



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Isolierung humaner Spermatozoen-Ribonukleinsäure und
Untersuchung der Expression dreier potentieller nicht-genomischer
Progesteronrezeptoren mittels Reverser Transkription und nested
Polymerase-Kettenreaktion**

Autor: Sonja Breiter
Institut / Klinik: Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und
Toxikologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. R. Lösel

Nicht-genomische Wirkungen von Steroidhormonen wurden zwar schon in den 1940er Jahren beschrieben, sind aber erst in den letzten Jahren Gegenstand eingehender Forschung geworden. In Spermatozoen sind zahlreiche Wirkungen durch das Steroidhormon Progesteron beschrieben. Progesteron scheint in verschiedenen Phasen der Fertilisation (der Kapazitation, der Hypermotilität und der Akrosomenreaktion) eine wichtige Rolle zu spielen. In Spermatozoen ist aufgrund ihres stark kondensierten Zellkerns ein genomischer Signalweg nicht möglich. Es liegt deshalb nahe, dass Progesteron über eine nicht-genomische Signaltransduktionskaskade wirken muss.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Transkripte potentieller nicht-genomischer Progesteronrezeptoren (PGRMC1, PGRMC2, PR-A/B) in Spermatozoen nachzuweisen, für deren Existenz auf Protein- und teilweise auch auf Transkriptebene frühere Ergebnisse sprachen. Besonderer Wert wurde darauf gelegt, ein Studiendesign zu entwickeln, das bei positivem Transkriptonachweis erlaubt, auf die Existenz des untersuchten Proteins auf Transkriptebene in Spermatozoen zu schließen. Um eine reine Spermatozoenpopulation zu erhalten, wurden mit der Dichtegradienten-Zentrifugation und dem Swim-up zwei Ejakulat-Aufreinigungsschritte hintereinander durchgeführt wie sie auch in der in-vitro-Fertilisation bei der Aufreinigung HIV- oder HCV-kontaminierten Ejakulats Verwendung finden. Aus Einzel-Ejakulatproben, die auf diese Weise aufgereinigt wurden, konnten aufgrund des sehr geringen RNA-Gehaltes von Spermatozoen, die als reife und differenzierte Zellen mit stark kondensiertem Kernchromatin nicht mehr transkriptionell aktiv sind, nur sehr geringe Mengen an Gesamt-RNA gewonnen werden. Ein Transkriptonachweis der in dieser Arbeit untersuchten potentiellen Progesteronrezeptoren war mit Hilfe der nested RT-PCR in knapp der Hälfte der 24 Ejakulatproben möglich. Dass die nachgewiesenen Transkripte nicht aus verunreinigenden Zellen des Ejakulats, sondern aus Spermatozoen stammen, wurde durch Marker zum Nachweis von Leukozyten (CD4-Primerpaar), Epithelzellen (Retino-Primerpaar), Spermatogenesevorläuferzellen (c-kit-Primerpaar) gewährleistet. Aufgrund der strengen Aufreinigungsmethode der Einzel-Ejakulate und der Kontaminationskontrollen durch die sehr sensitive Methode der nested RT-PCR kann von der Existenz von PGRMC1, PGRMC2 und PR-A/B auf Transkriptebene in Spermatozoen ausgegangen werden.

Welche Rolle PGRMC1, PGRMC2 und PR-A/B auf Transkript- oder Proteinebene spielen, ob sie tatsächlich als nicht-genomische Progesteronrezeptoren dienen, ist bislang noch unklar. Sollten die untersuchten Transkripte in Spermatozoen tatsächlich für Progesteronrezeptoren kodieren, könnte deren Fehlen Ursache männlicher Infertilität sein. Denn über das mRNA-Profil eines Ejakulats lassen sich Prognosen bezüglich der Fertilität des Spenders machen. Andererseits ist durch die Möglichkeit der Hemmung dieser Progesteronrezeptoren ein neuer Ansatzpunkt für Methoden der männlichen und/oder weiblichen Kontrazeption gegeben.