



Doctoral Thesis

Regulatory influence of sex steroids and environmental estrogens in oviduct cells

Author(s):

Reinhart-Blechsmidt, Karin

Publication Date:

1999

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-003819516> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 13199

Regulatory Influence of Sex Steroids and Environmental Estrogens in Oviduct Cells

A Dissertation submitted to the
Federal Institute of Technology Zurich
for the degree of a
Doctor of Natural Sciences

presented by

Karin Reinhart-Blechschi
eidg. dipl. Apothekerin, ETH Zurich
born July 2, 1963
citizen of Winterthur (ZH)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Theodor Koller, examiner
Prof. Dr. Christoph Richter, co-examiner
Dr. Marinella Rosselli, co-examiner

Zurich 1999

Summary

The oviduct is a female reproductive organ. Its functions are under endocrine control. The sex hormones estradiol and progesterone play a key role in regulating its growth and differentiation in a cyclic and time-dependent fashion. In order to understand how this is regulated on the cellular level, we established an in vitro cell culture system of bovine and human oviduct cells, mainly epithelial cells or fibroblasts and co-cultures of epithelial cells and fibroblasts (1:1).

Regulation of Growth and Differentiation by Sex Hormones

By measuring ³H-thymidine incorporation (DNA synthesis) we assessed the effects of estradiol and progesterone on growth in bovine oviduct cells. Estradiol and progesterone regulate DNA synthesis in bovine oviduct epithelial cells and fibroblasts in a differential fashion. The results of our co-culture experiments indicate, that stroma-derived factors are mediating estradiol effects on epithelial cell growth and that these cell-cell interactions are important for the maintenance of a normal structure and function of the oviduct.

Multiple factors generated within the oviduct play a role in regulating oviduct functions. We identified two oviduct specific proteins, leukemia inhibitory factor (LIF) and endothelin-1 (ET-1) and showed that they are differentially regulated by estradiol and progesterone.

Influence of Environmental Estrogens

Since under physiological conditions the levels of the ovarian hormones change in a cyclic and time-dependent fashion, it is feasible that constantly present environmental compounds with estrogenic activity may interfere with the effects of the physiological estrogens in the reproductive tract.

Phytoestrogens (genistein, daidzein, formononetin, biochanin A and equol) as well as polychlorinated biphenyls (PCBs) and two of their metabolites induce growth of bovine oviduct fibroblasts as well as the synthesis of LIF (all, except PCB congener 30), similar to estradiol, and the synthesis of ET-1 (all tested

compounds). Interestingly, their effects on ET-1 synthesis were different from the effect of estradiol, which inhibited ET-1 synthesis in bovine oviduct cells.

The environmental estrogens genistein, the 4-OH-PCB-metabolites as well as the estrogen receptor antagonists tamoxifen and ICI 182,780 showed in our competitive estrogen receptor (ER) binding studies, an affinity to the ER lower than estradiol. Since the effects on growth and LIF and ET-1 synthesis were blocked in presence of the specific ER antagonist, ICI 182,780, an ER-mediated pathway is likely.

In conclusion, we provided an in vitro cell culture system of bovine and human oviduct cells. It allowed us to assess, at the cellular level, the effects of estradiol and progesterone on growth and differentiation and some of the underlying mechanisms. Our data provide evidence that estrogenic compounds, present in the environment, can interfere with processes closely and timely regulated by the ovarian hormones. They influenced DNA synthesis as well as the synthesis of locally produced oviduct factors, such as LIF and ET-1. Their effects were at least in part mediated by the ER. Assessing the influence of environmental estrogens on cell growth as well as LIF and ET-1 synthesis in this bovine and human cell culture system can be used as indicators of the potential of various compounds to interfere with the reproductive process related to the oviduct. Any alteration of the oviduct function may be involved in processes leading to a reduced female fertility.

Zusammenfassung

Der Eileiter (Oviduct) ist Teil des weiblichen Geschlechtstraktes. Seine Funktionen werden durch das endokrine System kontrolliert. Die Sexualhormone Estradiol und Progesteron spielen eine wichtige Rolle in der Regulation von Wachstum und Differenzierung in zyklisch und zeitlich genau bestimmter Weise. Ziel dieser Arbeit war es, ein In-vitro-Zellkultursystem von bovinen und menschlichen Eileiterzellen (vor allem Epithelzellen oder Fibroblasten und auch ein Co-Kultursystem mit Epithel- und Stromazellen 1:1) zu etablieren, mit dem Erkenntnisse über die Regelmechanismen auf der zellulären Ebene gewonnen werden können.

Regulation von Wachstum und Differenzierung durch die Sexulahormone

Das Messen der ³H-Thymidininkorporation (DNA Synthese) erlaubte es uns, die Effekte von Estradiol und Progesteron auf das Wachstum der Eileiterzellen zu erfassen. Die Resultate zeigen, dass Estradiol und Progesterone das Wachstum von Epithelzellen und Fibroblasten regulieren. Aus unseren Co-Kulturexperimenten kann geschlossen werden, dass das Epithelzellwachstum über Stromazellen reguliert wird. Die Zell-Zell-Interaktionen von Epithel- und Stromazellen scheinen wichtig, um eine normale Struktur und Funktion des Eileiters zu gewährleisten.

Verschiedene im Eileiter lokal produzierte Proteine sind an der Regulation seiner Funktionen beteiligt. Wir haben zwei eileiterspezifische Proteine, Leukemia Inhibitory Factor (LIF) und Endothelin-1 (ET-1) identifiziert und gezeigt, dass ihre Synthese durch Estradiol und Progesteron reguliert wird.

Einfluss von Phytoestrogenen und PCBs auf Wachstum und Differenzierung

Unter physiologischen Bedingungen unterliegen die Konzentrationen von Estradiol und Progesteron zyklischen Aenderungen. Es ist deshalb möglich, dass durch eine permanente oder zeitlich ungünstige Präsenz von Umweltoestrogenen die Funktionen von hormonabhängigen Geschlechtsorganen beeinflusst werden.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass die Phytoestrogene Genistein, Daidzein, Formononetin, Biochanin A und Equol, PCB Congener 30 und zwei hydroxylierte PCB-Metaboliten das Wachstum von bovinen Eileiterstromazellen (DNA Synthese) ähnlich wie Estradiol selbst stimulieren können. Ebenso wird die Synthese von LIF und ET-1 durch die getesteten Umweltoestrogene induziert. Bemerkenswert ist, dass Estradiol und die Umweltoestrogene die LIF-Synthese induzieren, während Estradiol auf die Synthese von Endothelin-1 einen hemmenden Einfluss hat. Auf der anderen Seite induzieren die Umweltoestrogene die ET-1-Synthese, im Gegensatz zu Estradiol.

Genistein und die zwei getesteten hydroxylierten PCB-Metaboliten, wie auch die Estrogen-Rezeptor-(ER)-Antagonisten Tamoxifen und ICI 182,780 zeigten in unseren kompetitiven ER Bindungsstudien eine Affinität zum Rezeptor, die allerdings geringer war als die von Estradiol. Die Einflüsse der Umweltoestrogene auf das Wachstum von Eileiterstromazellen sowie die LIF Synthese konnten durch ICI 182,780 blockiert werden, was auf einen über den ER verursachten Effekt hindeutet.

Mit dem von uns etablierten In-vitro-Zellkultursystem aus primärem Gewebe von menschlichen und bovinen Eileitern konnte auf zellulärer Ebene die Effekte der Sexualhormone Estradiol und Progesterone auf Wachstum und Differenzierung untersucht und die den beobachteten Effekten zu Grunde liegenden Mechanismen teilweise aufgedeckt werden. Unsere Resultate zeigen, dass Umweltoestrogene die physiologischen Verhältnisse im Eileiter stören können, indem sie das Wachstum der Zellen sowie die Synthese von eileiterspezifischen Proteinen beeinflussen. Diese Beeinflussung des Wachstums, der LIF-und ET-1-Synthese in Eileiterzellen durch Umweltoestrogene könnte in Zukunft dazu verwendet werden, das Potential von weiteren Umweltoestrogenen, den Reproduktionsprozess (Eileiter) zu beeinträchtigen, zu erkennen und zu vergleichen. Jede Veränderung der normalen Funktion des Eileiters kann an der Entstehung von weiblichen Fertilitätsproblemen beteiligt sein.