrium modulieren. Heparine stellen daher einen interessanten pharmakologischen Ansatz zur Behandlung von Frauen mit wiederholtem Implantationsversagen oder habituellen Aborten dar.

Einfluss des Ko-Rezeptors Syndecan-1 auf die Expression Apoptose-beteiligter Proteine in humanen dezidualisierten endometrialen Stromazellen

*S. J. Bökdeker, D. M. Baston-Büst, O. Altergot, J. S. Krüssel, W. Janni, A. P. Hess
UniKid-Universitätsfrauenklinik, Düsseldorf*

Die Embryoimplantation als entscheidende Voraussetzung für das Eintreten einer Schwangerschaft lässt sich bei Arten mit hämochorialer Plazentation, wie dem Menschen, in 3 aufeinanderfolgenden Phasen einteilen. Nach der Apposition und Adhäsion der freien Blastozyste an das Endometrium folgt die Wanderung durch das Epithel und die Invasion in das endometriale Stroma. Vorherige Untersuchungen zeigten, dass die Invasion mit dem apoptotischen Zelltod maternaler Deziduazellen verbunden ist und dass das Fas-Rezeptor/Fas-Ligand- (Fas/FasL-) System daran beteiligt zu sein scheint. Genaue Signalmechanismen, die der Trophoblast-induzierten Apoptose zugrunde liegen, sind aber noch unklar.

Es wurde die immortalisierte humane endometriale Stromazell-Linie St-T1 verwendet, um die Expression 35 verschiedener Apoptose-beteiligter Proteine nach 72-stündiger Dezidualisierung mit Progesteron und cAMP zu untersuchen. Weiterhin wurde ein Einfluss des Heparansulfat Proteoglykans Syndecan-1 (Sdc-1) auf die Proteinexpression mittels einer Knockdown-Stromazell-Linie untersucht. Syndecane sind Ko-Rezeptoren, die die Bindung von Chemokinen an deren eigentliche Rezeptoren erleichtern. Wir vermuten, dass Sdc-1 eine wichtige Funktion bei der embryonalen Implantation besitzt, weil Chemokine vom dezidualisierten Stroma gebildet werden. Ferner zeigen Sdc-1-

Knockout-Mäuse einen reproduktiven Phänotyp mit geringerer Trächtigkeitsrate und Wurfgröße.

Erste Ergebnisse zeigen, dass der Sdc-1-Knockdown in dezidualisierten endometrialen Stromazellen eine veränderte Expression Apoptose-beteiligter Proteine zur Folge hat. Besonders hoch wurde Fas exprimiert, während er in den St-T1-Zellen kaum detektiert werden konnte. Darüber hinaus war die Expression des TNF-Rezeptors I und zweier Proteine der Bcl-2-Familie in den Knockdown-Zellen signifikant höher. Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass Sdc-1 die Expression Apoptose-beteiligter Proteine während der Dezidualisierung beeinflusst und daher eine wichtige Rolle bei der regelrechten Embryoimplantation spielt.

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft HE3544/2-2 (APH).

Regulation des VEGF-Systems in endometrialen Stromazellen: Untersuchungen zur mRNA-Expression der Rezeptoren VEGFR1 und sFlt-1

*A. K. Volkmer, D. M. Baston-Büst, J. Hirchenhain, W. Janni, A. P. Hess, A. Schanz, J. S. Krüssel
UniKid-Universitätsfrauenklinik, Düsseldorf*

Der Wachstumsfaktor VEGF ist bei der physiologischen Angiogenese im weiblichen Reproduktionssystem von entscheidender Bedeutung. Im menschlichen Endometrium wird VEGF in allen Zelltypen und in allen Phasen des Menstruationszyklus exprimiert mit einem Maximum in der Sekretionsphase, folglich dem Zeitpunkt der embryonalen Implantation. Die Regulation von VEGF und seiner Rezeptoren VEGFR1 und sFLT-1 während der embryonalen Implantation ist bislang unzureichend geklärt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Regulation des VEGF-Systems in primären endometrialen Stromazellen ($n = 19$) auf Ebene der mRNA-Expression der Rezeptoren VEGFR1 und sFLT-1 unter Kultur über 12 Tage mit E_2 10^{-8}M und P 10^{-6}M zu untersuchen. Die Dezidualisierung wurde mittels Prolaktin mRNA-Nachweis verifiziert.

Es konnte gezeigt werden, dass Estradiol (E_2) und Progesteron (P) die mRNA-Expression von VEGFR1 signifikant senken, eine zusätzliche VEGF-Substitution (10 ng/ml) dagegen keinen weiteren Effekt hat. Die Zugabe von VEGF-AK bewirkt eine Steigerung der Expression der VEGFR1-mRNA. Die Expression der mRNA des Antagonisten sFLT-1 zeigt keine Änderung durch die Zugabe von E_2 und P . Ebenso hat die Ko-Inkubation von VEGF und VEGF-AK keinen regulierenden Einfluss auf die sFLT-1-mRNA-Expression. Daher vermuten wir, dass die Regulation von VEGF-Rezeptoren im rezeptiven, dezidualisierten Endometrium nicht überwiegend durch die endometrialen Stromazellen vermittelt wird, sondern durch andere Zelltypen, wie zum Beispiel durch das

Epithel der Drüsen oder Endothelzellen der endometrialen Gefäße.

Erkenntnisse zur Regulation des VEGF-Systems können den Angriffspunkt neuer Therapiekonzepte zur Behandlung von angiogeneseabhängigen Erkrankungen wie der Tumorgenese, der Präeklampsie oder der Endometriose darstellen.

ADAM12 und Dysferlin in humaner Plazenta

*M. Weber, U. R. Markert, J. S. Fitzgerald
Placenta Labor, Abteilung für Geburtshilfe, Universitätsklinikum Jena*

ADAM12 (a disintegrin and metalloproteinase domain 12; meltrin a) ist eine katalytisch aktive Metalloprotease und ein Disintegrin. Dieses Protein spielt eine Rolle bei der Myoblastfusion und der Osteoklastenentstehung. In der Plazenta hat ADAM12 verschiedene Funktionen – eine von diesen scheint die Regulation der (Synzytio-) Trophoblastfusion zu sein.

Dysferlin ist ein jüngst beschriebenes Fusionsprotein in der Plazenta. Dieses Protein ist bekannt dafür, dass es an der Fusion von Muskelzellen beteiligt ist und bei diesem Prozess als „Klebstoff“ in den Zellmembranen fungiert, wobei zuvor die Zellmembran aufgelöst werden muss, um den Fusionsprozess zu ermöglichen. Zurzeit wird vermutet, dass es eine ähnliche Funktion in den Syncytiotrophoblasten übernimmt, nachdem die Fusion stattgefunden hat.

Daher verglichen wir die Expression von ADAM12 und Dysferlin in gesunden aus Termingeburten stammend Plazenten.

Wir analysierten termingerechte Plazenten ($n = 10$). Alle Proben wurden in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet, um anschließend ADAM12 und Dysferlin mittels Immunperoxidase zu detektieren. Es folgte eine Fluoreszenz-Doppelfärbung mit ADAM12 und Cytokeratin-7.

ADAM12 konnte in allen Proben detektiert werden. Wie zuvor bereits berichtet, war die ADAM12-Expression in den villösen Trophoblastzellen der normalen Plazenten intensiv. Ein bisher noch nicht beschriebenes Ergebnis war die ebenso intensive Färbung von extravillösen Trophoblastzellen, was vermuten lässt, dass ADAM12 am Prozess der Invasion beteiligt ist. Außerdem waren Trophoblastzellen im Bereich der Gefäße sowie zum Teil endovaskuläre Trophoblastzellen ADAM12 positiv.

Dysferlin ist in den Syncytiotrophoblastzellen als eine Linienstruktur nur unterhalb der Zellmembran sehr intensiv sichtbar. Darüber hinaus konnten wir Dysferlin in den extravillösen Trophoblasten detektieren, aber mit zytoplasmatischer Verteilung. Die die Deziduagefäße umgebenden Trophoblastzellen (mutmaßlich endovaskuläre Trophoblastzellen) zeigen ein ähnliches streifiges Muster der Dysferlin-Expression wie Syncytiotrophoblastzellen.

ADAM12 wird in termingerechten Plazenten in verschiedenen Bereichen exprimiert. Invasive Trophoblastzellen benötigen dieses Protein eventuell wegen seiner Funktion als Metalloproteinase. Intrazelluläre Dysferlin-Expressionsmuster verändern sich abhängig von der Funktion der Zelle. Das Expressionsmuster dieses Proteins in den mutmaßlichen endovaskulären Trophoblastzellen deutet an, dass in diesen Regionen Zellfusionen stattfinden.

Regulation des Leber-X-Rezeptors LXR und seiner Zielgene in der murinen und humanen Plazenta

T. Plösch¹, A. Gellhaus², N. Wolf³, M. Schmidt², C. E. Dunk⁴, F. Kuipers¹, E. Winterhager²

¹Center for Liver, Digestive and Metabolic Diseases, Dept. Pediatrics, University Medical Center Groningen, The Netherlands; ²Institut für Molekularbiologie, Universitätsklinikum Essen; ³Universitätsfrauenklinik Essen, Deutschland; ⁴Dept. Obstetrics and Gynecology, Samuel Lunenfeld Research Institute, Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada

Die Leber-X-Rezeptoren (LXR) alpha und beta sind unentbehrlich für die Regulation des Cholesterinstoffwechsels der Zelle, insbesondere in der Leber. Über ihre Funktion in der humanen Plazenta ist nur wenig bekannt, insbesondere auch im Zusammenhang mit Präeklampsie. Deshalb war es Ziel unserer Studie, das Expressionsmuster der LXRs und ihrer Zielgene in der murinen und humanen Plazenta im Verlauf der Schwangerschaft zu charakterisieren und eine mögliche Rolle bei Präeklampsie zu untersuchen.

In der murinen Plazenta fanden wir eine gleichmäßige Expression von LXR α und LXR β von Schwangerschaftstag 13,5–19,5. Die Expression der prototypischen LXR-Zielgene *Abca1* und *Srebp1c* folgte diesem Muster. Die Verabreichung des pharmakologischen LXR-Agonisten T0901317 im Futter führte zu einer deutlich erhöhten Expression aller untersuchten LXR-Zielgene in der Plazenta.

In der humanen Plazenta stieg die Expression von LXR α und LXR β im Verlauf der Schwangerschaft an. Eine Behandlung von JEG3-, JAr- oder BeWo-Trophoblasten und humanen Plazentaexplantaten (erstes Trimester) mit T0901317 resultierte in einer erhöhten Expression der LXR-Zielgene. In frühpräeklampsischen Plazenten fanden wir eine signifikant erhöhte Expression von ABCA1, einem wichtigen Cholesterin-Transportprotein. Interessanterweise führte die Inkubation von Plazentaexplantaten unter hypoxischen Kulturbedingungen ebenfalls zu einer erhöhten ABCA1-Expression. Die erhöhte Expression in früher Präeklampsie könnte daher ein Resultat von Hypoxie sein.

Unsere Studie zeigt, dass pharmakologische Aktivierung von LXR sowohl in vitro als auch in vivo zu einer erhöhten Expression der LXR-Zielgene führt. Dies deutet darauf hin, dass LXR und die LXR-Zielgene sowohl in der murinen als auch der humanen Plazenta

eine wichtige physiologische Rolle spielen könnten. Die Dysregulation dieses Systems in früher Präeklampsie könnte ein Ergebnis plazentaler Hypoxie sein und Konsequenzen für den Cholesterintransport von der Mutter zum Fötus haben.

Micro-RNA-Profil und Funktionen in LIF-stimulierten trophoblastären Zellen

D. M. Morales, S. Ospina, U. R. Markert
Placenta Labor, Abteilung für Geburtshilfe, Universitätsklinikum Jena

Micro-RNAs sind vor wenigen Jahren entdeckte bedeutsame intrazelluläre Regulatoren unter anderem von Immunreaktionen und malignen Prozessen, aber ihre Funktion in der Schwangerschaft ist bisher nur marginal untersucht worden. Leukemia Inhibitory Factor (LIF) ist ein Zytokin, das in Trophoblastzellen eine entscheidende Rolle spielt und das ihre Invasion über Signal Transducer und Aktivator der Transkription 3 (STAT3) induziert. Deshalb wollten wir weitere LIF-induzierte intrazelluläre Signalwege sowie LIF-induzierte Mikro-RNAs in 2 verschiedenen trophoblastären Zell-Linien analysieren.

JEG-3-Chorionkarzinom-Zellen wurden für 1–24 Stunden mit LIF stimuliert und die totale RNA wurde isoliert.

Die Phosphorylierung der Signaltransduktoren ERK1/2 (thr 702 and tyr 704) und STAT3 (ser 727 and tyr 705) wurde durch Gelelektrophorese und Western-Blots gemessen. STAT3-Gen-Expression wurde als Kontrolle der Induktion mittels RT-PCR analysiert. Die Expression von 5 verschiedenen Mikro-RNAs, die entweder dafür bekannt sind, in der Plazenta exprimiert zu werden oder an der Tumorerkrankung beteiligt sind, wurde an 6 Zeitpunkten durch qRT-PCR quantifiziert.

Schließlich wurde mithilfe eines 7900HT-Fast-Realtime-PCR-Systems mit TaqMan-Mikro-RNA-Assay die Expression von 760 verschiedenen Mikro-RNA mit und ohne LIF-Stimulierung in den beiden Zell-Linien JEG-3 und HTR8/SVneo untersucht.

Anschließend wurden 5 verschiedene Mikro-RNA, die am stärksten durch LIF beeinflusst wurden, durch RNA-Interferenz „gesilenced“ oder überexprimiert. ERK1/2 und STAT3 waren 10–30 min nach Stimulation LIF-phosphoryliert. Drei von 5 Mikro-RNA (miR-9, miR-141 und let-7g) wurden zeitabhängig durch LIF herunterreguliert. Die stärksten Effekte wurden nach 4 Stunden Behandlung gefunden.

Das Mikro-RNA-Profil zeigte, dass die Expression von etwa 65 % aller Mikro-RNA in JEG-3 und HTR8/SVneo mindestens 10-fach unterschiedlich war.

LIF beeinflusst rund 10 % aller Mikro-RNA, aber mit wenig Übereinstimmung zwischen beiden Zell-Linien. „Silencing“ oder Überexpression verändert das Verhalten von beiden Trophoblastzell-Linien.

LIF moduliert Mikro-RNA-Expression in Trophoblastzellen. Mikro-RNA steuern wichtige Funktionen von Trophoblastzellen.

Aktivierung von Signal Transducer and Activator of Transcription 5 (STAT5) in Trophoblast-Zellen durch Epidermal Growth Factor (EGF)

S. Ospina, D. M. Morales, U. R. Markert
Placenta Labor, Abteilung für Geburtshilfe, Universitätsklinikum Jena

Epidermal Growth Factor (EGF) übt in der Plazenta vielfältige Funktionen aus, wie z. B. die Regulation der Invasion von Trophoblastzellen. Neuere Studien haben gezeigt, dass die Aktivierung von Signal Transducer and Activator of Transcription- (STAT-) Proteinen, einschließlich STAT3 und STAT5, aktiv an der Tumorentstehung und -entwicklung beteiligt sind. STAT5 ist ein intrazelluläres Protein, das Tyrosine-Kinase-Rezeptoren nachgeschaltet ist, und welches die Proliferation und Zellzyklus-Progression stimuliert. Einige Zytokine, die in die Regulation des Verhaltens von Trophoblastzellen involviert sind, vermitteln ihre Effekte über STAT3, aber weniger ist bekannt über STAT5-Regulation und seine Funktionen in der Schwangerschaft.

JAR-, BeWo- und JEG3-Chorionkarzinomzellen sowie immortalisierte Trophoblastzellen (HTR-8/SVneo) wurden mit IL-2, IL-11, Leukemia Inhibitory Factor (LIF), Epidermal Growth Factor (EGF) oder Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (GM-CSF) stimuliert. Es wurden verschiedene Konzentrationen und Zeitverläufe untersucht. Der Effekt der Zytokine und Wachstumsfaktoren auf die Expression, Phosphorylierung und Lokalisation der STATs wurden mittels Western-Blot und Immunocytochemie gemessen.

Nur EGF induziert STAT5-Phosphorylierung (Tyr 694) in allen analysierten Zell-Linien, während andere Zytokine, mit Ausnahme von IL-2, je nach Zell-Linie unterschiedliche Intensitäten der STAT3-Phosphorylierung (tyr 705) induzieren.

Es kann geschlossen werden, dass unterschiedliche Zytokine STAT3 und STAT5 stimulieren. Zahlreiche aktivierende Zytokine sind stark exprimiert in der Plazenta. Deswegen kann gefolgert werden, dass gleichzeitige Stimulierung beider Signalwege häufig vorkommt. Diese Effekte durch verschiedene Zytokine können die zellulären Funktionen auf unterschiedliche, bisher nicht bekannte Weise beeinflussen.

Neue Epithelzellkulturen aus dem porzinen Eileiter

J. Schön¹, K. Mießner¹, A. Bondzio¹, R. Riebe², R. Einspanier¹

¹Institut für Veterinär-Biochemie, Freie Universität Berlin; ²Friedrich-Löffler-Institut, Bundesforschungsanstalt für Tiergesundheit, Greifswald

Der Eileiter ist ein interessantes, multi-funktionales Organ, welches die Reifung und den Transport der Gameten, die Bereitstellung des idealen Milieus für die Befruchtung und die frühe Embryonalentwicklung sowie den Transport des frühen Embryos zum Uterus ermöglicht. Die synchronisierten Abläufe, die in vivo zu der Entwicklung eines reifen, implantationsfähigen Embryos führen, sind bisher nur unvollständig verstanden. Es ist schwierig, die komplexe Morphologie des Epithelgewebes in vitro zu erhalten. Deshalb sind gut charakterisierte Zellkultursysteme, besonders des luminalen Eileiterepithels, für die moderne Reproduktionsforschung unentbehrlich.

Das Ziel dieser Studie war es daher (a) differenzierte Epithelzellen aus dem porzinen Eileiter zu kultivieren und (b) die Expression von Kandidatengenen für epitheliale Funktionalität bei diesen Zellen im Vergleich mit der Ex-vivo-Situation und mit einer permanenten Eileiterzell-Linie zu untersuchen. Anhand der Morphologie, der Proliferationsrate und der mitochondrialen Aktivität der Zellen wurden verschiedene Methoden der Zellgewinnung, Isolierung und Kultivierung zur Optimierung der Kulturbedingungen verglichen. Nach der Anzucht der neuen Epithelzellkulturen und der Zell-Linie auf Polykarbonatmembranen wurden sowohl diese als auch das Referenzgewebe mit Bouin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Expression von Faktoren, die die epitheliale Funktionalität widerspiegeln (Keratine, β -Katenin, E-Cadherin und Hormonrezeptoren) wurde immunhistochemisch nachgewiesen.

Differenzierte Epithelzellen konnten nur im „air-liquid interface“ kultiviert werden. Nach 18 Tagen Kulturdauer zeigten die Zellen eine deutliche Polarität und Zilienaktivität. Die permanente Zell-Linie und auch Primärzellen, die nicht im „air-liquid interface“ angezogen wurden, zeigten nach gleicher Kulturdauer eine deutlich geringere Polarisierung. Sowohl die primären als auch die permanenten Zellen exprimierten Keratine, β -Katenin, und E-Cadherin, aber nur die differenzierten Primärzellen wiesen auch eine den Ex-vivo-Verhältnissen ähnliche zelluläre Verteilung auf.

Zusammenfassend konnten wir eine differenzierte primäre epitheliale Zellkultur aus dem porzinen Eileiter etablieren, die in-vivo-ähnliche Eigenschaften zeigt. Dieses Zellkultursystem bietet exzellente Voraussetzungen für die Untersuchung der Embryomateriellen Kommunikation und von Spermien-Eizell-Interaktionen.

Störung der *De-novo*-Methylierung und des Metabolismus embryonaler Zellen durch DEHP und PCBs

K. Schädlich¹, J. S. Schmidt¹, R. Kurz², A. A. Robitzke², B. Fischer¹

¹Institut für Anatomie und Zellbiologie, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg; ²Zentrum für Biotechnologie und Biomedizin, Universität Leipzig

Der Weichmacher Di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) und die zum „dreckigen Dutzend“ gehörenden Polyzyklischen Biphenyle (PCBs) sind weit verbreitete Umweltkontaminanten, welchen der Mensch tagtäglich ausgesetzt ist. Während DEHP in sämtlichen Lebensmittelverpackungen, in Kosmetik und medizinischen Verbrauchsmaterialien (Infusionsschläuchen etc.) vorkommt, sind die PCBs seit den 1980er-Jahren verboten – aufgrund ihrer hohen Persistenz in der Umwelt aber immer noch in beachtlichen Konzentrationen vorhanden (z. B. in Seefisch). Die Wirkungen dieser Substanzen auf den Metabolismus und das endokrine System werden intensiv im Tiermodell, aber auch beim Menschen untersucht. Bisher nicht im Zentrum dieser Studien stand die Frage, inwiefern die Entwicklung des Embryos bereits vor der Implantation von Umweltkontaminanten betroffen ist. Werden hier wohl möglich schon Weichen für spätere Stoffwechsel- oder Herz-Kreislauf-Erkrankungen gestellt? Diese Frage haben wir in murinen embryonalen Karzinomzellen (P19 ECC) untersucht. In der Phase des undifferenzierten Wachstums (Phase bis zur Ausbildung der embryoid bodies) haben wir die Zellen mit der Einzelsubstanz oder einem Mix beider Substanzen exponiert. Anschließend wurden die Zellen zu schlagenden Kardiomyozyten differenziert und zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Differenzierung mRNA-Proben zur qRT-PCR-Quantifizierung gewonnen. Der Schwerpunkt der Analysen lag auf Schlüsselgenen des Fett- und Glukosestoffwechsels (PPARGgamma, PPARalpha, GLUT4, FABP4, Aldolase) sowie auf funktionellen Kardiomyozyten-Markern (Cx43, alpha-MHC). Des Weiteren wurden die DNA-Methyltransferasen (DNMTs) 1, 3a und 3b untersucht. Es zeigte sich, dass im Fall von DEHP signifikante Veränderungen in den letzten beiden Stadien der Differenzierung bei den untersuchten Genen auftraten. Dies war bei den PCBs nicht der Fall. Im Mix beider Substanzgruppen hob sich dieser Effekt auf. Unsere q-RT-PCR-Ergebnisse für die DNMTs zeigen eine mögliche Erklärung für die genannten Effekte. Während die DNMT3a (*De-novo*-Methylierung) unter Exposition mit PCBs herunter reguliert wurde, wurde sie unter DEHP hinauf reguliert. Zu diesen Effekten auf Transkriptebeobachteten wir eine weitere, funktionelle Veränderung – mit DEHP-behandelte Kardiomyozyten hatten eine deutlich schnellere Schlagfrequenz als die Kontrollzellen. Anhand dieser Ergebnisse konnten wir zeigen, dass schon die frühe embryonale Phase gegenüber Umweltkontaminanten anfällig ist und entstandene Fehlregulationen bis ins differenzierte Stadium bestehen bleiben.

Förderung durch die EU (FP7; REEF #212885) und das Roux-Programm der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität.

Insulinabhängige Induktion der Gastrulation in 6 Tage alten Kaninchenblastozysten

R. Thieme, M. Schindler, S. Fischer, B. Fischer, A. Navarrete Santos

Institut für Anatomie und Zellbiologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Die Präimplantationsphase ist ein besonders risikobehafteter Teil der Schwangerschaft. Sie kann von zahlreichen äußeren Einflüssen, wie z. B. Diabetes der Mutter, beeinflusst werden. In Folge eines solchen Diabetes steigt das Risiko für Frühaborte und embryonale Fehlbildungen. Insbesondere ist das Risiko für Fehlsteuerungen in der Herzentwicklung gesteigert. Die in der Frühschwangerschaft dafür verantwortlichen molekularen Ursachen sind jedoch weitgehend unerforscht. Wir haben deshalb die insulinvermittelte Mesoderminduktion und den Einfluss einer diabetischen Stoffwechselstörung der Mutter auf die Gastrulation und die embryonale Frühentwicklung untersucht.

Zur Klärung dieser Fragestellung wurden 2 Versuchsmodelle herangezogen, ein maternaler Typ-1-Diabetes und ein In-vitro-Kulturmodell, in dem Blastozysten (für 10 min bis zu 12 h) mit Insulin, IGF1 oder ohne Wachstumsfaktoren kultiviert wurden. Sechs Tage alte Blastozysten wurden anhand der Morphologie der Keimscheibe und der Expression des mesodermispezifischen Markers *Brachyury* charakterisiert. Blastozysten aus diabetischen Müttern waren entwicklungsverzögert und nur solche, die in vitro mit Insulin kultiviert wurden, entwickelten sich normal weiter. Das Fehlen von Insulin führte zu einem Entwicklungsarrest oder die Embryonen starben ab. Das *Brachyury*-induzierende Molekül Wnt3a war in Blastozysten aus diabetischen Müttern stark vermindert. Wnt4 war nicht beeinflusst. In vitro zeigte sich für beide Moleküle ein positiver Effekt durch Insulin. Die insulinvermittelte Wnt3a-Steigerung konnte durch den MEK1-Inhibitor PD98059 aufgehoben werden.

Wir konnten zum ersten Mal einen Einfluss von Insulin auf die Wnt3a- und *Brachyury*-Expression zeigen. Insulin hat somit nicht nur einen Einfluss auf den Metabolismus des Embryos, sondern auch auf Vorgänge wie Differenzierung und Gastrulation während der Präimplantationsentwicklung.

Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG; NA 418/4-2), das Wilhelm Roux Programm der Medizinische Fakultät, MLU und EU COST GEMINI (FA0702).

Die In-vitro-Kultur muriner Embryonen beeinflusst die Expression von Sonic und Indian Hedgehog

D. Ziegler, D. M. Baston-Büst, J. Hirchenhain,
J. S. Krüssel, A. P. Hess
UniKid-Universitätsfrauenklinik, Düsseldorf

Seit der ersten Geburt nach assistierter Reproduktion 1978 wurden weltweit ca. 10 Millionen Kinder nach einer Infertilitätsbehandlung geboren.

Das Kulturmedium für Befruchtung und Embryoentwicklung der ersten Tage beeinflusst die Genexpression in der Präimplantationsentwicklung. In der frühen Embryonalentwicklung spielen die Vertreter der *Hedgehog* Familie, *Sonic Hedgehog* (SHH) – Entwicklung des Neuralrohrs, der Somiten und Gliedmaßen – und *Indian Hedgehog* (IHH) – Regulation der Ossifikation – eine wichtige Rolle.

Diese Studie fokussiert auf den Einfluss der In-vitro-Kultur muriner Embryonen hinsichtlich der Expression von Shh und Ihh auf mRNA-Ebene als auch der Detektion auf Proteinebene mittels Immunhistochemie im Rahmen der weiteren Embryonalentwicklung.

Es wurden murine Einzelblastozysten in 3 unterschiedlichen Kollektiven gesammelt. Das In-vivo-Kollektiv wurde an Tag 3,5 nach Verpaarung (pc) als Blastozyste aus den Uteri superovulierter Weibchen des Stammes B6C3F1 gespült. Die beiden anderen Kollektive wurden von Tag 0,5 pc bis 3,5 in vitro entweder in konventionellem COOK®-Medium oder einem neu entwickelten Medium von VitroLife™ kultiviert. Nach reverser Transkription schlossen sich PCRs für β -Aktin als Haushaltsgen und semi-quantitative nested-PCRs für Shh und Ihh an. Des Weiteren wurden immunhistochemische Färbungen für SHH und IHH an Mausgeweben etabliert.

Wir konnten zeigen, dass die untersuchten mRNAs für die entwicklungsrelevanten Proteine IHH und SHH in den in In-vitro-Medien kultivierten Blastozysten deutlich vom mRNA-Profil des In-vivo-Kollektivs abwichen. Daher scheinen selbst die neuesten Entwicklungen im Bereich der Kulturmedien noch keinen regelrechten Ersatz für die physiologischen Umgebung des Reproduktionstrakts darzustellen.

Gefördert durch den non-restricted educational research grant 701210764/01 der Firma Merck-Serono.

Induktion der Dezidualisierung in humanen ektopen endometrialen Läsionen in vivo

Y. Koch¹, C. Sannecke¹, M. Tötsch², P. Wimberger³,
R. Kimmig³, E. Winterhager¹, R. Grümmer¹

¹Institut für Molekularbiologie; ²Institut für Pathologie;
³Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Essen

Die Endometriose gehört zu den häufigsten benignen gynäkologischen Erkrankungen und ist durch das Vorkommen endometrialen

Gewebes außerhalb des *Cavum uteri* charakterisiert. Da die für diese Erkrankung gängigen Hormontherapien durch die starke Absenkung der Serum-Östrogenkonzentration zu einer Vielzahl unerwünschter Nebenwirkungen führen, ist die Entwicklung neuer Therapiestrategien erstrebenswert. Es wird davon ausgegangen, dass vor allem das endometriale Stroma für die Anheftung, Invasion und Persistenz des Gewebes an ektopen Lokalisationen verantwortlich ist. Als ein möglicher therapeutischer Ansatz könnte somit der Verlauf der Erkrankung durch terminale Differenzierung der ektopen endometrialen Stromazellen, d. h. durch deren Dezidualisierung, positiv beeinflusst werden.

Aus vorangegangenen Studien ist bekannt, dass Progesterone in Kombination mit cAMP synergistisch die Dezidualisierung humaner endometrialer Stromazellen in vitro fördern. In dieser Studie wird daher erstmalig der Effekt unterschiedlicher Progesterone in Kombination mit Substanzen, die zur Erhöhung des intrazellulären cAMP-Spiegels führen, auf die Induktion der Dezidualisierung in humanen endometrialen Läsionen in einem humanisierten Endometriose-Mausmodell untersucht. Hierzu wird humanes Endometriumgewebe in die Peritonealhöhle immunodefizienter Mäuse transplantiert und diese für einen Zeitraum von 7 Tagen mit Progesterinen behandelt. Zur Untersuchung eines synergistischen Effektes von cAMP wird das Endometrium entweder vor der Transplantation über Nacht in cAMP inkubiert oder die Mäuse werden nach der Transplantation von unbehandeltem Endometrium zusätzlich mit cAMP-steigernden Substanzen behandelt. Nach der kombinierten Behandlung mit Progesterinen und cAMP wird die Proliferationsrate sowie anhand der Expression von Dezidualisierungsmarkern der Dezidualisierungsgrad bestimmt.

Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Dezidualisierung von ektopem humanem Endometrium auch in vivo durch diese Behandlungsstrategie induziert werden kann.

Rolle des Zelloberflächenproteoglycans Syndecan-1 in Entzündungsprozessen – potenzielle Relevanz für die Endometriose?

C. Schneider, M. Götte

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Die Ätiologie der Endometriose, einer häufigen Ursache von Fertilitätsproblemen, ist bislang nur unzureichend verstanden. Eine wichtige mechanistische Rolle wird der veränderten Expression von Entzündungsfaktoren zugeschrieben. Syndecan-1- (Sdc-1-) Knockout-Mäuse zeigen in experimentellen Entzündungsmodellen eine erhöhte Expression von Cytokinen und Chemokinen. Als Grundlage zur Untersuchung einer möglichen Rolle von Sdc-1 als Entzündungsmodulator bei der Endometriose wurde hier untersucht, welche Auswirkungen ein siRNA-

Knockdown von Sdc-1 auf die Expression endothelialer Entzündungsfaktoren hat.

Die murine Endothelzell-Linie bEnd.3 wurde transient mit Sdc-1 siRNA transfiziert und der Sdc-1-Knockdown mittels qPCR bestätigt. Diese Zellen sowie Kontrollzellen wurden mit TNF- α stimuliert. Mittels TaqMan low density array-Analyse wurde die differenzielle mRNA-Expression entzündungsrelevanter Markergene untersucht. Mithilfe der Realtime-PCR wurde anschließend die RNA-Expression der am stärksten regulierten Entzündungsmarker, wie der Cytokine Interleukin-6, Interleukin-1, Interferon gamma, CCL-2, der Zelladhäsionsmoleküle VCAM-1 und E-Selectin sowie des Transkriptionsfaktors NF κ B unabhängig bestätigt.

Die Untersuchungen zeigen im Falle des Sdc-1-Knockouts eine erhöhte Expression der Marker im Entzündungszustand. Ein Beispiel dafür ist der Transkriptionsfaktor NF κ B. Die Expression scheint durch Sdc-1 gehemmt zu werden, und so die Entzündungsreaktion über eine Veränderung der Expression von Zytokinen und Zelladhäsionsmolekülen unterdrückt. Ebenso wird die Expression von Interferon gamma und E-Selectin von Syndecan-1 gehemmt, VCAM-1 und Interleukin-6 scheinen jedoch durch Syndecan-1 verstärkt exprimiert zu werden.

Endotheliales Sdc-1 ist ein Modulator der Expression von Entzündungsfaktoren, dessen Untersuchung im Kontext der Endometriose lohnenswert erscheint.

Die mikroRNA miR-145 inhibiert die Motilität von Endometriosezellen durch eine Hemmung der Expression des Zelladhäsionsmoleküls JAM-A und des Zytoskelettproteins Fascin

M. Götte, M. Adammek, N. Kässens, L. Kiesel

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

MikroRNAs sind kleine nicht-kodierende RNAs, die durch Bindung an die 3'UTR-Region von Ziel-mRNAs die Genexpression regulieren. Bei der Endometriose ist das Expressionsmuster von mikroRNAs im Vergleich zum gesunden Gewebe signifikant verändert, was eine Rolle bei der Pathogenese nahelegt. In der folgenden Studie wurden die Auswirkungen einer erhöhten Expression der mikroRNA-145 auf die Genexpression und das zelluläre Verhalten der Endometriosezelllinien 12Z und 11Z untersucht.

Die Endometriosezell-Linien 12Z und 11Z wurden mit einer miR-145-Vorstufe und oder einer Kontroll-mikroRNA transient transfiziert und die Expression mittels qPCR bestätigt. In Matrigel-Invasionsassays wurde die Invasivität der Zellen untersucht. Mittels Realtime-PCR und Western-Blotting wurde die veränderte Expression von potenziellen Zielgenen und -Proteinen der miR-145 untersucht.

Die Erhöhung der Expression von miR-145 führte zu einer signifikanten Hemmung der Invasivität der Endometriosezell-Linien. Die Expression von JAM-A und des Aktin-bündelnden Proteins Fascin wurden durch die miR-145-Transfektion signifikant auf der mRNA- und Proteinebene herunterreguliert.

Unsere Daten zeigen, dass eine Fehlregulation der Expression von miR-145 über eine Regulation von JAM-A und Fascin eine erhöhte Invasivität und Motilität von Endometriosezellen begünstigt, und somit mechanistisch zur Etablierung von Endometrioseherden beitragen könnte. miR-145 stellt somit eine Zielstruktur für zukünftige therapeutische Ansätze mit „locked nucleic acid“-modifizierten mikroRNAs dar.

Funktionelle Charakterisierung endometrialer Stammzellen aus transzervikalen Endometriumbiopsien der diagnostischen Routine

*A. N. Schüring, N. Schulte, L. Kiesel, M. Götte
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster*

Das Endometrium weist eine bemerkenswert hohe regenerative Kapazität auf, deren Grundlage die Aktivität adulter Stammzellen

bilden könnte. Es gibt Hinweise darauf, dass eine fehlgeleitete Stammzellfunktion zur Pathogenese der Endometriose und des Endometriumkarzinoms beiträgt. Eine Limitierung experimenteller Studien stellt die Verwendung von Hysterektomien als Untersuchungsmaterial dar. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Charakterisierung endometrialer Stammzellen der oberen Schichten des Stratum functionale, welche durch Endometriumbiopsie im Rahmen der Routinediagnostik erhalten werden können, um zu überprüfen, ob diese minimalinvasive Technik zur Gewinnung multipotenter Stammzellen für Studien an größeren Patientenkollektiven geeignet ist.

Endometriumbiopsien wurden von 36 Patientinnen (24–44 Jahre), die sich einer Routinediagnostik im Rahmen einer Infertilitätstherapie unterzogen, gewonnen. Endometriale Stromazellen wurden durch Immundepletion isoliert und die Expression stammzelltypischer Marker mittels quantitativer Realtime-PCR und Durchflusszytometrie untersucht. Differenzierungspotenzial und Klonierungseffizienz seriell passagierter Zellklone wurden in vitro untersucht.

Aus Endometriumbiopsien erhaltene endometriale Stromazellklone zeigen charakteristische Stammzeleigenschaften wie Klonalität, Langzeit-Kultivierbarkeit, multipotentes Differenzierungspotenzial und Expression

der Stammzellmarker CD146, CD73, Msi-1, Notch-1 und Sox-2.

Adulte Stammzellen können aus Endometriumbiopsien im Rahmen einer Routinediagnostik gewonnen werden. Dies eröffnet neue Perspektiven für Stammzell-basierte experimentelle Studien zur Entwicklung neuer diagnostischer und therapeutischer Ansätze endometrialer Erkrankungen an großen Patientenkollektiven.

Autorenindex (nur federführende Autoren)

B

Bödder S. J. 34

G

Germeyer A. 33
Götte M. 37

K

Koch Y. 37

M

Morales D. M. 35

O

Oemus A. 33
Ospina S. 35

P

Plösch T. 35

S

Schädlich K. 36
Schneider C. 37
Schön J. 36
Schüring A. N. 38
Schwenke M. 32
Spratte J. 33

T

Thieme R. 36

V

Volkmer A. K. 34

W

Weber M. 34

Z

Ziegler D. 37

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