

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

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



6. Treffen des Arbeitskreises Molekularbiologie in der DGGEF, 13.-14. Oktober 2006, Düsseldorf (Abstracts)

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2007; 4 (1), 38-44

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

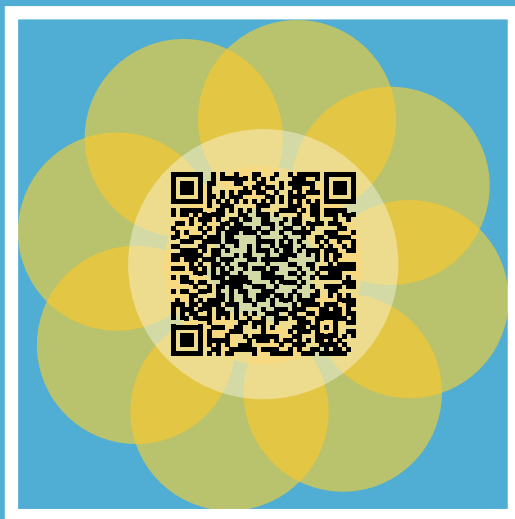
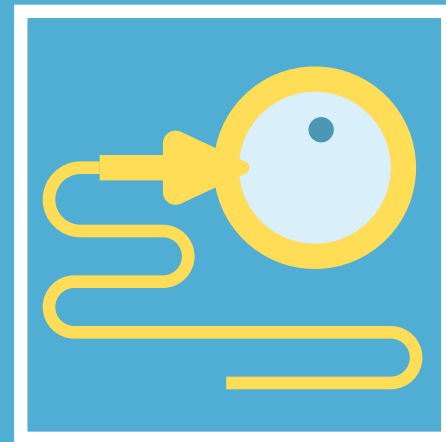
Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

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

Call for Abstracts

10. DVR-KONGRESS

20.09.-22.09.2023



World Conference Center BONN

Prof. Dr. med. Jean-Pierre Allam

PD Dr. rer. nat. Verena Nordhoff

Prof. Dr. med. Nicole Sänger

PROGRAMM JETZT ONLINE!

Download und weitere Informationen unter

www.DVR-KONGRESS.de

BACK TO THE FUTURE

6. TREFFEN DES ARBEITSKREISES MOLEKULARBIOLOGIE IN DER DGGEF 13.–14. OKTOBER 2006, DÜSSELDORF ABSTRACTS *

Einführung

Vor nunmehr 6 Jahren wurde der Arbeitskreis Molekularbiologie der DGGEF mit einem ersten Treffen in Düsseldorf ins Leben gerufen. Zwischenzeitlich hat sich hieraus ein jährliches Meeting entwickelt, welches nach Veranstaltungen in Münster, Gießen und Essen nun wieder in Düsseldorf stattgefunden hat. In diesem Arbeitskreis haben vorwiegend jüngere Reproduktionsmedizinerinnen und -mediziner, aber auch Reproduktionsbiologinnen und -biologen, die sich im Rahmen ihrer unterschiedlichen Forschungsprojekte mit molekularbiologischen Techniken beschäftigen, eine informelle Möglichkeit gefunden, ihre Arbeiten vorzustellen. Hierdurch haben sich bereits verschiedene Kooperationen der Arbeitsgruppen in unterschiedlichen Forschungsgebieten ergeben.

Auch können sich hier an einem wissenschaftlichen Forschungsaufenthalt im Ausland interessierte jüngere Kolleginnen und Kollegen mit denjenigen austauschen, die hiermit schon über eigene Erfahrungen verfügen. So konnten bereits Kontakte zu interessanten Arbeitsgruppen im Ausland geknüpft werden. Die Anzahl der Teilnehmer wurde bewußt erneut auf ca. 30 begrenzt, da durch diesen kleinen Rahmen eine Gelegenheit zur Diskussion besteht, wie sie sich auf großen Kongressen nur selten ergibt. Wie stets wurde der Hauptteil des Treffens mit Vorträgen der einzelnen Teilnehmer besetzt.

Zur Eröffnung wurde auf Einladung der Veranstalter von Herrn Priv.-Doz. Dr. Udo Markert aus dem Plazentalabor der Universitäts-Frauenklinik Jena ein Übersichts-vortrag zu den molekularen Mechanismen der Trophoblastinvasion 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 Frau Priv.-Doz. Dr. Ruth Grümmer, Institut für Anatomie der Universität Essen, für ihre Arbeit „Blastocyst-Mediated Induction of Early Response Genes in the Receptive Endometrium“ zuerkannt. Die Auswahlbegutachtung der wissenschaftlichen Abstracts erfolgte durch die Organisatoren des Treffens, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Jan-Steffen Krüssel und Herrn Dr. rer. nat. Jens Hirchenhain, Düsseldorf. Die Vergabe des Preises erfolgte – wie bei diesem Arbeitstreffen üblich – durch geheime Wahl aller Teilnehmer.

Priv.-Doz. Dr. med. Jan-Steffen Krüssel
Organisationskomitee

CCR1 mRNA EXPRESSION IN PERIPHERAL BLOOD AS A DIAGNOSTIC TEST FOR ENDOMETRIOSIS

A. Agic¹, H. Xu^{1,2}, M. Rehbein¹,
M. M. Wolfler³, A. D. Ebert⁴, D. Hornung¹
¹Department of Obstetrics and Gynecology, University of Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Germany, ²Women's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, P.R. China, ³Department of Obstetrics and Gynecology, Aachen, Germany, ⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Vivantes-Humboldt-Klinikum, Berlin, Germany

CCR1 is a G protein-coupled cognate chemokine (CC) receptor with high affinity for RANTES (Regulated upon Activation, Normal T cells Expressed and Secreted), expressed on the surface of neutrophil/mononuclear leukocytes. We investigated the expression of CCR1 in peripheral blood leukocytes of women

* In alphabetischer Reihenfolge nach Erstautoren. Begutachtet und zusammengestellt von den Organisatoren, Priv.-Doz. Dr. med. Jan-Steffen Krüssel und Dr. rer. nat. Jens Hirchenhain, Düsseldorf.

with and without endometriosis, and its potential use as a diagnostic test for endometriosis. The expression of CCR1 mRNA in peripheral blood leukocytes was measured by quantitative Real-Time PCR. The ratio of CCR1/HPRT (Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase-housekeeping gene) mRNA in patients with endometriosis was significantly elevated compared to women without endometriosis. Expression of CCR1 mRNA was also significantly increased in pregnancy and in acute inflammation compared to the control group. This method showed a sensitivity of 90 %, a specificity of 74 %, a negative predictive value of 85 % and a positive predictive value of 82 % for predicting the presence of endometriosis. Our results imply the potential use of CCR1 mRNA measurement for the diagnosis or exclusion of endometriosis, whereas pregnancy, cancer, rheumatoid arthritis and acute inflammation should be excluded. Patients with an earlier diagnosis of this disease have a better treatment outcome and a reduced recurrence rate. Therefore, CCR1 mRNA measurement in the peripheral blood of patients with suspected endometriosis might give us a new perspective in diagnosing and treating this disease earlier and better.

DIE MULTIPLEN EIGENSCHAFTEN DES PEPTIDHORMONS RELAXIN IN DER SCHWANGERSCHAFT UND WIRKUNG VON RELAXIN UND VERWANDTER PEPTIDE AUF DAS HUMANE CYCLOOXYGENASESYSTEM

D. M. Baston, U. Friebe-Hoffmann,
J. Hirchenhain, J.-S. Krüssel
Perinatologische AG, Frauenklinik,
Universitätsklinikum Düsseldorf

Einführung: Relaxin (RLX) existiert in der Schwangerschaft ambivalent als lokal exprimiertes (Myometrium, Dezidua, Plazenta) und als aus dem Corpus luteum sezerniertes Hormon, das vielfältige Aufgaben in den unterschiedlichen zeitlichen Abschnitten einer Schwangerschaft wahrnimmt (Implantation, Immunsystem, Zervixreifung). Erhöhte Serum-RLX-Niveaus, z. B. nach einer Superstimulation im Rahmen einer IVF-Behandlung, gelten als ein mögliches Indiz für eine Frühgeburt. Konträr dazu verhält sich das Hormon im Tiermodell, in dem die Geburt nach Gabe von wehenauslösenden Mitteln durch RLX-Applikation über mehrere Tage hinausgezögert werden konnte. Klinische Tests mit RLX als Tokolytikum führten nicht zu einer wirksamen

Wehenhemmung. Zum Nachweis beteiligter Signalwege und -moleküle, u. a. auch zur Untersuchung potentieller materno-fetaler Interaktionen, dienen Modelle aus primären humanen Dezi- und Myometriummzellen.

Material und Methoden: Von schwangeren Patientinnen (28.–42. SSW) wurden nach elektiver Sectio caesarea Primärkulturen von Myometrium und Dezidua angelegt, die sowohl für unterschiedliche Zeiten (0–96 h) als auch in unterschiedlichen Konzentrationen (10 pg/ml–20 µg/ml, später 15 ng/ml) mit RLX inkubiert wurden. Der Nachweis des Einflusses von RLX wurde anhand von Rezeptor-Bindungsstudien (für OTR), OTR- und COX-1/COX-2 mRNA und Proteinexpression mittels Real-Time-PCR, FACS-Analyse und Western blot erbracht.

Ergebnisse: Bei Inkubationszeiten mit RLX von über 24 h ergab sich eine Reduktion der OTR-Bindung von 22–28 %, ebenso wurden die Expression der OTR mRNA um bis zu 70 % und die Proteinexpression signifikant reduziert. Des Weiteren konnten wir eine Induktion der COX-2-Expression und eine Regulation der momentan in ihrem fakultativen Charakter diskutierten COX-1 nachweisen.

Diskussion und Ausblicke: RLX spielt im Rahmen der Implantation und der zur Geburt beitragenden Mechanismen eine außerordentlich wichtige Rolle und wir erhoffen uns aus folgenden Experimenten (u. a. auch Knockdown-Versuche) nähere Aufschlüsse über den Beitrag RLX-vermittelter Signale zur Wehenausprägung und Prophylaxe frühzeitiger Wehentätigkeit.

PRÄIMPLANTATIONS-DIAGNOSTIK IN DEUTSCHLAND

M. Bloechle
Kinderwunschzentrum an der
Gedächtniskirche, Berlin

Einführung: Das deutsche Embryonenschutzgesetz wurde in der Vergangenheit weithin so interpretiert, daß Präimplantationsdiagnostik am menschlichen Embryo in Deutschland verboten sei.

Durch die Kombination von Polkörperdiagnostik und Trophektodermbiopsie

ist aber Präimplantationsdiagnostik ohne Verstoß gegen das Deutsche Embryonenschutzgesetz möglich.

Material und Methoden: Wir berichten über ein primär steriles Paar. Der Ehemann weist eine andrologische Subfertilität auf und ist Träger einer Robertson'schen Translokation (45, XY [der 13;14]). Nach üblicher Ovarialstimulation wurden acht Eizellen aspiriert. Diese wurden der ICSI-Maßnahme und 6 Stunden später einer Polkörperbiopsie unterzogen. Die Polkörper wurden mittels FISH auf die Chromosomen 13, 16, 18, 21 und 22 untersucht.

Ergebnisse: Nach ICSI wiesen am Tag +1 vier Eizellen zwei Polkörper auf. Von diesen wurden unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Polkörperdiagnostik drei Eizellen im Pronukleusstadium in die weitere Embryokultur übernommen.

Am Tag +5 hatten sich alle drei Embryonen zu Blastozysten entwickelt. Es wurde an allen drei Embryonen eine Trophektodermbiopsie entnommen. Zwei Embryonen konnten durch FISH-Analyse der Biopsate als aneuploid identifiziert werden, bei dem dritten Embryo ergab die FISH-Analyse kein verwertbares Ergebnis. Die Patientin verweigerte den Transfer der aneuploiden Embryonen und gestattete nur den Transfer des Embryos ohne Ergebnis nach der genetischen Untersuchung. Dieser Patientinnenwille wurde gemäß §4(2) ESchGes respektiert. Eine Schwangerschaft trat nicht ein.

Diskussion: Mit dem Berliner Protokoll der PID wird anhand einer Kasuistik ein diagnostisches Procedere dargestellt, welches auch in Deutschland eine Präimplantationsdiagnostik für Translokationspatienten mit Kinderwunsch unter Beachtung der Regelungen des Deutschen Embryonenschutzgesetzes ermöglicht. Damit kann der Transfer aneuploider Embryonen, welche nur zu abortiven, jedoch nicht zu vitalen Schwangerschaften führen können, vermieden und den Patientinnen zusätzliches physisches und psychisches Leid durch ein Abortgeschehen und die notwendigen medizinischen Maßnahmen zur Abortausräumung erspart werden.

VERGLEICH UNTERSCHIEDLICHER PROTOKOLLE ZUR OVARIELLEN KRYOKONSERVIERUNG ANHAND VON HISTOMORPHOMETRIE UND MOLEKULARBIOLOGISCHEN MARKERN

M. Brune¹, J. Wistuba¹, C. M. Luetjens¹, M. Götte², L. Kiesel², E. Nieschlag¹, M. Simoni¹, V. von Schönfeldt¹, B. Sonntag²

¹Institut für Reproduktionsmedizin und ²Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Universitätsklinikum Münster

Einführung: Fortschritte in der Behandlung onkologischer Erkrankungen haben in den vergangenen Jahren zu einer deutlichen Verbesserung der Überlebensprognose insbesondere bei jungen Patienten geführt. Jedoch rufen zahlreiche Therapieregime ein ovarielles Versagen mit Infertilität hervor. Durch Entnahme und Kryokonservierung von Ovargewebe vor Therapiebeginn sollen die im Gewebe enthaltenen Eizellen geschützt und als Fertilitätsreserve im Falle eines späteren Kinderwunsches erhalten werden. Bisher sind mehrere Schwangerschaften sowie zwei Geburten unter Verwendung menschlichen kryokonservierten Ovargewebes beschrieben. Wesentliche Fragen zu Entwicklungspotential, Funktionsbeurteilung und sicherer Nutzung des gelagerten Gewebes sind allerdings noch ungeklärt.

Material und Methoden: Ovargewebe prä- und postpubertärer Weißbüschelaffen (*Callitrix jacchus*) wird nach unterschiedlichen, bisher in verschiedenen Spezies erfolgreich eingesetzten Protokollen kryokonserviert. Nach Lagerung, Auftauen und anschließender Gewebekultur werden Vitalitätsrate und Funktionserhalt mit nicht kryokonserviertem Gewebe verglichen. Dieser Vergleich erfolgt durch Analyse von Histomorphometrie, Proliferations- und Apoptosemarkern.

Ergebnisse: Die Effizienz der untersuchten Protokolle bezüglich Follikelvitalität und Entwicklungspotential im Empfängerorganismus wird zunächst histomorphometrisch beurteilt. Der zusätzliche Einsatz von molekularbiologischen und immunhistochemischen Methoden erlaubt präzisere Aussagen bezüglich der später zu erwartenden Transplantatfunktion.

Diskussion: Infolge der hier beschriebenen Untersuchungen wird erstmalig im nicht-humanen Primatenmodell eine systematische Analyse der Vitalität und des Entwicklungspotentials kryokonservierten ovariellen Gewebes ermöglicht. Die Übertragung der in diesem Tiermodell erzielten Resultate soll eine Optimierung der Kryokonservierung menschlichen Ovargewebes ermöglichen und somit einen Beitrag zur Etablierung einer sicheren effizienten Option zum Erhalt der Fertilität bei Krebspatientinnen leisten.

EINFLUSS VERSCHIEDENER PROSTAGLANDINE AUF DIE UTERINE KONTRAKTILITÄT UND PERISTALTIK IM SCHWEINEUTERUS-MODELL

R. Dittrich, T. Maltaris, I. Hoffmann,
M. W. Beckmann, A. Mueller
Frauenklinik des Universitätsklinikums
Erlangen

Fragestellung: Prostaglandine sind im Seminalplasma enthalten, werden aber auch vom Myometrium bzw. Endometrium selber synthetisiert und können somit zum Zeitpunkt der Reproduktion wie auch in der Schwangerschaft an der Regulation der uterinen Kontraktilität beteiligt sein. Bisher sind wenig vergleichende Daten hinsichtlich der kontraktilen Wirkung verschiedener Prostaglandine am kompletten Organ Uterus vorhanden.

Methodik: Ein extrakorporales Schweineuterus-Perfusionsmodell wurde zur Untersuchung physiologischer Organfunktionen etabliert und an diesem der Effekt von verschiedenen Prostaglandinen im Vergleich zu Oxytozin auf die uterine Kontraktilität und Peristaltik mit Hilfe intrauteriner Mikrochipkatheter untersucht.

Ergebnisse: Ein konzentrationsabhängiger Anstieg des intrauterinen Drucks im Isthmus uteri ($p < 0,001$) und Corpus uteri ($p < 0,001$) wurde nach Gabe von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), Prostaglandin E_1 (PGE_1), Prostaglandin E_2 (PGE_2) und Oxytozin beobachtet. Nach Gabe von Prostaglandin E_1 (PGE_1) und Prostaglandin E_2 (PGE_2) zeigte sich ein Plateau des intrauterinen Druckanstieges im mittleren Konzentrationsbereich sowohl im Isthmus uteri wie auch im Corpus uteri,

gefolgt von einem Abfall des intrauterinen Drucks bei weiterer Stimulation.

Schlußfolgerung: Diese Ergebnisse zeigen, daß die getesteten Prostaglandine die uterine Kontraktilität und Peristaltik unterschiedlich beeinflussen und charakteristische Kontraktionsmuster hervorrufen können.

CYCLIC EXPRESSION OF CYR61 IN ENDOMETRIUM AND ITS REGULATION IN VITRO

I. Gashaw¹, S. Stiller¹, C. Böing²,
R. Kimmig², E. Winterhager¹
¹Institute of Anatomy and ²Department
of Obstetrics and Gynaecology, University
of Duisburg-Essen

CYR61 (cysteine-rich protein 61, CCN1) is a member of a family of growth factor-inducible immediate-early genes, which have been shown to be crucial for angiogenesis and involved in endometriosis. In this study, we investigated the CYR61 expression pattern in the human endometrium during cycling and its possible regulation mechanisms in endometrial cell lines. CYR61 mRNA and protein expression were investigated in endometrial tissues of 54 cycling women obtained at different stages of the menstrual cycle and dated histologically to early, mid and late proliferative, early, mid and late secretory as well as menstrual phase. To investigate further the oestrogen-, cytokine- and oxygen-dependent regulation of CYR61 expression we used two endometrial epithelial cell lines, HES and RL95-2, which express both estrogen receptors (ESR1 and ESR2) and the EGF receptor 1 (HER1).

CYR61 mRNA levels were significantly higher in the proliferative compared to the secretory phase. In the secretory phase, the levels constitutively increased from early to late secretory stage. Maximal CYR61 mRNA expression, however, was detected in menstrual tissues corresponding to a 5-fold upregulation compared to mean expression in endometria from proliferative and secretory phases. CYR61 protein was localized mainly to glandular and luminal epithelia and was also present in endothelial cells and some macrophages of the endometrium. Estrogen and EGF are agents active in the proliferative phase of the cycle and induced synergistically

an early gene response of CYR61. However, only HES cells did respond to treatment with 17- β -estradiol increasing 7-fold CYR61 mRNA levels. Both cell lines responded to EGF treatment with a significant upregulation of CYR61 transcript levels after 30 minutes. Most of the pro-inflammatory cytokines (TNF α , PGE₂, PGF_{2 α} , IL1 α , IL1 β and IL8) as well as hypoxic conditions elevated CYR61 transcripts in both endometrial cell lines.

Taken together, we presented defined cyclic changes in CYR61 expression correlated to the transforming processes in endometria during cycling and regulatory mechanisms for CYR61 in human endometrial cell lines, which could represent the regulatory mechanisms for increased CYR61 expression during the proliferative phase and menstruation.

PARAKRINER EFFEKT VON UTERINEN IMMUNZELLEN

A. Germeyer
Universitäts-Frauenklinik Heidelberg

Einleitung: Das Endometrium verfügt über ein hoch spezialisiertes Immunsystem, welches die Einnistung des semiallogenen Trophoblasten erlaubt, ohne die Abwehrfunktion gegen pathogene Keime einzubüßen. 80 % der uterinen Immunzellen sind CD56+/CD16-natürliche Killerzellen (uNK-Zellen), die nur selten im peripheren Blut anzutreffen sind. Im Verlauf des menstruellen Zyklus steigt die Zahl dieser uNK-Zellen im Endometrium an. Die N-Zellen interagieren u. a. mit endometrialen Stromazellen, die wiederum für den invadierenden Trophoblasten von großer Bedeutung sind. Ziel dieser Studie ist es, die parakrine Funktion der uNK-Zellen auf die globale Genexpression endometrialer Stromazellen mittels Microarray näher zu untersuchen.

Material und Methoden: Isolierung von endometrialen Immunzellen aus Dezidua von Abruptionen aus sozialer Indikation sowie Gewinnung von endometrialen Stromazellen von gesunden, regelmäßig menstruierenden Frauen ohne Hormoneinnahme, jeweils nach Einverständniserklärung durch die Patientin nach dem Protokoll der Ethikkommission der Universitätsklinik Heidelberg. Gewinnung des Immun-

zellüberstandes nach 20 Stunden IL-15-Stimulation und anschließender Interaktion konfluenter Stromazellen mit dem Überstand für 6 Stunden. RNA-Isolierung und Hybridisierung auf cDNA-Chips. Verifizierung der Ergebnisse mittels Real-Time-PCR.

Ergebnis: Es fanden sich 54 Gene, deren Expression durch die Inkubation mit uNK-Zellüberstand mindest 2fach und statistisch signifikant verändert wurde. Davon waren 45 Gene hochreguliert und nur 9 Gene herunterreguliert. Unter den hochregulierten Genen fanden sich überwiegend immunmodulatorische Gene, wie u. a. Interleukin 8 (IL-8), Chemokine Ligand-1 (CXCL-1), Adhäsionsmoleküle wie Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1 (ICAM-1), Signaltransduktionsgene wie LIF, sowie verschiedene Enzyme wie Nicotinamid-N-Methyltransferase (NNMT), deren Expressionsveränderung durch Real-Time-PCR bestätigt wurde. Bei den herunterregulierten Genen fiel neben zahlreichen in der Funktion nicht identifizierten Genen u. a. Solute carrier family 11 member 3 (SLC11A3) auf, ein Regulator des intrazellulären Eisenhaushaltes.

Schlussfolgerung: NK-Zellen führen zur deutlich veränderten Genexpression endometrialer Stromazellen mit einer u. a. vermehrten Expression von Zytokinen und anderen Immunmodulatoren im Endometrium. Diese Untersuchungen weisen auf die große Bedeutung parakriner Regulationsmechanismen von uNK-Zellen auf Stromazellen hin und eröffnen neue Perspektiven bei der Untersuchung der immunologischen Funktion des Endometriums.

BLASTOCYST-MEDIATED INDUCTION OF EARLY RESPONSE GENES IN THE RECEPTIVE ENDOMETRIUM

R. Grümmer¹, S. Hardt¹, L. Klein-Hitpaß², E. Winterhager¹
¹Institute of Anatomy and ²Department of Cell Biology, University Hospital, Essen

Successful implantation of an embryo is dependent on the cellular and molecular dialogue between the uterus and the blastocyst. Defects in this interaction may lead to failure of implantation. Although to date many specific factors

have been identified during this critical period, the precise molecular mechanism of embryo implantation is still unknown. To evaluate early genes regulated prior and during the implantation reaction in the receptive endometrium by the blastocyst, tubal ligation was carried out unilaterally in rats at least two weeks before mating. On 4 dpc, of each animal single oligonucleotide microarray analyses were performed of the isolated endometrium of one uterine horn containing blastocysts and of the contralateral uterine horn not containing blastocysts. Data obtained by microarray analysis were verified using quantitative RT-PCR. We demonstrated that the nuclear receptors Nr4a1 (Nur77) and Nr4a3 (Nor1) as well as the transcription factors *aft3* and *msg1* were significantly upregulated in the receptive endometrium only in the presence of blastocysts. These transcription factors are early response genes and could be at the beginning of a signal cascade in the receptive endometrium leading to successful implantation.

DEZIDUALE AMPLIFIKATION VON IMMUN- UND ANGIOGENESEMODULATOREN ALS ANTWORT AUF PARAKRINE SIGNALE DES TROPHOBLASTEN

A. P. Hess^{1,2}, A. E. Hamilton¹, S. Talbi¹, C. Dosiou¹, A. Schanz^{2,3}, M. Nyegaard¹, O. Gembacev-Krtolica³, A. T. Fazelabas⁴, S. J. Fisher³, J. S. Krüssel², L. C. Giudice¹
¹Department of Obstetrics and Gynecology, Stanford University School of Medicine, Stanford, USA, ²Frauenklinik der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Deutschland, ³Department of Stomatology, University of California, San Francisco, USA, ⁴Department of Obstetrics and Gynecology, University of Illinois, Chicago, USA

Einführung: Parakrine Interaktionen zwischen dem extravillösen Trophoblasten und der maternalen Dezidua sind wichtig für eine erfolgreiche Implantation. Der Trophoblast sezerniert Produkte, die diesen Prozeß der Apposition, Migration und Invasion in das maternale Endometrium unterstützen und bei der Etablierung des „Plazentabettes“ helfen. Ein globaler Ansatz zur Aufdeckung des kindlich-mütterlichen Dialoges ist bisher nicht durchgeführt wor-

den, so daß unser Wissen über die spezifischen physiologischen Vorgänge äußerst limitiert ist.

Ziel: Design eines In-vitro-Modells zur Untersuchung der Genregulation von dezidualisierten, endometrialen Stromazellen (dES) nach Koinkubation von trophoblastkonditioniertem Medium (TCM), um die physiologischen Vorgänge bei der Implantation besser verstehen zu können.

Material und Methoden: Menschliche endometriale Stromazellen wurden mit den Steroidhormonen Estrogen und Progesteron über 14 Tage dezidualisiert. Als Dezidualisierungsmarker wurde IGFBP-1 mittels ELISA bestimmt. Nach der 14tägigen Hormonbehandlung wurden die Zellen in eine Gruppe, die über 12 Stunden mit TCM, und in eine Gruppe, die stattdessen als Kontrolle mit konditioniertem Medium von nicht-dezidualisierten Stromazellen (CCM) inkubiert wurde, aufgeteilt. Die dES wurden nach 0, 3 und 12 Stunden geerntet. Nach dem Herstellerprotokoll wurde tRNA isoliert, die im weiteren zu cDNA synthetisiert, und im Verlauf in Biotin-markierte cRNA umgewandelt wurde. Diese wurde dann auf einen Oligonukleotid Genchip Array (HG-U133 plus 2.0, Affimetrix, 56.400 Probesets) hybridisiert. Die so generierten Daten wurden über bioinformatische Analysen (GeneSpring-Robust multi-array analysis algorithm, principal component analysis, K-means analysis, gene-ontology classification) ausgewertet. Anschließend wurden diese Daten mittels Real-Time-PCR, Protein-ELISA und Immunohistochemie validiert.

Ergebnisse: Die Analyse der GenChip-Arrays zeigte eine gesteigerte Expression in den dES durch die Koinkubation mit TCM von 468 Genen sowie eine verminderte Expression von 680 Genen nach 12 Stunden. Unter den am stärksten hochregulierten Genen nach 12 Stunden Koinkubation sind Gene aus der Gruppe der Chemokine (CXCL1, CXCR4, IL-6), Immunantwort (PTGES, SCYA8, ICAM-1), Interferon-assoziierte Gene (IFI130, IFNGR1, IRF7, IFI35, IFI44), Apoptose-assoziierte Zielgene für TNF- α (TNFAIP6, TNFAIP3, TNFAIP2, TNFRSF6) sowie Gene, die in den Vorgang der Matrixdegeneration involviert sind (MMP1, MMP10, MMP14, uAP, Cathepsin S). Unter den Genen mit ver-

minderter Expression waren Wachstumsfaktoren (IGF-1, FGF-1, TGF- β 1, TGF- β 2, Ang-1) sowie Gene, die in der Wnt-Signalkaskade eine Rolle spielen (Wnt4, FZD2). Real-Time-PCR und ELISA-Experimente haben repräsentativ diese biostatistischen Daten bestätigt.

Diskussion: Diese Daten zeigen eine gesteigerte Expression von Genen in dES, die in der Initiierung und Ausführung der Immunantwort beteiligt sind. Dies suggeriert, daß der invading Trophoblast, über die induzierten Veränderungen in der Genexpression die Immunreaktion betreffend, das immunologische Umfeld des Endometriums so verändert, daß die maternale Immunantwort eine Implantation erlaubt und zytokinangereichert ist, während die mitotische Aktivität der Stromazellen limitiert wird. Die gesteigerte Expression von matrixdegenerierenden Genen spricht für eine gezielte Auflösung der Zellbegrenzungen im Bereich der Implantationsstelle, um die Invasion zu fördern. Die herabgesetzte Expression von Wachstumsfaktoren (IGF-1, FGF-1, TGF- β 1, TGF- β 2, Ang-1) zum untersuchten Zeitpunkt legen eine straff regulierte Balance zwischen wachstumsfördernden und wachstumshemmenden Faktoren nahe, um zum Beispiel eine überschießende Invasion zu verhindern.

Danksagung: Diese Untersuchung wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (HE-3544/1, APH) und dem Specialized Cooperative Centers Program in Reproduction Research des NIH (NICHD HD 31398-08, LCG) unterstützt.

IFN- γ UND TNF- α SENSIBILISIEREN ENDOMETRIALE STROMAZELLEN GEGENÜBER FAS-VERMITTELTEN APOPTOSE

S. Krenzer¹, H. Fluhr^{1,3}, G. Stein²,
S. Wesselborg², M. Depersmidt¹,
P. Licht¹

¹Gynäkologische Endokrinologie und Reproduktionsmedizin, Universitätsfrauenklinik Tübingen, ²Molekulare Gastroenterologie, Medizinische Universitätsklinik Tübingen, ³Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Universität Greifswald

Einführung: Im Rahmen der Differenzierungsvorgänge des Endometriums in der

Lutealphase sowie während der Implantation des Embryos scheint der kontrollierte Zelltod durch Apoptose eine wichtige Rolle zu spielen. Fas-Ligand, ein bekannter Apoptose-Induktor, wird sowohl von endometrialen Stromazellen (ESC) selbst als auch vom Trophoblasten sezerniert. Bis dato liegen jedoch kaum Daten bezüglich der Wirkung auf endometriale Stromazellen vor. Deziduale Natural killer- (NK-) Zellen stellen in der zweiten Zyklushälfte die dominierende Population an Immunzellen im Endometrium dar und scheinen für das Implantationsgeschehen von Bedeutung zu sein. Mediatoren dieser Zellen sind Interferon- γ (IFN- γ) und Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α). IFN- γ und TNF- α werden regulierende Funktionen bei Apoptosevorgängen zugeschrieben. Über ihre Wirkung am Endometrium ist jedoch bis heute nur wenig bekannt.

Fragestellung: Haben IFN- γ und TNF- α einen Einfluß auf die Sensibilität ESC gegenüber Fas-vermittelter Apoptose?

Material und Methoden: ESC wurden aus Hysterektomie-Präparaten isoliert, die Reinheit der Zellkultur wurde mittels Durchflußzytometrie überprüft. Die Zellen wurden in der ersten Passage entweder direkt für Apoptose-Untersuchungen verwendet oder durch die Inkubation mit 1 M Progesteron und 30 nM Estradiol über 9 bzw. 12 Tage in vitro dezidualisiert. Die Bestimmung der Apoptoserate unter dem Einfluß von einem anti-Fas-IgM-Antikörper, hCG, IFN- γ und TNF- α erfolgte durchflußzytometrisch nach einer Zellkernfärbung mit Propidiumjodid. Die metabolische Aktivität der Zellen wurde mittels MTT-Test bestimmt, die Expression von Fas im Dezidualisierungsverlauf wurde durch semiquantitative Real-Time-PCR und Durchflußzytometrie ermittelt.

Ergebnisse: Die Inkubation von ESC mit einem Anti-Fas-IgM-Antikörper in unterschiedlichen Dosierungen löste unabhängig von der Inkubationsdauer und dem Ausgangszustand ESC – dezidualisiert vs. nicht dezidualisiert – keine Apoptoseinduktion aus. Die Expression von Fas konnte auf mRNA- und auf Proteinebene nachgewiesen werden. Eine Inkubation mit hCG, IFN- γ und TNF- α führte weder zeit- noch konzentrationsabhängig zu einer veränderten Apoptoserate der ESC. Der Dezidualisierungs-

zustand spielte hierbei keine Rolle. Bei einer Vorinkubation mit IFN- γ und TNF- α in Kombination und anschließender Fas-IgM-Inkubation konnte jedoch eine gesteigerte Apoptoserate festgestellt werden ($p < 0,05$). Die zusätzliche hCG-Zugabe zu der Vorinkubation mit IFN- γ und TNF- α führte zu keiner Veränderung in der Apoptoserate.

Schlußfolgerung: Unter den betrachteten Versuchsbedingungen sind endometriale Stromazellen resistent gegenüber dem klassischerweise Apoptose-induzierenden Anti-Fas-IgM-Antikörper. Ebenfalls keinen Einfluß auf die Zellvitalität hat hCG, eines der ersten hormonellen Signale des Embryos während der Implantation. Eine gemeinsame Vorinkubation mit den von dezidualen NK-Zellen sezernierten Zytokinen IFN- γ und TNF- α steigert allerdings die Ansprechrate von ESC gegenüber Fas-vermittelter Apoptose.

EINFLUSS VON ESTROGEN UND PROGESTERON AUF DIE UTERINE KONTRAKTILITÄT UND PERISTALTIK IM SCHWEINEUTERUS-PERFUSIONSMODELL

A. Müller, S. Cupisti, I. Hoffmann,
T. Maltaris, M. W. Beckmann, R. Dittrich
Frauenklinik des Universitätsklinikums
Erlangen

Einführung: Estrogen und Progesteron zeigen einen charakteristischen Verlauf im Zyklus der Frau. Estrogene dominieren die periovulatorische Phase, während Progesteron ein Maximum in der zweiten Zyklushälfte erreicht. Der Uterus und die Tuben realisieren entscheidende Transportfunktionen im Rahmen der Reproduktion. Es gibt Hinweise, daß beide Hormone entscheidend an der Regulation dieser Transportfunktionen beteiligt sind.

Material und Methoden: Ein extrakorporales Schweineuterus-Perfusionsmodell wurde zur Untersuchung physiologischer Organfunktionen etabliert. Es wurde der Effekt von Estrogen und Progesteron auf die durch Oxytozin induzierte Kontraktilität und Peristaltik mit Hilfe intrauteriner Mikrochipkatheter untersucht.

Ergebnisse: Die Perfusion mit Estrogen führte zu einem konzentrationsabhängigen Anstieg der intrauterinen Druck-

amplitude. Es zeigte sich eine signifikante Druckdifferenz zwischen Zervix und Corpus uteri, resultierend in einem zerviko-fundalen Druckgradienten. Unter Estrogenperfusion kam es zu signifikant mehr peristaltischen Kontraktionen, die im Bereich des Isthmus uteri begannen und in Richtung Corpus uteri verliefen. Unter Progesteron zeigten sich keine signifikanten Änderungen der Kontraktilität und der Peristaltik. Wurden beide Hormone gemeinsam perfundiert, kam es zu einer Antagonisierung der zuvor bei alleiniger Perfusion mit Estrogenen gesehenen Wirkung.

Schlußfolgerung: Unsere Ergebnisse zeigen, daß die uterine Kontraktilität und Peristaltik durch Estrogene und Progesteron unterschiedlich beeinflusst wird. Estrogene scheinen die uterine Peristaltik zu stimulieren und führen zu einer Richtung Fundus gerichteten Peristaltik und einem entsprechenden Druckgradienten, während Progesteron die uterine Peristaltik und Kontraktilität eher reduziert. Somit könnten Estrogene zu einer gerichteten Transportfunktion innerhalb des weiblichen Genitaltraktes beitragen.

THE EFFECT OF SEMINAL PLASMA ON SELECTED GENES INVOLVED IN IMPLANTATION

R. M. Pinheiro¹, M. von Wolff²,
R. M. Popovici², E. Capp³, T. Strowitzki²
¹Universidade Regional de Blumenau,
Brazil, ²Abteilung Gynäkologische
Endokrinologie und Fertilitätsstörungen,
Universitäts-Frauenklinik Heidelberg,
Germany, ³Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Brazil

Introduction: Assisted reproduction technologies have provided considerable insight into the human reproductive processes. For the last years, groups of researchers have been working with microarray technology analyzing the endometrial gene expression profile during the window of implantation (WOI) and in the prereceptive and receptive endometrium in a natural cycle and compared with that at day hCG+7 during controlled ovarian hyperstimulation (COH) in the in vitro fertilization (IVF) cycle. Horcajadas (2005), Riesewijk (2003) and Kao (2002) and colleagues demonstrated that receptivity is an active process involving hundreds of up- and down-regulated genes. Uterine re-

ceptivity is diminished during controlled ovarian hyperstimulation used for IVF compared to natural cycles. We analyzed effect of seminal plasma (SP) on the mRNA expression of some of the dysregulated genes in a valuable model to study human endometrial epithelial cell response in vitro.

Material and Methods: Seminal plasma collected from 3 healthy volunteers was screened by ELISA for IL-1 β , Ishikawa cells and incubated for 6 hours with pooled SP, heat-denatured SP, albumin and PBS 10 % solution. The target sequences of the leukemia inhibitor factor (LIF), interleukin 6 (IL-6), glycodelin, dickkopf1 (DKK1), matrix metalloproteinase 7 (MMP7), squalene epoxidase (SQE) and hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD) (15-PGDH) genes, observed to be dysregulated or be important in endometrium during the window of implantation, were here analyzed using a light cyclase-based Real-Time-PCR assay.

Results: The treatment of Ishikawa cells with albumin solution did not affect any mRNA expression studied showing results comparable to those observed in the PBS control group. It was observed that seminal plasma treatment significantly up-regulated DKK1 ($p < 0.01$), MMP7 ($p < 0.001$) and LIF ($p < 0.01$) mRNA which were shown to be down-regulated at hCG+7 during COH. Similarly, it still significantly up-regulated mRNA levels of glycodelin and IL-6 ($p < 0.01$ for glycodelin and $p < 0.001$ for IL-6) which are known to be up-regulated during WOI. Genes that were shown to be up-regulated at hCG+7 (SQE) or down-regulated during WOI (15-PGDH) had their mRNA level significantly inhibited by seminal plasma treatment ($p < 0,001$). The heat-denatured SP loses the ability to significantly change the mRNA expression of DKK1 ($p < 0.05$), MMP7 ($p < 0.001$), glycodelin and IL-6 ($p < 0.01$).

Discussion: Altered gene expression profiles, observed on COH endometrium, could have negative effects on the implantation process and therefore could be one of the main causes of low success rates in COH. In our study, seminal plasma treatment was able to significantly up-regulate genes that were shown to be down-regulated during hCG+7 and significantly down-regulates genes that are up-regulated.

In our view, seminal plasma represents a promising field of investigation toward a new therapy that could compensate some of the dysregulated genes in endometrial tissue from patients undergoing COH and could subsequently lead to improvement of success rates in IVF.

UNTERSUCHUNGEN ZUM FSH-REZEPTOR-POLYMORPHISMUS SER⁶⁸⁰ IN HUMANEN GRANULOSAZELLEN

B. Sonntag¹, A. Wunsch², M. Götte¹,
A. N. Schüring¹, L. Kiesel¹, E. Nieschlag²,
J. Gromoll², M. Simon²
¹Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde
und Geburtshilfe, ²Institut für Reproduktions-
medizin, Universitätsklinikum
Münster

Einführung: Follikelstimulierendes Hormon (FSH) ist von zentraler Bedeutung für die ovarielle Regulation und wirkt über seinen spezifischen Rezeptor (FSHR) auf Granulosazellen. Ein Basenaustausch innerhalb von Exon 10 resultiert in der Ausprägung von zwei annähernd gleich häufigen Allelen, bei denen im Codon 680 der intrazellulären Domäne entweder Asparagin (Asn) oder Serin (Ser) positioniert sind. Bei Frauen mit regelmäßigem Zyklus und im Rahmen ovarieller Stimulationstherapien (COH) konnte gezeigt werden, daß trotz gleicher FSH-Dosis niedrigere Estradiolspiegel bei der Ser⁶⁸⁰- als bei der Asn⁶⁸⁰-Variante produziert werden. Der molekulare Mechanismus dieser „Resistenz“ des Ser⁶⁸⁰-FSHR ist bislang nicht bekannt.

Material und Methoden: Primäre Granulosazellen wurden von Patientinnen mit bekanntem FSHR-Genotyp im Rahmen ovarieller Stimulationstherapien gewonnen, aufgereinigt und kultiviert. Die Produktion von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP), Estradiol und Progesteron mit und ohne Stimulation durch FSH in vitro wurde mittels Fluoreszenzimmunoassay gemessen. Die Expression der FSH-R-abhängigen Gene-Aromatase und des Luteinisierenden Hormon-Rezeptors (LHR) wurden durch RT-PCR bestimmt.

Ergebnisse: In unstimuliertem Zustand produzierten Granulosazellen von Patientinnen mit der Asn680-Variante signi-

fikant höhere Estradiolspiegel ($p = 0,002$) bei vergleichbar hohen Progesteronspiegeln ($p = 0,783$). Durch Stimulation mit FSH ergab sich kein Anstieg der Steroidproduktion im Vergleich zur basalen Produktion oder zwischen unterschiedlichen Genotypen. Nach verlängerter Vorinkubation konnte jedoch ein

dosisabhängiger Anstieg von cAMP durch FSH-Stimulation gezeigt werden. Die basale Expression von Aromatase und LHR war gleich zwischen den Gruppen.

Diskussion: Die höhere In-vitro-Estradiolproduktion bei Patientinnen mit der

homozygoten Asn⁶⁸⁰-Variante könnte die klinisch beobachteten Unterschiede im Ansprechen auf eine FSH-Stimulation widerspiegeln. Nachfolgende Studien sollten mögliche Unterschiede in der Übertragung des FSH-R-Signals auf die Steroidproduktion zum Ziel haben.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

[Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD 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](#)