

Morphometrische sowie licht- und elektronenmikroskopische Charakterisierung kutaner Alterationen Wachstumshormon-transgener Mäuse

Characterization of cutaneous alterations in growth hormone transgenic mice by morphometry, light and electron microscopy

S. Hünemörder

Zusammenfassung: Die Wirkungen von Wachstumshormon (GH) auf die Haut wurden bei männlichen und weiblichen transgenen Mäusen untersucht, die Kopien eines MT (muriner Metallothionein I-Promotor)-hGH (human GH) bzw. eines MT-bGH (bovine GH) oder eines PEPCK (Phosphoenolpyruvatcarboxykinase-Promotor der Ratte)-bGH Genkonstruktes im Genom integriert haben. Die Höhe der GH-Konzentrationen im Serum zeigte bei den verschiedenen transgenen Kollektiven erhebliche Differenzen. Bei den untersuchten MT-hGH-transgenen Individuen wurden hGH-Serumspiegel von 2 bis 9 ng/ml ermittelt. Die bGH-Konzentrationen im Serum reichten von 150 bis 277 ng/ml bei den MT-bGH- bzw. 737 bis 2000 ng/ml bei den PEPCK-bGH-transgenen Tieren. In die Untersuchung einbezogen wurden Tiere verschiedener Altersstufen. Als Kontrollgruppe dienten nichttransgene Wurfgeschwister. Das Hautwachstum wurde unter Anwendung von stereologischen Methoden sowohl absolut als auch in Relation zum Gesamtkörperwachstum untersucht. Strukturelle Veränderungen der Haut wurden sowohl qualitativ als auch quantitativ auf licht- und elektronenmikroskopischer Ebene erfaßt. Besondere Beachtung fand dabei das Hautkollagen. Darüber hinaus erfolgte eine Überprüfung der biomechanischen Eigenschaften der Haut. Absolutes und relatives Hautgewicht ebenso wie absolute und die zum Körpergewicht in Beziehung gesetzte Hautfläche ließen bei männlichen transgenen Tieren gegenüber Kontrollen eine altersabhängige Zunahme erkennen. Diese Befunde waren bei PEPCK-bGH- und MT-hGH-transgenen Männchen besonders ausgeprägt. Entsprechendes konnte bei weiblichen Tieren nicht beobachtet werden. Im Vergleich zur Tierkörperoberfläche war die Hautfläche männlicher PEPCK-bGH-transgener Tiere gegenüber Kontrolltieren vergrößert, bei weiblichen Tieren dagegen vermindert. Bei der biomechanischen Untersuchung der Haut waren die maximale Belastbarkeit und die bis zur Ruptur maximal aufgewendete Kraft männlicher transgener Tiere gegenüber Kontrollen reduziert. Der maximale Dehnungswiderstand war erhöht. Bei weiblichen Tieren konnten keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu Kontrollen festgestellt werden. Die transgenen männlichen Tiere aller Gruppen ließen altersabhängig eine zunehmende, in den höheren Altersklassen mehr als das Doppelte der Kontrollwerte betragende Verdickung des Koriums erkennen. Bei weiblichen Tieren war eine geringgradige Verminderung der Hautdicke feststellbar. Histologisch zeigte sich eine mit fortschreitendem Lebensalter zunehmende Fibrosierung des Koriums und des Unterhautgewebes, die mit einer Atrophie der Hautadnexe und des Hautmuskels einherging. Die Epidermis war bei den transgenen Tieren geringfügig dünner als bei Kontrolltieren. Eine Proliferation des Papillarkörpers war nicht zu beobachten. Quantitativ spiegelten sich diese Befunde in einer signifikanten Erhöhung der Volumendichte des kollagenen Gewebes im Korium und einer Reduktion des Volumenanteils der Hautadnexe wider. Elektronenoptisch waren bei den transgenen männlichen Mäusen gegenüber Kontrollen eine hochgradige Vergrößerung und zum Teil eine Dysplasie der Kollagenfibrillen zu erkennen. Die vergleichsweise geringsten Veränderungen waren bei den MT-bGH-transgenen Tieren feststellbar. Die beobachteten geschlechtsabhängigen Unterschiede sprechen für eine Beteiligung von männlichen Sexualhormonen an den GH-induzierten Wirkungen auf die Haut. Der Vergleich der verschiedenen transgenen Linien läßt erkennen, daß bei männlichen Tieren bereits sehr niedrige hGH-Serumspiegel ausreichen, um Wirkungen auf die Haut zu entfalten, die von bGH erst in sehr hohen Konzentrationen hervorgerufen werden.

Summary: The effects of growth hormone on the skin were studied in transgenic mice harbouring fusion genes, in which the genes coding for human (h) or bovine (b) growth hormone (GH) have been put under the

transcriptional control of the mouse metallothionein I (MT) or the rat phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) promoter. Serum GH concentrations ranged from 737 to 2000 ng/ml in PEPCK-bGH, from 150 to 277 ng/ml in MT-bGH, and from 2 to 9 ng/ml in MT-hGH transgenic mice, respectively. Animals of various age groups were included in this study. Non-transgenic littermates served as controls. The skin weight and the surface area of the skin were recorded, and were related to the growth of the entire body. Stereological methods were used for the estimation of the surface area of the body after removal of the skin. Morphological changes of the skin were studied both qualitatively and quantitatively by light and electron microscopy. In particular, structural alterations of dermal collagen fibers were considered. Body weight was significantly increased in both sexes of transgenic mice versus controls. In male transgenic mice, an age related increase in skin weight, skin-to-body-weight-ratio, surface area of the skin, skin surface area-to-body weight^(0.66)-ratio, and skin thickness was found. In aged PEPCK-bGH transgenic mice the skin-to-body surface area-ratio was significantly increased versus sex- and age-matched controls. Histological changes included fibrosis of the corium and the subcutaneous adipose tissue, thinning of the epidermis and atrophy of hair follicles and sebaceous glands. Occasionally, severe fibrosis associated with atrophy of the panniculus carnosus was noted. A proliferation of papillary dermis was not found. A significant increase in the volume density of collagenous tissue in the corium and a reduction in the fractional volumes of hair follicles and sebaceous glands was found with morphometry. Transmission electron microscopy revealed an extreme enlargement and focal dysplasia of collagen fibrils. Skin changes were markedly more pronounced in MT-hGH and PEPCK-bGH than in MT-bGH transgenic males. Apart from an increase in the surface area of the skin and on significantly higher skin weight, none of these changes was observed in female transgenic mice. In conclusion, the comparison of three different transgenic lines indicates that very low levels of circulating hGH are sufficient to induce skin growth overproportionally to body growth as well as a variety of dermatopathological alterations in male transgenic mice, while bGH appears to be less effective on the stimulation of the skin growth as evidenced by differences in the degree of skin changes between MT-bGH and PEPCK-bGH transgenic males. Furthermore, the observed sex-related differences suggest that sex hormones interfere with stimulating effects of GH in the skin.