Zuchthyg., 19, 97–134 (1984)
© 1984, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
ISSN 0044-5371/InterCode: ZUCYAN

p. 117

Winterhager, E. und H.-W. Denker (Abteilung Anatomie der RWTH Aachen)

Unterschiedliche Membrandifferenzierung im Uterusepithel gravider und pseudogravider Kaninchen während der Periimplantationsphase

In der Implantationskammer kommt es vor Beginn der Implantationsreaktion zu einer verstärkten Wechselwirkung zwischen Blastocyste und Uterusepithel. Als Folge entstehen durch Fusion und Abbau der lateralen Uterusepithelzellmembran riesige Symplasmen. Am 7. Tag der Gravidität findet man auf den lateralen Membranen der Uterusepithelzellen innerhalb der Implantationskammer auffällig viele und große gap junctions, wobei zwei Typen zu unterscheiden sind: ausgedehnte gap junctions auf den freien Membranflächen, und gap junctions integriert in die tight-junction-Ketten. Dieser Befund deutet auf einen hohen Kommunikationsgrad der Uterusepithelzellen kurz vor der Symplasmenbildung hin. In der durch hCG induzierten Pseudogravidität dagegen zeigen die Epithelzellen nur sehr kleine und selten auftretende gap junctions in der entsprechenden Phase. Auch die Symplasmen beschränken sich auf die Fusion weniger Zellen. Diese Ergebnisse wurden mit der Membranmorphologie der Uterusepithelzellen gravider Tiere, die durch Tubenligatur blastocystenfrei waren, verglichen. Die Membrandifferenzierung dieses Epithels war identisch mit der von pseudograviden Tieren. Diese Beobachtungen bestätigen die Annahme, daß durch die Blastocyste gap junctions induziert werden. Das Auftreten von gap junctions kurz vor der Symplasmenbildung, durch die ohnehin eine Gleichschaltung der Zellen erreicht wird, ist mit der Symplasmengröße korrelierbar. Wir postulieren, daß durch gap junctions eine Art Vorsymplasma entsteht, das zur Synchronisation der unterschiedlichen Funktionszustände der Uterusepithelzellen führt, wodurch eine Fusion über so weite Areale erst möglich wird. (Mit Unterstützung durch DFG-Sachbeihilfe De 181/9-5).

UNTERSCHIEDLICHE MEMBRAN-DIFFERENZIERUNG IM UTERUSEPITHEL GRAVIDER UND PSEUDOGRAVIDER KANINCHEN WÄHREND DER PERI-IMPLANTATIONSPHASE

E. Winterhager und H.-W. Denker (Aachen)

Zu Beginn der Implantationsphase kommt es zur Immobilisierung der großen Kaninchenblastocysten innerhalb des Uterushorns und zur Ausbildung einer Implantationskammer. In dieser Implantationskammer erfolgt eine verstärkte Wechselwirkung zwischen den Uterusepithelzellen und der Blastocyste, bevor die eigentliche Implantationsreaktion einsetzt. In diesem Zusammenhang interessiert die Frage, welches der früheste Zeitpunkt ist, zu dem sich diese Wechselwirkung nachweisen läßt, und welche zellbiologischen Mechanismen ihr zugrunde liegen.
Eine bereits bekannte morphologische Strukturveränderung, die wahrscheinlich durch die Blastocyste hervorgerufen wird, ist die Ausbildung riesiger Symplasmen innerhalb der Implantationskammer, die durch das Verschmelzen der Uterusepithelzellen miteinander entstehen. Es stellt sich die Frage, welche Mechanismen zur Ausbildung solcher einheitlichen Zytoplasmamassen, die das Material von tausenden von Zellen umfassen können, führen. Da die Symplasmen durch Fusion der benachbarten lateralen Zellmembranen und anschließenden Abbau dieser fusionierten Membranen entstehen, haben wir die Membrandifferenzierung dieser Uterusepithelzellen während der Symplasmenbildung untersucht. Dafür wurde insbesondere das Gefrierbruchverfahren angewandt.

Am 7. Tag der Gravidität findet man auf den lateralen Membranen der Uterusepithelzellen in der Implantationskammer auffällig viele und

große Gap Junctions. Gap Junctions erfüllen bekanntlich Aufgaben der zellulären Kommunikation. Durch Vermittlung dieser Tunnelproteine, die zwei Zellen miteinander verbinden, kannes zu einer ionalen Kopplung zwischen den Zellen und einem metabolischem Austausch von z.B. cAMP kommen. Diese Möglichkeit des Informationsaustausches der Zellen ist die Voraussetzung für eine synchronisierte und wahrscheinlich auch qualitativ weitgehend gleichgeschaltete Aktivität. Beim graviden Tier können wir zwei Typen von Gap Junctions auf ein und derselben Membran der Uterusepithelzellen feststellen. Zum einen Gap Junctions auf den freien Membranflächen, die dort völlig isoliert stehen und recht große Ausmaße annehmen können und aus dichtgepackten Partikeln bestehen. Zum anderen finden wir Gap Junctions, die in die Tight Junction - Ketten integriert sind. Die Tight Junction ist in dieser hormonellen Phase extrem stark proliferiert, und ihre Ketten schließen zahlreiche Gap Junctions ein. Beide Typen dieser Gap Junctions zeigen Partikel gleicher Größe auf, zwischen 8,2 und 8,7 nm.
Als Kontrolle zu der Membranmorphologie von Uterusepithelzellen gravider Tiere wurde das Uterusepithel pseudogravider Tiere untersucht, bei denen eine Ovulation mit 75 IU hCG ausgelöst wurde. In allen Prä- und Periimplantationsphasen (vom Tag 1 bis Tag 7 p.i. hCG) finden sich bei diesen pseudograviden Tieren nahezu keine Gap Junctions auf der lateralen Membran. Wenn in sehr seltenen Fällen dennoch eine Gap Junction gefunden wurde, dann nimmt sie ein kleines Areal ein, und besteht aus einer lockeren Anhäufung weniger Partikel. Dieser Befund zeigt, daß bei pseudograviden Tieren in diesen Phasen nur eine äußerst geringe Kooperation zwischen den Uterusepithelzellen über den Weg der Gap Junctions stattfindet.

Untersucht man nun bei pseudograviden Tieren das Ausmaß der Symplasmenbildung, so finden sich zwar prinzipiell Symplasmen, gleichmäßig im Uterushorn verteilt, beschränken sich aber im Gegensatz zur Gravidität generell auf die Fusion weniger Zellen.
Obwohl gravide und pseudogravide Tiere nach Browning (1980) während der Periimplantationsphase gleiche Oestrogen- und Progesteronkonzentrationen im Serum aufweisen, unterscheiden sie sich also dennoch deutlich in der Membrandifferenzierung des Uterusepithels.

Dies weist darauf hin, daß bei graviden Tieren die Blastocyste einen entscheidenden Einfluß auf die Membranstruktur und die funktionelle Kooperation der Uterusepithelzellen hat.
Um den Schluß zu erhärten, daß die beobachteten Effekte tatsächlich auf die Anwesenheit von Blastocysten zurückzuführen sind, haben wir die Membranmorphologie nicht nur mit pseudograviden Tieren, sondern auch mit blastocystenfreien Uterushörnern einseitig gravider Tiere verglichen. Dazu wurde folgender Versuch durchgeführt: Am ersten Tag post coitum wurde am uterotubalen Übergang eines Uterushornes eine Ligatur gelegt. Am 7. Tag der Gravidität wurde dann die Membranmorphologie dieses Hornes mit derjenigen des kontralateralen, blastocystenhaltigen Hornes verglichen. Die Membrandifferenzierung im Epithel des ligierten Uterushornes war identisch mit der von pseudograviden Tieren, es traten keine oder allenfalls sehr kleine Gap Junctions auf, wogegen es in den Implantationskammern des kontralateralen Hornes wiederum zur Ausbildung einer großen Zahl von Gap Junctions kam.

Die Ergebnisse bestätigen die Annahme, daß es die Anwesenheit der Blastocyste ist, die die Entstehung von Gap Junctions auf der lateralen Epithelzellmembran "induziert".

Es ist auffällig, daß die Gap Junctions kurz vor der Symplasmenbildung entstehen und selbst auf schon fusionierenden Membranen zu finden sind. Daraus ergibt sich eine Schwierigkeit in der Interpretation: Warum soll ein zelluläres Kommunikationssystem über Gap Junctions aufgebaut werden, wenn doch kurz darauf diese Zellen ohnehin zu einem einheitlichen Symplasma fusionieren, womit die metabolische Gleichschaltung erreicht ist? Eine mögliche Erklärung scheint in der Symplasmengröße zu finden zu sein. Wie eingangs schon gezeigt, sind bei den pseudograviden Tieren Symplasmen zu finden, die nur aus wenigen Zellen bestehen. Dagegen wird die Implantationskammer des graviden Tieres fast vollständig von riesigen Symplasmen eingenommen. Solche ausgedehnten Symplasmen, die sich auf viele tausend Zellen erstrecken, können anscheinend nur dann gebildet werden, wenn vermittels der Gap Junctions eine Art Vorsymplasma entsteht. Dies führt wahrscheinlich zur Gleichschaltung der ehemals unterschiedlichen Funktionszustände der Uterusepithelzellen, wodurch

eine Fusion über so weite Areale ermöglicht wird.
Wir müssen annehmen, daß diese Fusion in einem funktionellen Zusammenhang mit der sich anschließenden Fusion zwischen Trophoblast und Uterusepithel steht. Vermutlich bestehende kausale Beziehungen müssen weiter untersucht werden. Auf jeden Fall ist die Auslösung der Bildung von Gap Junctions und der Zellfusion im Uterusepithel durch die Blastocyste ein sehr früh nachweisbares und zellbiologisch interessantes Indiz für die Abgabe von Signalen durch die Blastocyste an das umgebende Endometrium.

Literatur

Browning, J.Y., Keyes, L., Wolf, R.C.: Comparison of Serum Progesterone, 20 -Dihydroprogesterone, and Estradiol-17ß in Pregnant and Pseudopregnant Rabbits: Evidence for Postimplantation Recognition of Pregnancy. Biol. Reprod. 23, 1014 (1980)

Physiologie und Pathologie
der Fortpflanzung

Verhandlungsbericht

IX. Veterinär–Humanmedizinische
Gemeinschaftstagung

Hannover, 23. – 24. Februar 1984

*Deutsche Gesellschaft zum Studium
der Fertilität und Sterilität*

*Österreichische Gesellschaft zum Studium
der Sterilität und Fertilität*

*Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft
(Fachgruppe „Fortpflanzung und ihre Störungen")*

*Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde
(Sektion „Zuchthygiene")*

Herausgeber:

o. Prof. Dr. Dr. h.c. K. SEMM, Prof. Dr. J. HAHN, Prof. Dr. DDr. h.c. H. MERKT
Prof. Dr. E. GRUNERT, Prof. Dr. L. METTLER

Bearbeitung: E. Seiß, Kiel

ISBN: 3-922500-23-4