JOURNAL FÜR
FERTILITÄT UND REPRODUKTION

AXENBICHLER G, DIEPLINGER H, EBENBICHLER CF, ILLMENSEE K
JERKOVIC L, SÖLDER E

Leptin in Relation zu Östradiol, Progesteron und Prolaktin in Follikeln von IVF- und ICSI-Patientinnen

Journal für Fertilität und Reproduktion 1999; 9 (4) (Ausgabe für Österreich), 16-26

Homepage:

www.kup.at/fertilitaet

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

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

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

Indexed in EMBASE/
Excerpta Medica

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

Mehr als nur eine Dekoration:

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

Dann sind Sie hier richtig

H. J. Wolf, C. F. Ebenbichler, L. Jerkovic, H. Dieplinger, E. Sölder, G. Daxenbichler, K. Illmensee

Leptin in Relation zu Östradiol, Progesteron und Prolaktin in Follikeln von IVF- und ICSI-Patientinnen

Summary

Leptin has been discovered in 1994 as a central hunger regulating metabolic hormone. Since then, a number of investigations have been focused on the functional role of leptin in animal and human reproduction. To further elucidate its physiological contribution to folliculogenesis in hormonally stimulated IVF- and ICSI-patients, we have measured leptin in follicular fluid from follicles of different sizes at the time of follicular puncture. Leptin values range from about 3.9 ng/ml in small follicles and about 4.6 ng/ml in medium-sized ones to about 9.0 ng/ml in large follicles. In this context, the presence or absence of oocytes in follicular fluid has been registered. Furthermore, concentrations of estradiol, progesterone and prolactin have been estimated in follicular fluid, since in spontaneous cycles, hormones and in particular progesterone have proven to influence the synthesis of leptin. The concentrations of the three hormones as well as leptin increases with the size and maturity of follicles. In follicular fluid in which oocytes can be detected, these concentrations have reached the highest values. The amount of leptin is not related to the amount of total protein in follicular fluid ($p = 0.165$). In serum, leptin is considerably elevated in hormonally stimulated cycles in comparison to spontaneous cycles (12.7 ng/ml v.s. 5.5 ng/ml). We find a strongly positive correlation between leptin in serum and its concentration in follicular fluid of large follicles ($p < 0.0001$). However, we do not see such correlation for estradiol, progesterone and prolactin, nor do we observe any relation between the applied recombinant FSH or FSH values in serum and leptin concentration in follicular fluids. Under controlled hormonal stimulation, FSH, estradiol, progesterone and prolactin do not seem to have a direct influence on leptin synthesis. In conclusion, from our results we assume that leptin is involved in the process of maturation and differentiation of follicle and oocyte and, therefore, provides a further biochemical and functional marker for assisted reproduction.

Zusammenfassung

Leptin wurde 1994 als zentrales, hungerregulierendes Stoffwechselhormon entdeckt. Seither konnte in einer Reihe von Untersuchungen die Bedeutung dieses Hormons für die Reproduktion bei Tier und Mensch gezeigt werden, wobei Funktion und Regulation von Leptin im Rahmen der Reproduktion noch nicht im Detail geklärt sind. Um eine mögliche Bedeutung von Leptin für die Follikulogenese zu untersuchen, haben wir in unserer Studie Leptinkonzentrationen in Follikelflüssigkeiten von Follikeln unterschiedlicher Größe nach kontrollierter hormoneller Stimulation von IVF- und ICSI-Patientinnen bestimmt. Leptinwerte in kleinen Follikeln betragen etwa 3,9 ng/ml, in mittleren etwa 4,6 ng/ml und in großen etwa 9,0 ng/ml. Dabei wurde auch das Vorkommen von Eizellen in den Follikelflüssigkeiten berücksichtigt. Zusätzlich wurden Östradiol, Progesteron und Prolaktin in diesen Proben bestimmt, da im Spontanzyklus gezeigt wurde, daß Hormone und vor allem Progesteron einen Einfluß auf die Leptinproduktion haben. Die Konzentration der drei Hormone sowie die des Leptins steigt mit der Follikelgröße an, wobei in großen Follikeln mit Eizellen die höchsten Konzentrationen gemessen werden. Die Leptinmenge ist jedoch unabhängig von der Gesamtmenge an Protein in der Follikelflüssigkeit ($p = 0{,}165$). Im Serum ist Leptin nach hormoneller Stimulation deutlich höher als im Spontanzyklus (12,7 ng/ml vs. 5,5 ng/ml). Wir finden eine streng positive Korrelation zwischen Serumleptin und Leptin in der Follikelflüssigkeit großer Follikel ($p < 0{,}001$), wohingegen sich keine Korrelation mit Östradiol, Progesteron oder Prolaktin nachweisen läßt. Auch beobachten wir keinerlei Zusammenhang zwischen der applizierten, rekombinanten FSH-Menge sowie den FSH-Werten im Serum mit den jeweiligen Leptin-Konzentrationen in den Follikelflüssigkeiten. Unter kontrollierter hormoneller Stimulation scheinen FSH, Östradiol, Progesteron und Prolaktin keinen direkten Einfluß auf die Leptinproduktion zu haben. Aus unseren Ergebnissen schließen wir, daß Leptin von Bedeutung für Reifung und Diffe-

renzierung von Follikel und Eizelle ist und damit einen weiteren biochemischen und funktionellen Marker für die assistierte Reproduktion darstellt.

EINLEITUNG

Ernährung und Fortpflanzung sind zwei fundamentale physiologische und endokrinologische Prozesse, die sowohl im Tierreich als auch beim Menschen für das Überleben des Individuums und der ganzen Spezies notwendig sind. Beide Vorgänge stehen unter strenger neuronaler und hormoneller Kontrolle. Exzessives Hungern oder Überernährung führen zu gestörtem Reproduktionsverhalten sowohl bei männlichen wie weiblichen Individuen. All dies deutet auf die Existenz eines peripheren hormonellen Signals hin, das dem neuronalen Netzwerk die Informationen über den Ernährungszustand eines Individuums liefert, um ein dementsprechend angepaßtes Reproduktionsverhalten auszulösen. Ein kürzlich entdecktes Hormon, Leptin, könnte für diese Funktion verantwortlich sein [1–3].

Leptin, ein 16 kD Protein aus der Zytokinfamilie [4], wird von Adipozyten synthetisiert und sezerniert [5]. Leptin zirkuliert im Blut und ist gebunden an seinen löslichen Rezeptor [6]. Ein weiterer Rezeptor OB-R_S ist für den Transport von Leptin über die Blut-Hirnschranke verantwortlich [7]. Im Hungerzentrum des Hypothalamus bindet Leptin an seinen langen, signalübertragenden Rezeptor OB-R_L [8], wodurch hier die Produktion des Neuropeptides Y (NPY) gehemmt wird [9]. Dadurch sinkt das Hungergefühl, und der Grundumsatz im Körper steigt. Letztendlich kommt es zu einem Gewichtsverlust, vor allem zu einer Abnahme des Körperfettanteiles [10, 11].

Seit der Entdeckung von Leptin 1994 wurde diesem Hormon stets eine Bedeutung für die Fortpflanzung zugeschrieben. Im Mausmodell sind weibliche Tiere, die kein Leptin produzieren, unfruchtbar [12]. Wird ihnen jedoch Leptin zugeführt, entwickeln diese anatomisch und funktionell normale Fortpflanzungsorgane [13, 14]. Ein normaler Zyklus stellt sich ein, so daß es regelmäßig zu Eisprung und Befruchtung kommen kann. Schwangerschaften werden wieder problemlos ausgetragen. Bis heute ist völlig unklar, inwieweit Leptin direkt oder indirekt über die hypothalamisch-hypophysäre Achse die Reproduktionsorgane beeinflußt.

Die Bedeutung von Leptin für die Reproduktion beim Menschen ist noch völlig unklar. Rezeptor OB-R für Leptin wurde erstmals 1996 durch Northern-Blot Analyse im Ovar nachgewiesen [15], wodurch erstmals eine mögliche Bedeutung dieses Hormons für die Fortpflanzung beim Menschen postuliert wurde. In weiterer Folge wurde der kurze Leptin Rezeptor OB-R_S in Granulosa- und Cumuluszellen gefunden. Sowohl Leptin als auch Leptin m-RNA konnten in Granulosa- und Cumuluszellen des Ovars mittels RT-PCR Analyse und Immunfluoreszenz nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu wurde in reifen menschlichen Eizellen nur Leptin, nicht jedoch die Leptin m-RNA gefunden [16]. Es wurde postuliert, daß Leptin, das in den Granulosazellen des Ovars produziert wird, in die Eizelle pinocytotisch aufgenommen und dort in bestimmten Bereichen peripher und polarisiert angereichert wird. Nach der Befruchtung und weiteren Entwicklung findet sich Leptin in einigen Zellen des Präimplantationsembryos gemeinsam lokalisiert mit STAT 3, einem Schlüsselprotein der intrazellulären Signalübertragung und Transkription. Man nimmt an, daß Leptin an der Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors beteiligt ist und damit die embryonale Genexpression beeinflußt [17]. Eine weitere wichtige physiologische Funktion von Leptin beruht auf seiner Wirkung auf die Steroidhormonsynthese des Ovars, wobei hohe Konzentrationen an Leptin eine Hemmung der 17β-Östradiolsynthese in Granulosazellen verursachen, und damit die normale Funktion des Ovars beeinträchtigen können [18]. Bei Patienten mit polyzystischem Ovarsyndrom (PCO) sind Infertilität und Übergewicht in funktionellem und kausalem Zusammenhang mit erhöhten Leptinwerten gebracht worden [19].

Um die Bedeutung von Leptin für die Follikelentwicklung besser zu verstehen, haben wir Leptinkonzentrationen in Follikeln unterschiedlicher Größe nach hormoneller Stimulationsbehandlung im Rahmen unseres IVF- und ICSI-Programmes bestimmt. Darüber hinaus haben wir untersucht, ob und in welchem Umfang bestimmte Korrelationen von Leptinmenge zu verschiedenen Hormonen einerseits und Gesamtprotein andererseits in der Follikelflüssigkeit und im Serum vorliegen. Diese Untersuchungen sollen einen weiteren Beitrag zur Aufklärung

der Funktion von Leptin im Rahmen der assistierten Reproduktion leisten.

Material und Methoden

Follikelflüssigkeit und Serum

31 Patientinnen für eine IVF- oder ICSI-Behandlung wurden mit Leuprorelinacetat (3,75 mg s.c.; Enantone Gyn, Takeda) als GnRH-Analogon am 21. Zyklustag „downreguliert" und anschließend mit rekombinantem FSH (Gonal-F, Serono und Puregon, Organon) hormonell stimuliert. Die jeweils zu applizierende Dosis von FSH wurde über Ultraschall und Östradiolbestimmung individuell angepaßt. Wenn mindestens zwei Follikel einen Durchmesser von 20 mm erreicht hatten, wurde die Ovulation durch intramuskuläre Gabe von hCG (10.000 IU; Profasi, Serono) ausgelöst. Etwa 36 Stunden nach hCG-Applikation erfolgte transvaginal die sonographisch gesteuerte Follikelpunktion mit anschließender mikroskopischer Untersuchung auf das Vorhandensein von Eizellen in der aspirierten Follikelflüssigkeit. Nach Gewinnung der Eizellen wurden die individuellen Follikelflüssigkeiten zentrifugiert und die Überstände bei –80°C für die weiteren Bestimmungen aufbewahrt. Für Serumuntersuchungen wurden die zum Zeitpunkt der Follikelpunktion abgenommenen Blutproben zentrifugiert und die Seren ebenfalls bei –80°C gelagert.

Leptinbestimmung

Leptin-Konzentrationen wurden radioimmunometrisch bestimmt (Linco Research, St. Charles, MO, USA), wobei ein Antiserum ohne Kreuzreaktionen mit menschlichem Insulin, Proinsulin, Rateninsulin, C-Peptid, Glukagon, Pankreas-Propeptid oder Somatostatin zur Anwendung kam. Der Nachweisbereich liegt zwischen 0,5 ng/ml und 100 ng/ml.

Hormonbestimmungen

Östradiol wurde radioimmunometrisch bestimmt (Estradiol MAIA, Bio Chem Immuno Systems, Bologna, Italy). Follikelflüssigkeit wurde mit Serum postmenopausaler Frauen 1:100 verdünnt. Der Östradiolspiegel dieser Seren wurde von der Konzentration in der Follikelflüssigkeit abgezogen.

Progesteron wurde ebenfalls radioimmunometrisch bestimmt (Orion Diagnostica, Espoo, Finnland). Follikelflüssigkeit wurde mit dem oben erwähnten Serum 1:1000 verdünnt.

Prolaktin wurde radioimmunometrisch mittels RIA-Kit (Prolactin MAIA, Bio Chem Immuno Systems, Bologna, Italy) bestimmt. Die Follikelflüssigkeiten wurden mit Null-Standard 1:5 verdünnt, um eine nahezu idente Matrix für Proben und Standards zu haben. Die Messungen der Östradiol-, Progesteron- und Prolaktin-Werte wurden entsprechend den Anleitungen der Produkthersteller durchgeführt.

FSH wurde im Serum am Tag der Punktion radioimmunometrisch bestimmt (FSH MAIA, Bio Chem Immuno Systems, Bologna, Italy).

Proteinbestimmung

Die Proteinmenge in der Follikelflüssigkeit und im Serum wurde nach der Lowry-Methode [20] bestimmt, wobei Rinderserumalbumin (BSA) als Standard von bekannter Konzentration (1 mg/ml) verwendet wurde. Alle Proben wurden in Phosphat-Puffer (PBS) verdünnt und im Spektrophotometer (Beckman DU 62) gegenüber dem Referenzwert gemessen.

Statistik

Statistische Berechnungen wurden mit Microsoft Excel Version 5.0a und Origin V 4.1 erstellt. Parametrische Daten wurden mittels „two-tailed" T-test bestimmt, Korrelationen mittels Pearson Korrelationskoeffizient festgelegt, wobei ein p-Wert $< 0,05$ als signifikant erachtet wurde.

Ergebnisse

31 Patientinnen aus unserem IVF- und ICSI-Programm wurden in diese Studie einbezogen. Die klinischen Daten der Patientinnen sind der Tabelle 1 zu entnehmen. Follikelflüssigkeiten aus Follikeln unterschiedlicher Größe dieser Patientinnen wurden getrennt untersucht. Weiters wurde berücksichtigt, ob in der gewonnenen Follikelflüssigkeit eine Eizelle vorhanden war.

Die Leptinkonzentration in großen Follikeln (Ø > 19 mm) betrug im Mittel 9,03 ± 5,15 ng/ml, in mittelgroßen Follikeln (Ø 16–19 mm) 4,67 ± 2,96 ng/ml und in kleinen Follikeln (Ø < 16 mm) 3,99 ± 2,19 ng/ml, wobei der Unterschied in der Leptinkonzentration in großen zu mittleren Follikeln ($p = 0,02$) und kleinen Follikeln ($p < 0,01$) statistisch

signifikant war (Abb. 1). In großen Follikeln mit Eizelle war die Leptinkonzentration in der Follikelflüssigkeit höher als in großen Follikeln ohne Eizelle (10,12 ± 5,67 ng/ml vs. 7,84 ± 4,28 ng/ml, p = 0,07) (Abb. 2). Im Serum der Patientinnen war Leptin am Tag der Follikelpunktion etwa doppelt so hoch wie die üblicherweise für unstimulierte Frauen angegebenen Normwerte (12,68 ± 8,98 ng/ml vs. 5,5 ± 8,92 ng/ml, siehe [21]). Darüber hinaus konnte in unserem Kollektiv keinerlei Korrelation zwischen der Leptinmenge und dem Body mass Index (BMI) gefunden werden (siehe Tab. 1).

Im Vergleich von Leptin im Serum mit Leptin in der Follikelflüssigkeit fanden wir eine statistisch hoch signifikante Korrelation (r = 0,74, p < 0,0001) zwischen beiden Parametern (Abb. 3).

Um festzustellen, ob der Leptingehalt in der Follikelflüssigkeit möglicherweise mit einer allgemein vermehrten Proteinbiosynthese in Zusammenhang steht, haben wir den Gesamtproteingehalt der Follikelflüssigkeiten bestimmt. Hierbei konnte keinerlei Korrelation zwischen Leptin und Proteinspiegel gefunden werden (r = 0,168, p = 0,165) (Abb. 4). Um eine mögliche hormonelle Regulation der Leptinproduktion unter Stimulationsbehandlung aufzudecken, wurde in unserer

Tabelle 1: Klinische Daten der in die Studie einbezogenen 31 Patientinnen. BMI = „body mass index" in kg/m^2 (Körpergewicht in Kilogramm durch Größe in Meter zum Quadrat). I = idiopathische Sterilität, M = male factor, E = Endometriose, T = Tubenfaktor, EU = extrauterine Schwangerschaft.

Pat.	Alter	BMI	Diagnose	Therapie	FSH (IU)	Serum-Leptin (ng/ml)	Schwanger
1	29	22,06	I	IVF	2325	11,5	ja
2	36	17,51	E+M	ICSI	1425	11,3	ja
3	34	25,48	T	IVF	3750	4,3	nein
4	35	23,24	E+T	IVF	1650	4,2	nein
5	36	21,93	M	ICSI	2350	23,3	nein
6	32	18,36	I	ICSI	1650	46,1	ja
7	31	19,57	T	IVF	1450	9,1	ja
8	37	25,46	T	IVF	2775	31,9	ja
9	37	22,10	T	IVF	2400	18,9	nein
10	27	34,29	T	IVF	2325	11	nein
11	30	20,28	T	IVF	1650	11,6	nein
12	32	25,72	I	ICSI	1875	4,4	nein
13	32	20,10	T+M	ICSI	2250	19,9	ja
14	36	23,92	I	IVF	2475	18	ja
15	37	23,52	T	ICSI	2400	13,8	ja
16	27	22,81	M	ICSI	2400	4,8	nein
17	40	24,03	T	ICSI	1200	11,8	nein
18	34	24,08	I	IVF	1950	5	nein
19	28	20,70	T+M	ICSI	950	9,7	nein
20	32	26,18	T	IVF	3000	18	ja
21	37	19,72	T	IVF	1500	9,6	nein
22	27	25,05	I	ICSI	1950	10	nein
23	27	25,05	I	ICSI	2175	9,5	ja
24	32	21,67	E+T	IVF	1725	9,2	EU
25	33	19,33	E+M	ICSI	1500	7,9	nein
26	32	23,88	T	IVF	1875	7,6	nein
27	31	19,92	E+T	ICSI	1650	5,3	nein
28	33	23,95	E	IVF	1800	15,7	ja
29	35	22,06	I	ICSI	1350	22,9	nein
30	40	20,31	M	ICSI	1125	7,9	nein
31	26	20,45	M	IVF	1875	4,9	nein

Abbildung 1: Leptin-Konzentrationen in Follikelflüssigkeiten von Follikeln unterschiedlicher Größe. Die Leptinkonzentration nimmt mit steigendem Follikeldurchmesser zu, wobei eine deutliche, statistisch signifikante Leptinzunahme bei großen Follikeln auffällt.

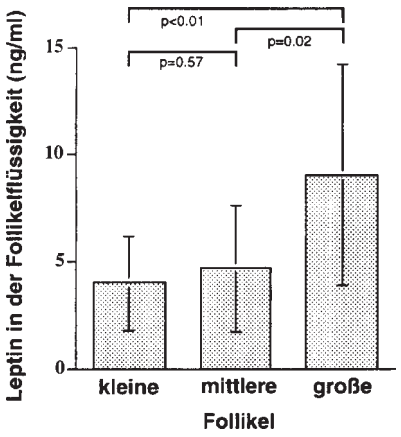
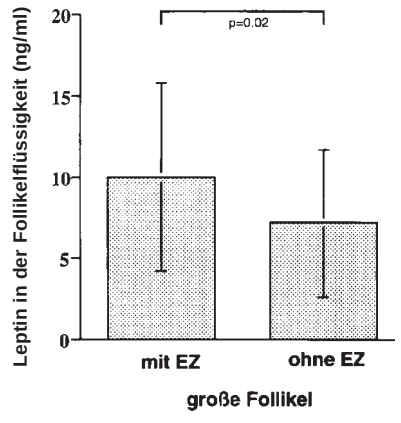


Abbildung 2: Leptin-Konzentrationen in Follikelflüssigkeiten mit und ohne Eizelle. Es wurden nur große Follikel einbezogen. Konnte eine Eizelle gefunden werden, so war der Leptinspiegel statistisch signifikant höher als in Follikelflüssigkeiten ohne Eizelle.



Studie die applizierte Menge an rekombinantem FSH mit dem Leptinspiegel sowohl im Serum als auch in der Follikelflüssigkeit verglichen. Dabei zeigte sich, daß keinerlei Korrelation zwischen diesen beiden Parametern herzustellen war (Abb. 5). Weiters haben wir Östradiol, Progesteron und Prolaktin im Serum und in den Follikelflüssigkeiten bestimmt. Wir fanden einen Anstieg der Konzentrationen dieser drei Hormone mit steigendem Durchmesser der Follikel (Tab. 2). Des weiteren fanden wir, daß in Follikeln mit Eizelle in der punktierten Follikelflüssigkeit die jeweiligen Hormonwerte höher lagen als in jenen ohne Eizelle (Tab. 2). Die in den individuellen Follikelflüssigkeiten gemessenen Hormonwerte korrelierten jedoch nicht mit den entsprechenden Leptinkonzentrationen (Abb. 5). Ebenfalls konnte keine Korrelation zwischen Östradiol ($r = 0{,}063$, $p = 0{,}60$), Progesteron ($r = 0{,}058$, $p = 0{,}63$) und Prolaktin ($r = -0{,}172$, $p = 0{,}15$) im Serum und den jeweiligen Leptinwerten in den Follikelflüssigkeiten gefunden werden.

DISKUSSION

In vorangegangenen Untersuchungen ist gezeigt worden, daß Leptin in humaner Follikelflüssigkeit vorkommt und von Granulosazellen des Ovars produziert wird [16]. Es wird angenommen, daß ein Teil des Leptins von der Follikelflüssigkeit in die reifende Oozyte gelangt und dort peripher und polarisiert in das Zytoplasma eingelagert wird [17]. Bisher ist noch unklar, inwieweit Leptin für die

Abbildung 3: Korrelation zwischen der Konzentration von Leptin in Follikelflüssigkeiten großer Follikel und im Serum von Patientinnen am Tag der Follikelpunktion. Man erkennt eine hoch signifikante Korrelation zwischen diesen beiden Parametern mit hohem Korrelationskoeffizient.

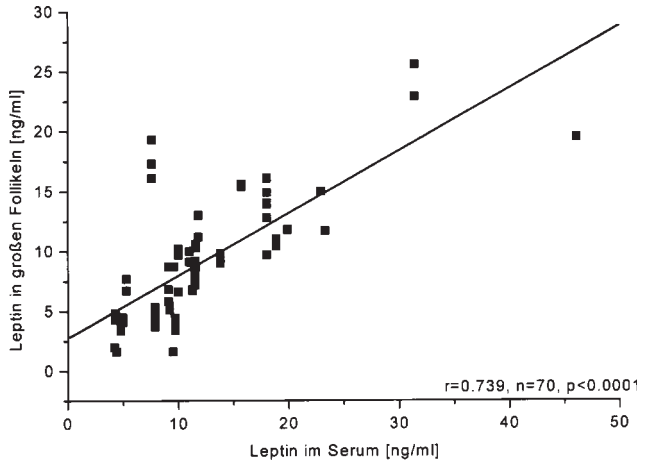


Abbildung 4: Korrelation zwischen der Leptin-Konzentration und dem Proteingehalt von Follikelflüssigkeiten großer Follikel. Es läßt sich keine signifikante Korrelation zwischen diesen beiden Parametern herstellen, der Korrelationskoeffizient ist mit $r = 0{,}168$ sehr niedrig.

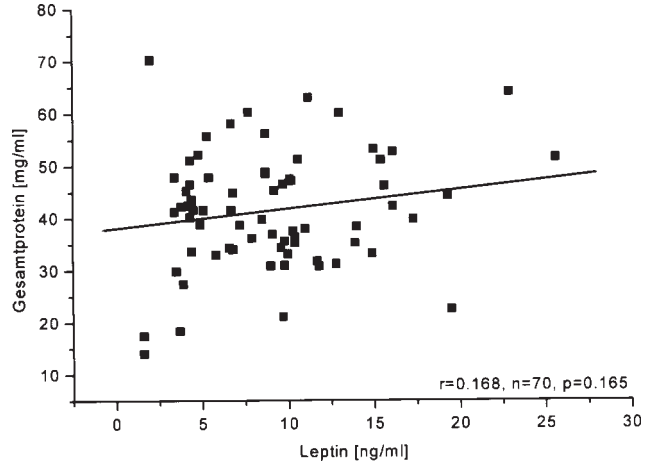


Tabelle 2: Hormon-Konzentrationen in Follikelflüssigkeiten von Follikeln unterschiedlicher Größe, wobei bei großen Follikeln das Vorkommen von Eizellen (EZ) in der aspirierten Follikelflüssigkeit berücksichtigt wurde. Sowohl Östradiol-, als auch Progesteron-, Prolaktin- und Leptin-Konzentrationen steigen mit dem Follikeldurchmesser an, wobei in großen Follikeln mit Eizellen jeweils die höchsten Hormonwerte gemessen wurden,

Hormon	Follikeldurchmesser				
	Klein (< 16 mm)	Mittel (16–19 mm)	Groß (> 19 mm)	Groß mit EZ	Groß ohne EZ
Östradiol (ng/ml)	58 ± 22	72 ± 28	224 ± 43	276 ± 67	192 ± 46
Progesteron (ng/ml)	2348 ± 682	2575 ± 568	5718 ± 1365	6618 ± 1587	5139 ± 890
Prolaktin (ng/ml)	2,8 ± 0,8	4,4 ± 1,3	14,0 ± 3,7	17,2 ± 4,0	12,1 ± 3,1
Leptin (ng/ml)	3,99 ± 2,19	4,67 ± 2,96	9,03 ± 5,15	10,12 ± 5,67	7,84 ± 4,28

Reifung und Differenzierung von Follikel und Eizelle von funktioneller Bedeutung ist. Ebenso ist ungeklärt, welcher molekularen Regulation die Leptinproduktion unter hormoneller Stimulation unterliegt. Patientinnen während einer kontrollierten hormonellen Ovarialstimulation zeigen einen signifikanten Anstieg von Leptin im Serum von Tag drei bis neun des Stimulationszyklus, der bis zum Zeitpunkt der Ovulationsauslösung konstant erhöht bleibt [22]. Deutliche Schwankungen der Leptinmenge im Serum von Patientinnen während des normalen Menstruationszyklus sowie Leptinmangel bei Oligo- und Amenorrhoe signalisieren eine weitere mögliche physiologische Rolle des Leptins für die humane Reproduktion [23].

Ziel unserer Studie ist es, die Leptinmenge bei IVF- und ICSI-Patientinnen sowohl im Serum als auch in den individuellen Follikelflüssigkeiten von Follikeln unterschiedlicher Größe nach hormoneller Stimulation mit rekombinantem FSH zu bestimmen. Dabei ist auch das Vorkommen von Eizellen in großen Follikeln berücksichtigt worden. Zusätzlich haben wir die Leptinspiegel mit den Konzentrationen von Östradiol, Progesteron und Prolaktin verglichen, um einen möglichen Einfluß dieser Hormone auf die Leptinsynthese aufzuzeigen. Dabei finden wir, daß sowohl die Menge an Leptin als auch die Konzentration der gemessenen Hormone in der Follikelflüssigkeit mit der Größe und damit dem Reifegrad der Follikel zunimmt. Jedoch kann keinerlei Korrelation zwischen Leptin und den jeweiligen Hormonwerten hergestellt werden. Daraus schließen wir, daß diese Hormone keinen direkten Einfluß auf die Leptinmenge in der Follikelflüssigkeit ausüben. Auch im Serum der untersuchten Patientinnen ist offensichtlich die Leptinmenge unabhängig, sowohl von der Menge an appliziertem, rekombinantem FSH als auch der Konzentration von Östradiol, Progesteron und Prolaktin. Dies steht im Gegensatz zu Untersuchungen an Frauen im Spontanzyklus, bei denen Leptin- und Progesteronmengen im Serum korrelieren [24]. Zusätzlich finden wir, in Übereinstimmung mit anderen Autoren [16], nach kontrollierter hormoneller Stimulation bei unseren Patientinnen keinerlei Korrelation zwischen Serumleptin und BMI, welches ebenfalls gegensätzlich zu hormonell unstimulierten und nicht schwangeren Frauen steht, bei denen eine hoch signifikante Übereinstimmung dieser beiden Parameter besteht [24].

Um festzustellen, ob die unter hormoneller Stimulation erhöhten Leptinspiegel im Serum Ausdruck einer generell erhöhten Proteinbiosynthese sind, haben wir Leptin und Gesamtproteinmenge in Follikelflüssigkeiten und Serum gemessen. Da wir keinerlei Zusammenhang zwischen diesen beiden Faktoren finden, schließen

Abbildung 5: Korrelation zwischen der Leptin-Konzentration in Follikelflüssigkeiten großer Follikel und dem FSH-Spiegel im Serum nach hormoneller Stimulation mit rekombinantem FSH. Es läßt sich keine signifikante Korrelation dieser beiden Parameter herstellen.

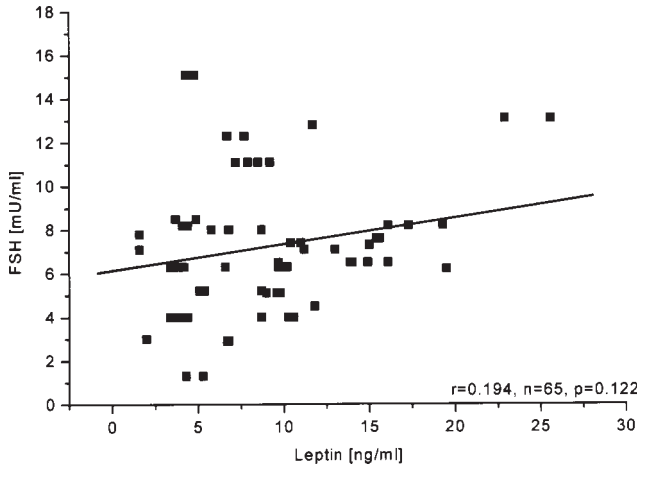
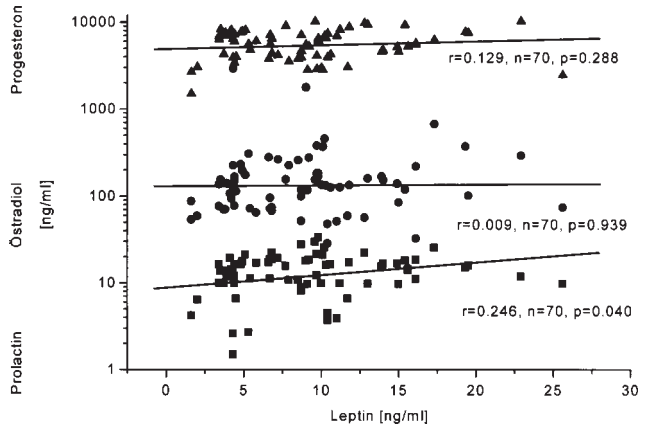


Abbildung 6: Korrelation zwischen Leptin-Konzentration und Östradiol (●), Progesteron (▲) und Prolaktin (■) in Follikelflüssigkeiten großer Follikel. Keines der genannten Hormone korreliert mit Leptin.



wir, daß es sich hierbei um eine spezifische Leptinanreicherung handelt, die allerdings nicht über eine generell erhöhte Proteinproduktion erklärt werden kann. Spezifische Leptinsynthese steht normalerweise unter multihormoneller Kontrolle und kann unter anderem auch durch Glukokortikoide, Insulin und Wachstumsfaktoren beeinflußt werden [25–27]. Unter kontrollierter hormoneller Überstimulation unserer untersuchten Patientinnen finden wir jedoch, daß die Hormone Östradiol, Progesteron und Prolaktin keinen Zusammenhang mit der Leptinmenge aufweisen. Dies legt nahe, daß eher einer der oben genannten Faktoren die Leptinsynthese kontrollieren kann.

In unserem Patientenkollektiv finden wir eine hoch signifikante Korrelation zwischen der Konzentration von Leptin in der Follikelflüssigkeit großer Follikel und im Serum. Daraus schließen wir, daß unter hormoneller Stimulation sowohl die systemische als auch die ovarielle Produktion von Leptin angeregt wird. Wäre einerseits nur die systemische Produktion von Leptin für dessen Anreicherung verantwortlich, sollten wir in allen Follikeln ein und der selben Patientin annähernd gleiche Leptinspiegel finden. Dies ist jedoch nicht der Fall. Würde es sich andererseits um eine vorwiegend auf das Ovar bezogene Leptinstimulation handeln, wäre in den Follikelflüssigkeiten ein bedeutend höherer Leptinwert als im Serum zu erwarten. Auch diese Interpretation steht im Gegensatz zu unseren Ergebnissen. Weitere Untersuchungen sollen zur Lösung dieses Problems beitragen.

Bedingt durch technische Faiblesse können wir nicht sicher sagen, daß in großen Follikeln ohne Eizelle wirklich keine Eizelle vorkommt, da die Spülflüssigkeiten, in denen gelegentlich Eizellen zu finden sind, nicht den entsprechenden Follikeln zugeordnet wurden. Trotzdem sehen wir eine deutliche Tendenz zu höheren Leptin-, Östradiol-, Progesteron- und Prolaktinwerten in Follikeln mit Eizelle in der punktierten Follikelflüssigkeit. Sollte in Zukunft durch technische Verbesserung eine Zuordnung der in den Spülflüssigkeiten gefundenen Eizellen zu den entsprechenden Follikeln möglich sein, würden unsere Befunde sogar noch deutlicher ausfallen.

Außerdem sehen wir für alle untersuchten Hormone eine kontinuierliche Zunahme der Konzentration mit dem Follikeldurchmesser. Aus diesen Ergebnissen schließen wir, daß sowohl Leptin, als auch Östradiol, Progesteron und Prolaktin für Wachstum und Differenzierung von Ovarialfollikeln von Bedeutung sind. Es ist jedoch kein direkter Einfluß von Östradiol, Progesteron oder Prolaktin auf die Leptinsynthese zu erkennen. Tatsache ist, daß unter hormoneller Stimulation die Leptinsynthese im Körper deutlich erhöht ist, jedoch einem anderen oder zusätzlichen Regulationsmechanismus unterliegt als im Spontanzyklus.

Dr. Hans Joachim Wolf

Geboren 1962 in St. Veit/Glan. Medizinstudium in Innsbruck von 1981 bis 1989. Promotion zum Dr. med. in Innsbruck 1989. Von 1990 bis 1994 Assistenzarzt am Institut für Histologie und Embryologie der Medizinischen Fakultät Innsbruck. Seit 1994 Assistenzarzt an der Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe Innsbruck.

Wissenschaftliche Tätigkeit auf den Gebieten Histologie, Histochemie, Elektronenmikroskopie zu Themen betreffend humane Plazenta und freie Eihäute sowie biochemische Studien im Rahmen der humanen Reproduktion.

Korrespondenzadresse:
Dr. med. Hans Joachim Wolf
Universitätsklinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
A-6020 Innsbruck, Anichstraße 35

DANKSAGUNG

Unsere Forschung wird von der Österreichischen Nationalbank (Projekt 7006) und von Serono mitfinanziert. Wir bedanken uns bei Herrn Prof. Dr. C. Marth, amtierender Vorstand der Universitätsklinik für Frauenheilkunde Innsbruck, für seine großzügige Unterstützung.

Literatur:

1. Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME, Ewart-Toland A. The role of leptin in reproduction. In: Blum WF, Kiess W, Rascher W (eds.). Leptin – the voice of the adipose tissue. Barth Verlag, Edition J&J 1997; 173–80.
2. Friedman JM. Leptin, leptin receptors, and the control of body weight. Nutrition Rev 1998; 56: 38–46.
3. Messinis IE, Milingos S, Zikopoulos K. Leptin concentration in the follicular phase of spontaneous cycles and cycles superovulated with follicle stimulating hormone. Hum Reprod 1998; 13: 1152–6.
4. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 1994; 372: 425–32.
5. Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Nyce MR, Magosin SA, Bauer TL, Rosato EL, Caro JF. Evidence against either a premature stop codone or the absence of obese gene mRNA in human obesity. J Clin Invest 1995; 95: 2986–8.
6. Lee GH, Proenca R, Montez JM, Caroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. Nature 1996; 379: 632–5.
7. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Woolf EA, Selent-Munro C, Tepper RI. Identification and expression cloning of the leptin receptor, OB-R. Cell 1995; 83: 1263–71.
8. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstein JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. Cell 1996; 84: 491–5.
9. Stephens TW, Basinski M, Bristow BK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, Hale J, Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, MacKellar W, Rosteck PR Jr., Schoner B, Smith D, Tinsley FC, Zhang XY, Heiman M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. Nature 1995; 377: 530–2.
10. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the ob gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science 1995; 269: 540–3.
11. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science 1995; 269: 543–6.
12. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. J Hered 1950; 41: 317–8.
13. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. Nature Genet 1996; 12: 318–20.
14. Mounzih K, Lu R, Chehab FF. Leptin treatment rescues the sterility of genetically ob/ob males. Endocrinol 1997; 138: 1190–3.
15. Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D, Snodgrass HR. Novel B219.OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. Nature Med 1996; 2: 585–9.
16. Cioffi JA, Van Blerkom J, Antczak M, Shafer A, Wittmer S, Snodgrass HR. The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. Mol Hum Reprod 1997; 3: 467–72.
17. Antczak M, Van Blerkom J. Oocyte influences on the early development: the regulatory proteins leptin and STAT3 are polarized in mouse and human oocytes and differentially distributed within the cells of the preimplantation stage embryo. Mol Hum Reprod 1997; 3: 1067–86.
18. Zachow RJ, Magoffin DA. Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent 17 beta-estradiol production by rat ovarian granulosa cells. Endocrinol 1997; 138 (2): 847–50.
19. Micic D, Macut D, Popovic V, Sumarac-Dumanovic M, Kendereski A, Colic M, Dieguez C, Casanueva FF. Leptin levels and insulin sensitivity in obese and non-obese patients with polycystic ovary syndrome. Gynecol Endocrinol 1997; 11 (5): 315–20.
20. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265–75.
21. Schubring C, Kiess W, Englaro P, Rascher W, Dötsch J, Hanitsch S, Attanasio A, Blum WF. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. J Clin Endocrinol Metabol 1997; 82: 1480–3.
22. Strowitzki T, Kellerer M, Capp E, Haring HU. Increase in serum leptin concentrations in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction. Gynecol Endocrinol 1998; 12 (3): 167–9.
23. Macut D, Micic D, Pralong FP, Bischof P, Campana A. Is there a role for leptin in human reproduction? Gynecol Endocrinol 1998; 12 (5): 321–6.
24. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P. Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy. Clin Endocrinol 1997; 47: 101–6.
25. De Vos P, Lefevbre AM, Shrivo I, Fruchart JC, Auxwert L. Glucocorticoids induce the expression of the leptin gene through a non-classical mechanism of transcriptional activation. Eur J Biochem 1998; 253 (3): 619–26.
26. Halleux CM, Servais I, Reul BA, Detry R, Brichard SM. Multihormonal control of ob gene expression and leptin secretion from cultured human visceral adipose tissue: increased responsiveness to glucocorticoids in obesity. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83 (3): 902–10.
27. Barkan D, Jia H, Dantes A, Vardimon, Amsterdam A, Rubinstein M. Leptin modulates the glucocorticoid-induced ovarian steroidogenesis. Endocrinol 1999; 140 (4): 1731–8.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere

zeitschriftenübergreifende Datenbank

☑ **Bilddatenbank** ☑ **Artikeldatenbank** ☑ **Fallberichte**

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

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

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

☑ **Bestellung e-Journal-Abo**

Haftungsausschluss

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

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum **Disclaimers & Copyright** **Datenschutzerklärung**