

## Zelltypspezifische Veränderungen der Expression des Östrogenrezeptor $\alpha$ in der GDM Placenta

Julia Knabl, Gynäkologie  
Med. Versorgungszentrum Nürnberg Hallerwiese

---

### Hintergrund:

Kernrezeptoren (nukleäre Rezeptoren) sind Transkriptionsfaktoren, die nach der Bindung von Liganden die Expression ihrer Target-Gene regulieren. Sie werden alle durch eine spezielle DBD (DNA binding domain) charakterisiert, mit welcher der Rezeptor an ein bestimmtes „Hormone response element“ des Kernes bindet. Beim Menschen sind 48 nukleäre Rezeptoren in 6 Subfamilien bekannt.

Für die nukleären Rezeptoren peroxisome-proliferator activated Rezeptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) und der Vitamin D Rezeptor (VDR) konnte in der Placenta kürzlich eine veränderte Expression in der diabetischen Placenta identifiziert: Der Vitamin D Rezeptor wird in GDM Placenten v.a. im Extravillösen Trophoblast und im Endothel hochreguliert.<sup>1</sup> Diese Veränderungen werden von erniedrigten Calcitriol-Konzentrationen verursacht.

Gestationsdiabetes ruft eine Herunterregulation des PPAR $\gamma$  Rezeptors sowohl im Extravillösen Trophoblast als auch im Syncytiotrophoblast hervor.<sup>2</sup> Die Herunterregulierung des PPAR  $\gamma$  durch seine Agonisten in der GDM Placenta ist von einer Konzentrationsveränderung der Agonisten in der diabetischen Stoffwechsellage wie veränderten Fettsäurederivaten abhängig.

Eine weitere metabolisch wichtige Gruppe der Kernrezeptoren sind die **Östrogen-Rezeptoren (ER)**. Östrogene spielen im Körper,

sowohl in der Fettverteilung und Fettakkumulation<sup>3</sup> als auch im Blutzuckermetabolismus<sup>4</sup> eine wichtige Rolle. Die Kernrezeptoren ER $\alpha$  und ER $\beta$  vermitteln via Bindung an das estrogen response element (ERE) an der DNA die Östrogen vermittelte Transkription.<sup>5-7</sup> ER $\alpha$  ist ein Kernrezeptor, der eine wichtige Rolle im Blutzucker Metabolismus in vielen unterschiedlichen Körpergeweben spielt. Da ER $\alpha$  in die Glucose Aufnahme involviert ist, ist er in den klassischen Zielorganen von Insulin exprimiert, wie Leber, Fett oder Skelettmuskel.<sup>5, 8, 9</sup> ER $\alpha$  knockout Mäuse sind adipös und insulinresistent.<sup>10, 11</sup>

Außerdem findet man ER  $\alpha$  aber auch in den mütterlichen und fetalen Anteilen der Placenta, ohne seine genaue Funktion dort zu kennen. Da Leptin – als typischer Transmitter im Metabolismus- durch ER  $\alpha$  im SCT reguliert wird, ist von einer homonalen Regulation des placentaren Metabolismus auszugehen.

### **Methoden:**

Für diese Studien wurden die Plazenten von 80 Patientinnen, die in der Frauenklinik der Universität München in der Maistraße entbunden und in die Studie eingeschlossen worden waren, verwendet. Bei 40 dieser Patientinnen war anhand der deutschen Leitlinien durch einen OGTT<sup>12</sup> ein GDM diagnostiziert worden. Die restlichen 40 Patientinnen wiesen einen unauffälligen OGTT auf. Die beiden Gruppen setzten sich jeweils aus 20 Plazenten männlicher Feten und 20 Plazenten weiblicher Feten zusammen. Ausschluss-kriterien waren Mehrlingsschwangerschaften, Frühgeburtlichkeit, Zeichen einer Infektion bei Entbindung, Fehlbildungen und Wachstumsretardierung. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der LMU München genehmigt, von den Patientinnen lag eine schriftliche Einverständ-

niserklärung vor. Die Patientinnen mit GDM waren alle durch Insulintherapiert. Die Placenten wurden immunhistochemisch gefärbt. Anschließend wurde die Färbung semiquantitativ anhand des IRS-Scores analysiert und statistisch ausgewertet. Durch quantitativer Real Time-PCR wurde ER $\alpha$  mRNA in der Decidua untersucht. Durch Methylierungsspezifischer PCR (rt-MSP) wurde die CpG-Island Methylierung der ER $\alpha$  Promoter Region untersucht.

### **Ergebnis:**

ER  $\alpha$  Protein Expression ist im Extravillösen Trophoblast hochreguliert ( $p=0.011$ ) in GDM, im Syncytiotrophoblast fand sich keine Veränderung. Die ER  $\alpha$  mRNA Expression war 1,77fach höher in GDM Decidua verglichen mit gesunden Kontrollen. ( $p=0.024$ ). Nur die Konrollplacenten, nicht die GDM Placenten zeigten eine Methylierung der ER  $\alpha$  Promotorregion. Im fetalen Endothel wurde kein ER $\alpha$  exprimiert. Gestationsdiabetes führte nur zu einer Herunterregulation des ER $\alpha$  im Endothel der Dezidua männlicher Placenten, nicht in den weiblichen.

### **Diskussion:**

Den ER $\alpha$  Rezeptor betreffend, identifizierten wir erhöhte ER $\alpha$  Protein und mRNA Konzentration im EVT von GDM Placenten. Da nur der EVT mit einer veränderten ER Expression reagiert, vermuten wir eine zugrundeliegende Veränderung der lokalen Dezidua statt einer Veränderung der zirkulierenden maternalen Nährstoffe.

Diese erhöhte ER $\alpha$  Expression im GDM ist von einer Demethylierung von CpG Regionen im *ESR1* Promoter begleitet. Da die Insulinresistenz im GDM in einem chronisch inflammatorischen Milieu

resultiert<sup>13</sup>, scheint die ER $\alpha$  Hochregulation für die Erhaltung der Immuntoleranz notwendig. Schon in früheren Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass das pro-inflammatorische Milieu des GDM Promoter Demethylierung von Genen verursacht, die eng mit fetalem Wachstum und der Nährstoffaufnahme verknüpft sind.<sup>14-17</sup> So liegt die Annahme nahe, dass eine ER $\alpha$  Hochregulation nötig ist, um unter diesen Umständen die Immuntoleranz zu erhalten.

#### Literatur:

1. Knabl J, Huttenbrenner R, Hutter S, et al. Gestational diabetes mellitus upregulates vitamin D receptor in extravillous trophoblasts and fetoplacental endothelial cells. *Reproductive sciences* 2015; **22**(3): 358-66.
2. Knabl J, Huttenbrenner R, Hutter S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) is down regulated in trophoblast cells of gestational diabetes mellitus (GDM) and in trophoblast tumour cells BeWo in vitro after stimulation with PPARgamma agonists. *Journal of perinatal medicine* 2013: 1-9.
3. Brown LM, Clegg DJ. Central effects of estradiol in the regulation of food intake, body weight, and adiposity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; **122**(1-3): 65-73.
4. Barros RP, Machado UF, Gustafsson JA. Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus. *Trends Mol Med* 2006; **12**(9): 425-31.
5. Ropero AB, Alonso-Magdalena P, Quesada I, Nadal A. The role of estrogen receptors in the control of energy and glucose homeostasis. *Steroids* 2008; **73**(9-10): 874-9.
6. Pettersson K, Gustafsson JA. Role of estrogen receptor beta in estrogen action. *Annu Rev Physiol* 2001; **63**: 165-92.
7. Nilsson S, Gustafsson JA. Estrogen receptor action. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2002; **12**(4): 237-57.
8. Barros RP, Machado UF, Warner M, Gustafsson JA. Muscle GLUT4 regulation by estrogen receptors ERbeta and ERalpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; **103**(5): 1605-8.
9. Nadal A, Alonso-Magdalena P, Soriano S, Quesada I, Ropero AB. The pancreatic beta-cell as a target of estrogens and

xenoestrogens: Implications for blood glucose homeostasis and diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 2009; **304**(1-2): 63-8.

10. Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, Lubahn DB, Cooke PS. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; **97**(23): 12729-34.
11. Takeda K, Toda K, Saibara T, et al. Progressive development of insulin resistance phenotype in male mice with complete aromatase (CYP19) deficiency. *J Endocrinol* 2003; **176**(2): 237-46.
12. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1982; **144**(7): 768-73.
13. Radaelli T, Varastehpour A, Catalano P, Hauguel-de Mouzon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. *Diabetes* 2003; **52**(12): 2951-8.
14. Nomura Y, Lambertini L, Rialdi A, et al. Global methylation in the placenta and umbilical cord blood from pregnancies with maternal gestational diabetes, preeclampsia, and obesity. *Reproductive sciences* 2014; **21**(1): 131-7.
15. Bouchard L, Thibault S, Guay SP, et al. Leptin gene epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. *Diabetes Care* 2010; **33**(11): 2436-41.
16. Bouchard L, Hivert MF, Guay SP, St-Pierre J, Perron P, Brisson D. Placental adiponectin gene DNA methylation levels are associated with mothers' blood glucose concentration. *Diabetes* 2012; **61**(5): 1272-80.
17. El Hajj N, Pliushch G, Schneider E, et al. Metabolic programming of MEST DNA methylation by intrauterine exposure to gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 2013; **62**(4): 1320-8.