

7 Zusammenfassung

Untersuchungen zur Regulation der Prostaglandinsynthese im bovinen Ovidukt

Das Ovidukt spielt eine entscheidende Rolle im Reproduktionsgeschehen. Es stellt die optimalen Umweltbedingungen für die Eizellreifung, die Spermienkapazitation, den Gametentransport, die Befruchtung und die frühe Embryonalentwicklung zur Verfügung. Hierbei handelt es sich um Schlüsselprozesse bei der Entstehung der Trächtigkeit. Viele dieser Prozesse werden durch Hormone wie beispielsweise Sexualsteroiden oder Prostaglandine reguliert oder beeinflusst. Insbesondere die Prostaglandine werden als zentrale Mediatoren im Verlauf der Ovulation, der Befruchtung und der Entstehung und Aufrechterhaltung der Trächtigkeit vermutet und wurden bereits im bovinen Ovidukt nachgewiesen. Um einen genaueren Einblick in die Regulation der Prostaglandinsynthese des bovinen Ovidukt zu erhalten, sollten die zyklusabhängigen Veränderungen und lokalen Verteilungen der Enzyme der Prostaglandinsynthesekaskade sowohl auf mRNA- als auch zum Teil auf Proteinebene untersucht werden. Das bovine Untersuchungsmaterial stammte aus dem Schlachthof und wurde in die vier folgenden Zyklusphasen eingeteilt: prä- (Tag 19-21) und postovulatorische Phase (Tag 1-5) sowie frühe (Tag 6-12) und späte Lutealphase (Tag 13-18). Zusätzlich wurde in ipsi- und kontralaterales Ovidukt unterschieden und das einzelne Ovidukt weiter in Ampulle und Isthmus geteilt.

In den durch Spülen der Oviduktabschnitte gewonnenen Oviduktzellen wurde die mRNA Expression der folgenden an der Prostaglandinsynthese beteiligten Enzyme mittels quantitativer RT-PCR gemessen: sPLA₂, cPLA₂α, cPLA₂β, COX-1, COX-2, cPGES, mPGES-1, mPGES-2, PGFS, HSD, H-PGDS, L-PGDS und PGIS. Die Transkripte aller untersuchten Enzyme konnten im bovinen Ovidukt nachgewiesen werden. In der postovulatorischen Phase, in der die meisten der oben genannten Prozesse stattfinden, zeigten COX-1, mPGES-1, HSD, PGFS und H-PGDS ihre höchsten Expressionen während des Zyklus. Die höchste Expression von cPLA₂β und PGIS wurde in der präovulatorischen Phase und die von L-PGDS in der späten Lutealphase detektiert. Eine zyklusunabhängige Expression zeigten dagegen sPLA₂, cPLA₂α, COX-2, cPGES und mPGES-2. Auffällig waren lokale Expressionsunterschiede innerhalb der Oviduktteile: sPLA₂, L-PGDS und PGIS wurden in der Ampulle höher als im Isthmus und mPGES-1 und HSD im Isthmus höher als in der Ampulle exprimiert. Unterschiede zwischen den Oviduktabschnitten der ipsi- und kontralateralen Oviduktteile wurden nicht gefunden.

In Western Blot Analysen wurde der Proteingehalt der Cyclooxygenasen ebenfalls in Abhängigkeit von Zyklusphase und Ort im Ovidukt bestimmt. Es zeigte sich, dass COX-1 in der frühen Lutealphase in größeren Mengen vorkam als in den anderen Zyklusphasen, COX-2 zeigte dagegen eine einheitliche Expression ohne erkennbare Regulation im Zyklusverlauf. Die Durchführung eines Cyclooxygenase-Aktivitätstests zeigte, dass COX-1 den Hauptanteil

zur Cyclooxygenaseaktivität im bovinen Ovidukt beiträgt.

Zur Lokalisierung ausgewählter Proteine innerhalb des Ovidukts wurden immunhistologische Färbungen für COX-1, COX-2 und mPGES-1 durchgeführt. COX-1 und mPGES-1 wurden sowohl in Epithelzellen als auch glatten Muskelzellen des Ovidukts exprimiert, COX-2 wurde ausschließlich in den Epithelzellen gefunden. Während COX-1 innerhalb der Epithelzellen sowohl in Zytoplasma als auch Kern angefärbt war, wurde für mPGES-1 nur eine Kernfärbung gefunden. COX-2 war ausschließlich im Zytoplasma lokalisiert. In den glatten Muskelzellen wurden COX-1 und mPGES-1 im Zytoplasma detektiert.

Um eine potentielle Regulation der mRNA Expression dieser Enzyme zu erkennen, wurden kultivierte bovine Oviduktzellen mit Östradiol, Progesteron, Arachidonsäure oder PGE₂ über einen Zeitraum von 6 Stunden behandelt. Dabei wurde festgestellt, dass die mRNA Expression von cPLA₂α, COX-2 und mPGES-1 durch alle Behandlungen stimuliert wurde. Die mRNA Expression von PGIS wurde nur durch die Zugabe von PGE₂ stimuliert. Die anderen Enzyme zeigten keine Veränderung ihrer mRNA Expression durch die Behandlung mit Östradiol, Progesteron, Arachidonsäure oder PGE₂.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit lässt sich folgern, dass im bovinen Ovidukt ein feinabgestimmtes und zyklusabhängig reguliertes Prostaglandinsynthesystem existiert. Das lässt vermuten, dass Prostaglandine im bovinen Ovidukt direkten Einfluss nehmen könnten auf das Überleben, die Reifung und den Transport der Oozyte sowie auf den Befruchtungsvorgang und die Entwicklung des Embryos. Es ist folglich anzunehmen, dass die Prostaglandine, wie in anderen Tierarten bereits gezeigt, auch im Genitaltrakt der Kuh eine essentielle Rolle bei der Entstehung eines neuen Organismus spielen.