

Nina Katrin Betzler

Promotionsthema:

„Genexpressionsanalyse in endometrialen Stromazellen nach Co-Kultur mit Trophoblast.“

Geboren am 29.04.1980 in Stuttgart

Staatsexamen am 15.5.2007 an der Rupprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach:

Frauenheilkunde

Doktorvater:

Prof. Dr. med. Michael von Wolff

Die Untersuchung wurde mit dem Ziel durchgeführt, molekulare Mechanismen der Implantationsphase und der feto-maternalen Interaktion besser zu verstehen. Neue, noch unzulänglich bekannte Mechanismen und wechselseitige Beeinflussungen sollten aufgedeckt werden.

Anhand einer Co-Kultivierung endometrialen Stromazellen und Trophoblastexplantaten werden die *in vivo* herrschenden Verhältnisse simuliert. Aus endometrialen Biopsien gewonnene Stromazellen werden in Reinkultur angesetzt und anschließend mit den Trophoblastexplantaten aus Abortmaterial co-kultiviert. Mikroskopisch wächst der Trophoblast bereits nach wenigen Stunden deutlich in die Stromazellkultur ein. Nach einer Inkubation von 24 Stunden wird diese Co-Kultur manuell getrennt und die einzelnen Komponenten konserviert. Die Reinheit der Auftrennung nach Co-Kultur wird mittels Immunfluoreszenz-Zytochemie überprüft.

Aus Stromazellen und Trophoblastgewebe vor und nach Co-Kultur wurde nun die RNA gewonnen und die jeweiligen Genexpressionsprofile vor und nach Co-Kultur mit Hilfe einer Microarray Analyse miteinander verglichen, um eine Veränderung der Genexpression des stromalen bzw. trophoblastären Gewebes unter dem direkten Einfluss der Co-Kultur zu untersuchen.

Der Trophoblast beeinflusst die Stromazellen durch verschiedene Mechanismen. Zum einen erfüllt er endokrine und parakrine Funktionen, zum anderen gehen wir von einer starken direkten Zell-Zell-Interaktion zwischen den beiden Geweben aus, über die noch keine detaillierten Daten existieren.

Insgesamt wurden im Vergleich der Expression 167 Gensequenzen deutlich hochreguliert, wobei die Funktionsgruppen der Entzündungsmediatoren und Chemotaxis, der Signaltransduktion und der Transportmoleküle insgesamt 30% der hochregulierten Gene

ausmachen und sich somit eine besonders starke Beeinflussung dieser Gengruppen durch den Trophoblasten ableiten lässt.

Die Zahl der unterexprimierten Gene betrug 119. Besonders betroffen mit ebenfalls 30% sind Genfamilien für Zelladhäsion und Motilität, für Transkriptionsvorgänge und Apoptose.

Die Daten aus der Microarray-Analyse legen nahe, dass es zu einer sehr komplex regulierten Änderung des molekularen Milieus am Ort der Implantation kommt, ohne die eine Einnistung des teils aus paternalen, immunologisch „fremden“ Zellen bestehenden Embryos nicht erfolgen kann. Eine Schlüsselrolle scheint dabei das Interleukin 8 zu spielen, welches die stärkste Expressionszunahme (367-fach) nach Co-Kultur aufweist. Aber auch zahlreiche andere hochregulierte Gensequenzen gehören der Familie der Immunantwort an, so auch das Pentraxin-related gene (PTX 3), die Chemokine Ligands 1 und 2 (CXCL1 und 2) sowie IL1 Rezeptor Typ 1 und 2 (IL1R1 und IL1R2).

Des Weiteren wird davon ausgegangen, dass der Trophoblast bei Kontakt mit dem Endometrium eine Abnahme des apoptotischen Stimulus bewirkt, um das Endometrium vor Selbstverdau und Zelluntergang zu schützen. Auch ein überschießendes Einwachsen des Trophoblasten könnte durch eine Hemmung der apoptotischen Signale in Stromazellen bewirkt werden und so Pathologien wie Placenta accreta etc. verhindern.

Auf der anderen Seite muss eine ausreichend verankerte Implantation und Invasion gewährleistet sein, welche mit vermehrter Proliferation einhergehen muss. Das Risiko einer Fehlgeburt durch zu oberflächliche Implantation kann somit verringert werden. Das erklärt die deutlich gesteigerte Expression von wachstumsfördernden Molekülen. Zu nennen wäre hier vor allem der Insuline like growth factor 2 (IGF2) und die Insuline-like growth factor binding proteines (IGFBP -1, -2, -4), sowie der Hepatocyte Growth factor (HGF).

Eine weitere Möglichkeit des Trophoblasten selbst auf die Regulation der trophoblastären Invasivität Einfluss zu nehmen sehen wir in der - in unserer Studie deutlich verminderten - Expression von Zelladhäsionsmolekülen, wie Integrine alpha 6 (ITGA6) und Ankyrin (ANK). Dies kann die Einwanderung der einzelnen Trophoblastzellen in das Endometrium erleichtern, indem es den Zellverband auflockert und zu einer streng regulierten Auflösung der Zellverbindungen führt.

Der Trophoblast erfüllt also zusammenfassend wesentliche Aufgaben bei der Implantation indem er die Proliferation induziert und die Apoptose der Stromazellen inhibiert.

Dies sind einige Aspekte der Implantation die durch unsere Studie besonders beleuchtet wurden, allerdings kann das ganze Ausmaß der Expressionsanalyse und der komplexen Interaktionen hier nicht diskutiert werden.

Es konnte in verschiedenen anderen Arbeiten gezeigt werden, dass unter ähnlichen Bedingungen eine große Konkordanz in den ermittelten regulierten Gengruppen besteht.

Diese Studie sieht sich somit als wertvolle Grundlage für weitere spezifischere Forschung in den einzelnen funktionellen Gen-Untergruppen. Auf der Basis der erhobenen Daten können potentielle Schlüssel-Gene für die Implantation sowie eventuelle Marker für das „window of implantation“ detektiert und genauer untersucht werden. Dabei ist es wichtig, die Wirkmechanismen einzelner Moleküle genauer zu verstehen um eine Aussage über deren Aufgaben im Endometrium machen zu können. Durch dieses Verständnis erhoffen wir uns einen Einblick in die Mechanismen, die zu wiederholten Fehlgeburten und Unfruchtbarkeit, sowie intra-uterinem Minderwuchs und Präeklampsie führen.