

Suat Parta
Dr. sc. hum.

Wirkung von rekombinantem und urinärem follikelstimulierendem Hormon (FSH) auf Hormonsekretion und Ultrastruktur humaner Granulosa-Lutealzellen sowie synergistische Effekte von Wachstumsfaktoren auf den Signalübertragungsmechanismus.

Geboren am 12.12.1961 in Gelibolu (Türkei)
Reifeprüfung am 19.05.1982 in Schwetzingen
Studiengang der Fachrichtung Biologie / Diplom vom WS 1983 bis WS 1990
Vordiplom am 13.02.1986
Diplom am 02.04.1990

Promotionsfach: Gynäkologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. T. Rabe

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Zellkultursystem für humane präovulatorische Granulosa-Lutealzellen (hGLC) etabliert, die bei Follikelpunktionen gewonnen wurden. An diesem für Kurz- und Langzeitkulturen ausgerichteten Zellmodell wurden auf unterschiedlichen Ebenen sowohl die Effekte von urinärem FSH, d.h. einem FSH-Präparat mit geringer Rest-LH-Aktivität, als auch die Wirkung von reinem rekombinantem FSH auf humane Granulosa-Lutealzellen untersucht. Als Funktionsparameter dieser Zellen wurde die Progesteron- und die Östradiolsekretion bestimmt. Nach Ermittlung von Basisdaten wie Dosisabhängigkeit, Zelldichte und Zeitkinetik, wurde der Einfluß des Wachstumsfaktors EGF auf die Proliferation von humanen Granulosa-Lutealzellen untersucht. Die von der Follikelphase bekannte kognodotrope Wirkung von IGF-I auf die FSH-Stimulation sollte am Modell der humanen Granulosa-Lutealzellen untersucht und die synergistischen Effekte auch in der frühen Lutealphase gezeigt werden. Mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde die Wirkung von HCG, rekombinantem, urinärem FSH und Forskolin, einem unspezifischen Aktivator der Adenylatzyklase, auf die Ultrastruktur humaner Granulosa-Lutealzellen untersucht.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Die hGLC reagierten in diesem Zellkultursystem sowohl auf rekombinantes als auch auf urinäres FSH mit einer dosisabhängigen Erhöhung der Progesteronsekretion. Zusammen mit aus der In-vitro-Proliferation ermittelten Daten konnte die luteotrope Wirkung beider FSH-Präparate in vitro demonstriert werden. FSH war allerdings geringer luteotrop aktiv als das Referenzmolekül HCG. Im direkten Vergleich beider Präparate konnte hinsichtlich der durch beide Präparate induzierten Progesteronsekretion kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Humane Granulosa-Lutealzellen proliferieren in der Langzeitkultur, wobei die Progesteronsekretion zeitabhängig deutlich abfällt. Die höchste Stimulierbarkeit der Progesteronsekretion bei Zugabe von rekombinantem und urinärem FSH besaßen die Zellen nach 10 Tagen, bei Zugabe von HCG nach 13 Tagen. Nach 16-18 Tagen konnten die humanen Granulosa-Lutealzellen mit FSH und nach 20-35 Tagen mit HCG nicht mehr stimuliert werden. Mit Forskolin hingegen ließen sich die Zellen nach > 40 Kulturtagen immer noch stimulieren.

EGF stimuliert sowohl das Wachstum als auch die Progesteronsekretion der humanen Granulosa-Lutealzellen. Im Verlauf kommt es zu einer Verkleinerung und Abrundung der humanen Granulosa-Lutealzellen.

Durch Kostimulation humaner Granulosa-Lutealzellen mit FSH und IGF-I konnte die Progesteron- und Östradiolsekretion im Gegensatz zur HCG-Stimulation auch noch in der späten Lutealphase gesteigert werden. Durch die synergistische Wirkung des IGF-I waren die humanen Granulosa-Lutealzellen in der Lage, annähernd die gleiche Progesteronmenge wie bei der HCG-Stimulation zu sezernieren. Dabei

zeigte das urinäre FSH vor allem bei der niedrigeren Dosis von 0,1 IE/mL eine geringfügig stärkere Stimulationspotenz als das rekombinante FSH. Die Ultrastruktur der mit HCG, rekombinanten und urinärem FSH und Forskolin stimulierten humanen Granulosa-Lutealzellen zeigte im Vergleich zu Kontrollzellen folgendes Bild: Als Ausdruck der sekretorischen Aktivität kommt es zu einer starken Vermehrung der Lipidtropfen. Eine Umstrukturierung zwischen einzelnen Zellorganellen, sowohl eine enge Assoziation zwischen Lipidtropfen und Mitochondrien, als auch zwischen endoplasmatischem Retikulum und Mitochondrien war zu beobachten. Die mit beiden FSH-Präparaten stimulierten humanen Granulosa-Lutealzellen zeigten im Kernbereich starke Veränderungen. Es kam zu Faltungen der Kernmembran und zur partiellen Marginalisierung von Heterochromatin. Etwas abgeschwächt trat dieser Effekt auch bei der Stimulation mit HCG auf. Die Wirkung von FSH auf die Ultrastruktur humaner Granulosa-Lutealzellen konnte in dieser Arbeit demonstriert werden. Der elektronenmikroskopische Vergleich der FSH-Stimulation mit der Forskolin-Stimulation weist auf eine Beteiligung alternativer Signaltransduktionsmechanismen neben der Adenylatzyklaseaktivierung durch FSH hin.

Schlußfolgerung:

FSH ist ein Luteotropin: Es stimuliert die Progesteronsekretion humaner Granulosa-Lutealzellen, ist somit an der Corpus-luteum-Funktion beteiligt und trägt letztlich zur Entstehung einer Schwangerschaft bei. Das FSH wird in seiner luteotropen Wirkung von Wachstumsfaktoren unterstützt. Der stimulierende Effekt von EGF auf Proliferation, Progesteronsekretion und die veränderte Morphologie der humanen Granulosa-Lutealzellen nach Stimulation mit EGF sprechen für eine physiologische Bedeutung von EGF bei der Corpus-luteum-Funktion. Die luteotrope Wirkung des FSH wird durch den als kognodotrop wirkenden Wachstumsfaktor IGF-I zusätzlich synergistisch verstärkt. Die Wirkung von FSH auf die Ultrastruktur humaner Granulosa-Lutealzellen wurde in dieser Arbeit erstmals gezeigt. Der Vergleich mit einer Forskolin-Stimulation bringt neben der hauptsächlich Adenylatzyklaseaktivierung Hinweise auf alternative Signaltransduktionsmechanismen der FSH-Wirkung. Weiterhin läßt das ultrastrukturelle Erscheinungsbild der humanen Granulosa-Lutealzellen kombiniert mit deren Progesteronsekretion auf eine unterschiedliche Stimulation der Steroidsynthese und -sekretion durch HCG, FSH und Forskolin schließen. Rekombinantes und urinäres FSH unterscheiden sich nicht in ihrer Wirkung auf Progesteron- und Östradiolsekretion sowie auf die Ultrastruktur humaner Granulosa-Lutealzellen. Trotz unterschiedlicher Glykolisierung der beiden FSH-Moleküle und eines Rest-LH-Anteils im urinären FSH ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der biologischen Wirkung auf humane Granulosa-Lutealzellen zeigen.