

4. Ergebnisse

4.1 Durchflusszytometrie

4.1.1 Charakterisierung der neutrophilen Granulozyten

Mit Hilfe der zweifachen Oberflächenmarkierung durch CD11B und CD16 gelang die differenzierte Darstellung der Neutrophilen in der FACS-Analyse des bearbeiteten Vollblutes der Patientinnen, so dass die anschließende Zuordnung der FLT-1-postiven Zellen problemlos möglich war (Abb.15).

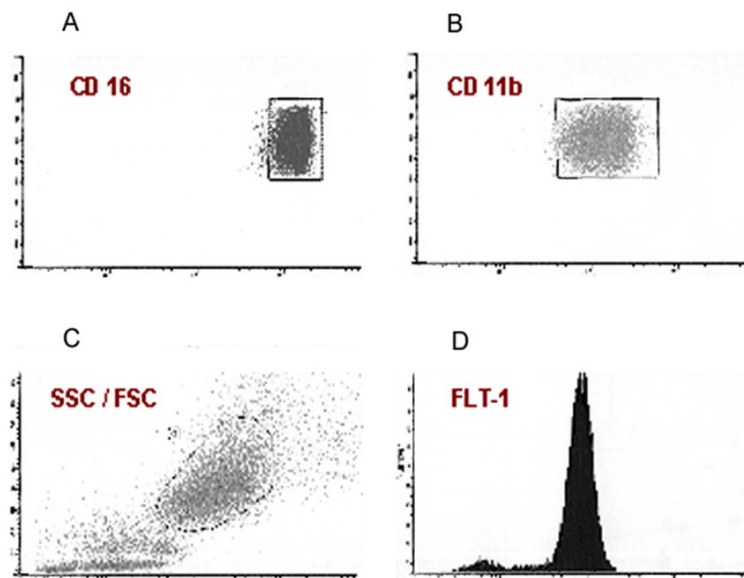


Abb.15: Charakterisierung der neutrophilen Granulozyten in der Durchflusszytometrie

Die FACS-Analyse zeigt zunächst das typische Bild einer Vollblut-Zytometrie, in der bereits mit Hilfe der Parameter Zellgröße (FSC, x-Achse) und Granularität (SSC, y-Achse) erste Differenzierungen gelingen [C]. In Kombination mit den verwendeten Fluorchromen (CD11B, PE-markiert, entspricht Fluoreszenz 2 [B]; CD16, PC5-markiert, entspricht Fluoreszenz 3 [A]. Die Fluoreszenzsignale sind jeweils auf der x-Achse gegen den Parameter FSC auf der y-Achse aufgetragen.) kann die Trennschärfe in der Beschreibung der Zellpopulationen so erhöht werden, dass allein das FLT-1-Signal (FITC-markiert, entspricht Fluoreszenz 1) [D] der Neutrophilen in die Analyse der Epitopendichte eingeht. Für die Darstellung des FLT-1-Signals ist hier ein Histogramm gewählt, das die Fluoreszenzintensität (x-Achse) gegen die Zellzahl (y-Achse) aufträgt und so die Beurteilung der Epitopverteilung auf den Zellen ermöglicht.

4.1.2 FLT-1-Expression der neutrophilen Granulozyten

In der FACS-Analyse der FLT-1-Expression wurden folgende Patientenkollektive untersucht und ihre Daten verglichen, um Aufschluss über mögliche Einflussgrößen auf die Rezeptordichte zu gewinnen:

- Patientinnen mit normotensivem Schwangerschaftsverlauf
- Patientinnen mit Präeklampsie
- nicht gravide Kontrollgruppe

4.1.2.1 Veränderung der FLT-1-Expression in der Schwangerschaft

Zunächst wurden die Proben normotensiver Schwangerer verschiedener Gestationsalter, einschließlich postpartal gewonnener Proben analysiert und die ermittelte Expression den Ergebnissen einer nicht schwangeren Kontrollgruppe gegenübergestellt.

Die Untersuchung ergab eine signifikante Steigerung der FLT-1-Expression der neutrophilen Granulozyten in der Schwangerschaft im Vergleich zu den Kontrollen. Die Zunahme der Expression zeigte zudem in ihrem Verlauf eine Abhängigkeit vom Gestationsalter, mit einem Maximum gegen Mitte des letzten Trimenons, progredientem Abfall zum Termin hin und nochmals deutlicher Reduktion postpartal (Abb.16).

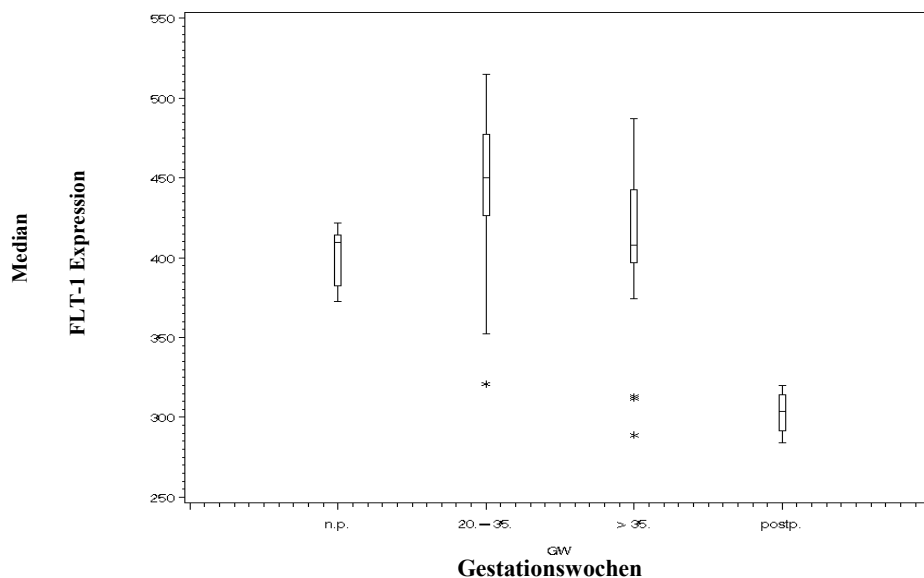


Abb.16: Boxplot-Darstellung der FLT-1-Expression in der Schwangerschaft im Vergleich zu postpartalen und nicht graviden Kontrollen

Der Median des Fluoreszenzsignals des markierten FLT-1 (y-Achse) ist gegen die Gestationswoche der Schwangeren (x-Achse) aufgetragen bzw. ohne zeitlichen Bezug bei der nicht graviden Kontrollgruppe (n.p.= nicht schwanger, postp.= postpartal, *= Ausreisser). Gezeigt werden konnte die deutliche Differenz der Rezeptorexpression in der Schwangerschaft im Vergleich zu den Kontrollen, sowie die Veränderung der Expression im Verlauf der normotensiven Gravidität. Die Darstellung der Daten im Boxplot ist so gewählt, dass 50% der Messwerte auf den Bereich der Box entfallen, das obere und das untere Streuungsmaß Bereich der Box entfallen, das obere und das untere Streuungsmaß repräsentieren das 95., bzw. das 5. Perzentil.

Um die Veränderung der FLT-1-Expression mit dem Fortschreiten der Schwangerschaft genauer beurteilen zu können, wurden insgesamt 162 normotensive Schwangere der Gestationswochen 5 bis 42, sowie Wöchnerinnen, deren Proben 24h *post partum* gewonnen wurden, in die Studie aufgenommen.

Der in der Boxplot-Darstellung bereits angedeutete Verlauf der Expression war nun detailliert zu überprüfen. Mit Beginn der Schwangerschaft kam es zu Verstärkung des FLT-1-Signals (in der Durchflusszytometrie gleichbedeutend mit einer Zunahme der Epitopendichte), das bis Mitte des dritten Trimenons (32. bis 34.Schwangerschaftswoche) progredient anstieg und zu diesem Zeitpunkt ein Maximum erreichte. Von dort ausgehend fiel die Signalintensität des markierten Rezeptors zum Entbindungstermin hin wieder ab. Die postpartalen Proben zeigten 24h nach Ausstoßen der Plazenta sprunghafte Reduktion der FLT-1-Expression (Abb.17).

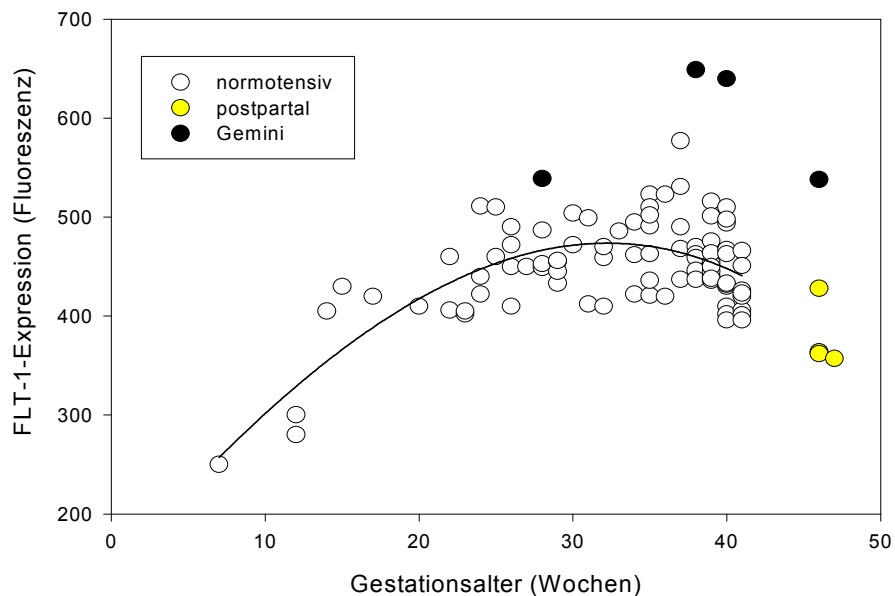


Abb.17: Verlauf der FLT-1-Expression in der normotensiven Gravidität

Der Median der FLT-1-Fluoreszenz ist wiederum gegen das Gestationsalter in Wochen aufgetragen.

Die Ergebnisse der FACS-Analyse der normotensiven Schwangeren sind einzeln dargestellt, postpartal sowie Zwillingschwangerschaften gewonnene Proben wurden hervorgehoben.

Zur Verdeutlichung der Entwicklung der Rezeptorexpression im Schwangerschaftsverlauf wurde der Graph der polynomischen Regressionsfunktion ($FLT-1 = 139.521 + ((17.944 * x)) - ((0.149 * x^2)) - ((0.00267 * x^3))$), wobei $x = \text{Gestationsalter/ Wochen}$ eingeführt.

Der Regressionskoeffizient beträgt $R = 0,699$, die statistische Auswertung ergab $p < 0.001$.

Es zeigt sich eine kontinuierliche Zunahme der FLT-1-Expression mit Fortschreiten der Schwangerschaft bis ins letzte Trimenon hinein, das Maximum wird um die 33. Schwangerschaftswoche erreicht. Zum Termin hin setzt dann Rückgang der Signalintensität ein, dessen Ausmaß postpartal am größten ist. Die Fluoreszenzwerte der untersuchten Geminischwangerschaften liegen weit über den vergleichbaren Daten einer monoplazentaren Gravidität.

4.1.2.2 Expression bei Präeklampsie

Anschließend wurden die in der FACS-Analyse erhobenen Daten der Patientinnen mit durch Präeklampsie komplizierten Schwangerschaftsverlauf (n=23, entspricht den in dieser Versuchsreihe bearbeiteten Proben) mit den Resultaten der normotensiven Kontrollen verglichen. Dabei konnte eine deutlich verminderte FLT-1-Expression bei Präeklampsie festgestellt werden, die in allen untersuchten Gestationsaltern hinter den gesunden Schwangeren zurückblieb. Dem oben beschriebenen Expressionsverlauf bei normotensiver Gravidität vergleichbare Veränderungen konnten nicht nachgewiesen werden. Es zeigte sich eine Rezeptorexpression auf stationär niedrigem Niveau, die keine Anpassung an den Schwangerschaftsfortschritt erkennen ließ (Abb.18 und 19).

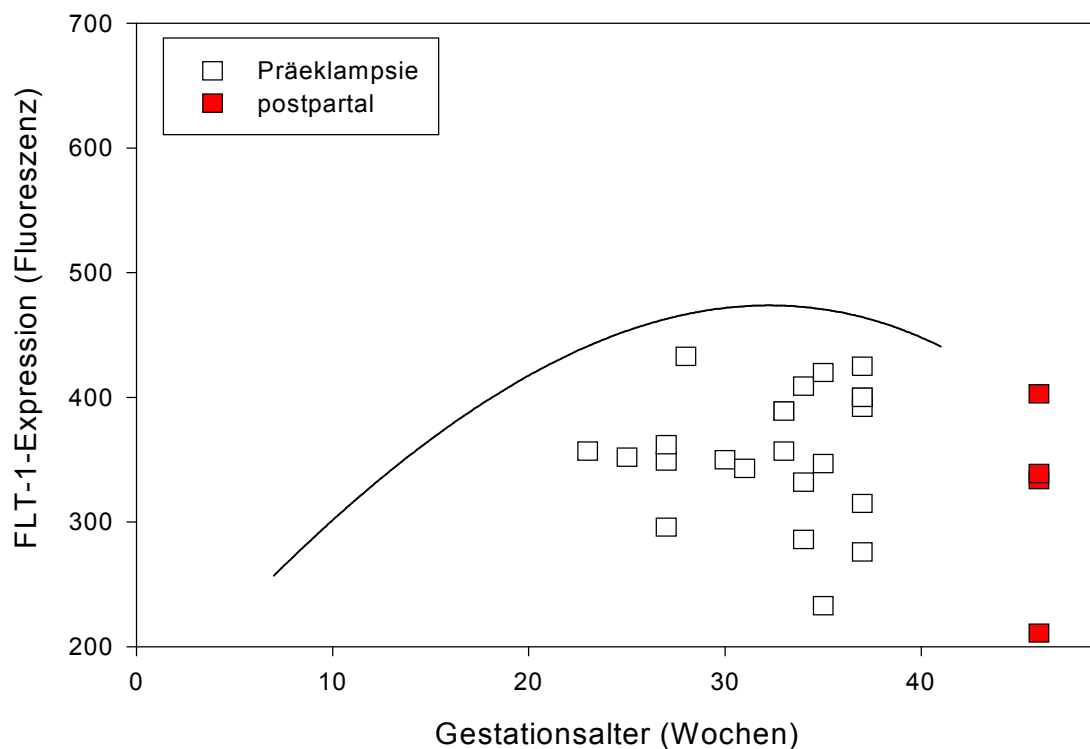


Abb.18: Darstellung der FLT-1-Signalintensität bei Präeklampsie im Schwangerschaftsverlauf

Um den Vergleich zu den normotensiven Kontrollen zu ermöglichen, ist in der Abbildung nochmals der die Expressionsentwicklung der gesunden Schwangeren repräsentierende Graph der Regressionsfunktion aufgeführt (s. Abb.17). Es wird deutlich, dass die FLT-1-Expression bei Präeklampsie diesen Verlauf nicht nachzuahmen vermag und in den untersuchten Gestationsaltern hinter den Kontrollen zurückbleibt.

Aufgrund des Manifestationszeitpunktes des Krankheitsgeschehens beschränken sich die für Präeklampsie erhobenen Daten auf die Gestationswochen 23 bis 38, die Kontrollen sind daher entsprechend gewählt.

Um die so ermittelten Unterschiede in der FLT-1-Expression zwischen normo- und hypertensiver Schwangerschaft auf ihre statistische Relevanz hin zu überprüfen, wurden der Mann-Whitney Rank Sum Test sowie der t-Test herangezogen. Beide Testverfahren bestätigten für den Vergleich der medianen FLT-1- Signale der Kollektive die Signifikanz der Differenz ($p < 0.001$).

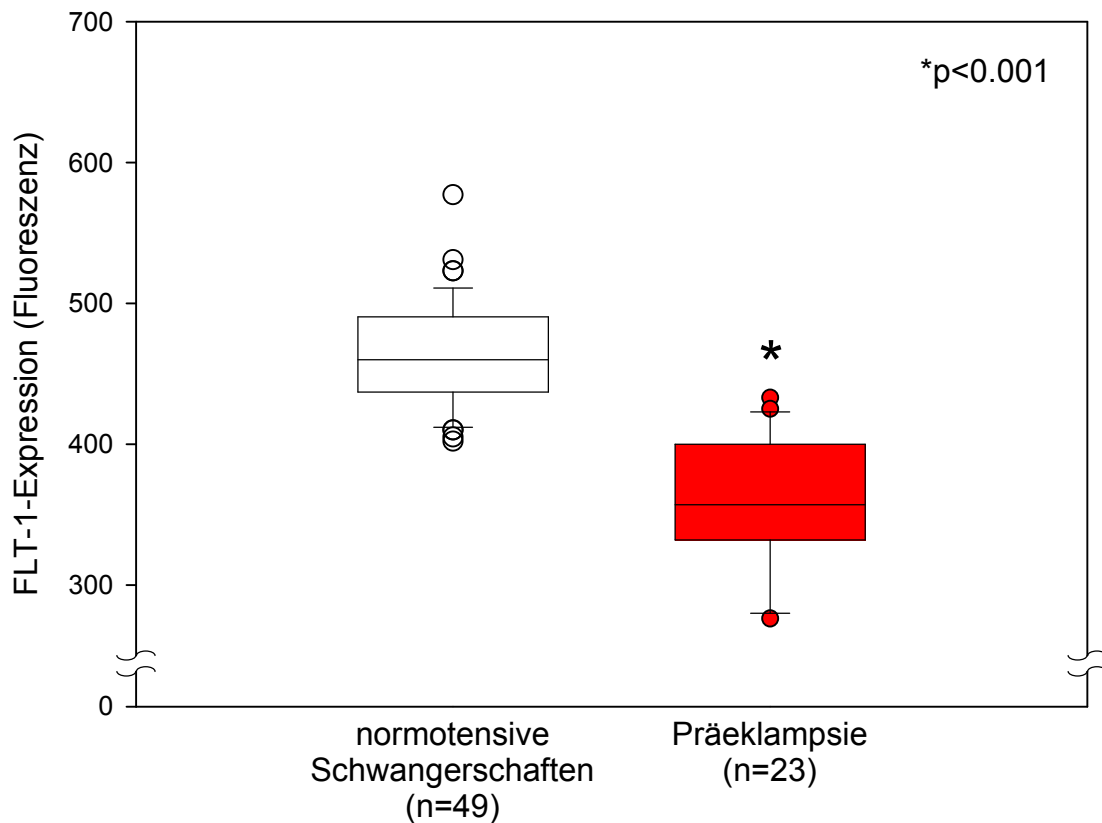


Abb.19: Vergleich der medianen FLT-1-Expression von normotensiver Schwangerschaft und Präeklampsie

Die herangezogenen Proben entstammen den Gestationswochen 23 bis 38, n entspricht den Fallzahlen, der in dieser Versuchsreihe bearbeiteten Proben. Ersichtlich wird der signifikante Unterschied ($p < 0.001$) der Expressionsraten der beiden Kollektive mit gegenüber den Kontrollen deutlich verminderter Rezeptorpräsenz bei Präeklampsie.

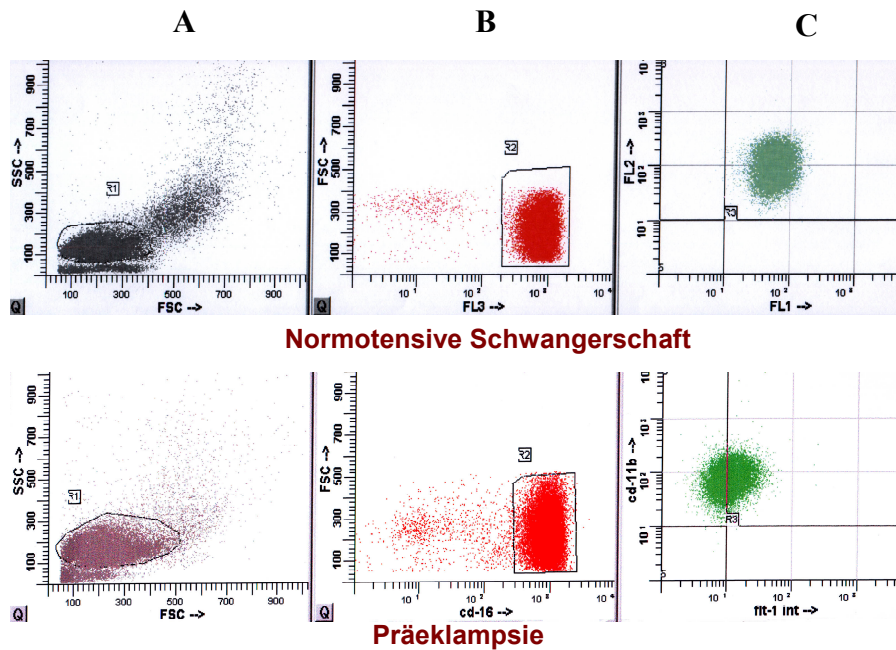


Abb.20: Direkter Vergleich von FACS-Analysen des gleichen Gestationsalters bei normaler Schwangerschaft und Präeklampsie

Gegenüberstellende Darstellung der Granulozytenpopulationen einer normotensiven Schwangeren und einer Präeklampsie-Patientin im FSC/SSC-Bild des permeabilisierten Vollblutes (A) sowie durch Fluoreszenz-Markierung. Während die Intensität des CD16-Signals (B) beider Proben vergleichbar ist (nahezu Übereinstimmung der x-Werte), zeigt die Abbildung C die deutlich herabgesetzte Intensität der FLT-1-Fluoreszenz bei Präeklampsie, ersichtlich an der Verlagerung der Punktvolke hin zu niedrigeren Werten der x-Achse.

In der Abbildung 20 sind zwei FACS-Analysen der FLT-1-Expression zur Verdeutlichung der Differenz zwischen normotensiver Schwangerschaft und Präeklampsie einander gegenübergestellt. Beide Proben entstammen der 30. Gestationswoche. Während die Signalintensität und somit die Epitopendichte bezüglich der CD16-Markierung (Abb.20 B) keine Unterschiede aufweist, wird die reduzierte FLT-1-Expression (Abb.20 C) bei Präeklampsie durch die Verlagerung der Punktvolke nach links ersichtliche.

4.2 RT-PCR-Analyse von FLT-1, sFLT und β -actin

4.2.1 Expression von FLT-1 und β -actin

Die in der Durchflusszytometrie gewonnenen Daten der FLT-1-Expression im Verlauf normo- und hypertensiver Schwangerschaften wurden mit Hilfe der semi-quantitativen RT-PCR auf ihre Übertragbarkeit auf die Ebene der Transkription hin überprüft.

Die Abbildung 21 zeigt eine typische RT-PCR-Analyse von PCR-Produkten mit Hilfe der Gelelektrophorese. Auch auf Ebene der mRNA-Expression lässt sich eine Abhängigkeit des FLT-1-Signals vom Gestationsalter nachweisen.

So nimmt die Intensität der spezifischen Banden in der Größenordnung von 535 bp von der Frühschwangerschaft (1. Trimenon, Spuren 2-3) bis zum dritten Trimenon (33.-37. Schwangerschaftswoche, Spuren 4-6) zu, kehrt zum Termin (40. Schwangerschaftswoche, Spur 7) hin wieder auf schwächeres Niveau zurück, um sich postpartal nochmals zu verringern (Spuren 8-9).

Die Spuren 10 und 11 zeigen die RT-PCR-Analyse von Präeklampsie-Proben (35.+ 36. Schwangerschaftswoche). Gegenüber den normotensiven Kontrollen des gleichen Gestationsabschnitts (Spuren 5 und 6) fällt die deutlich geringere Bandenintensität auf.

In der Abbildung sind ebenfalls die RT-PCR-Analysen der β -actin-Expression beider Patientinnenkollektive aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass hier einzelne Banden der spezifischen Größe von 626 bp mit annähernd gleicher Intensität resultierten.

In Negativ-Kontrollen der RT-PCR-Analyse, für die (-)RT-Ansätze der Reversen Transkription verwendet wurden, konnten keine unspezifischen FLT-1- bzw. β -actin-RT-PCR-Amplifikate nachgewiesen werden (Daten nicht abgebildet).

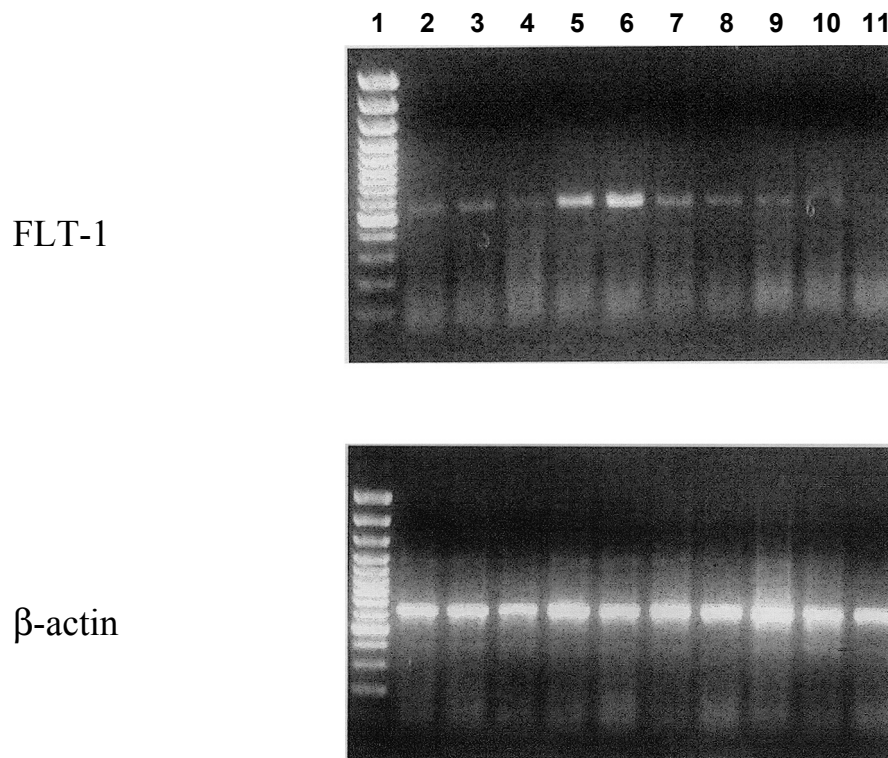


Abb.21: FLT-1- und β-actin-RT-PCR

RT-PCR- Analyse der mRNA-Expression von FLT-1 und β-actin verschiedener Gestationsalter.

Spur 1 zeigt den eingesetzten DNA-Größenmarker, die Spuren 2-7 stammen von Patientinnen mit normotensivem Schwangerschaftsverlauf (2: 12. Woche, 3: 13. Woche, 4: 33. Woche, 5: 33. Woche; 6: 37. Woche, 7: 40. Woche), die Spuren 8 und 9 stellen postpartal gewonnene Proben dar. Die Spuren 10 und 11 zeigen die Expression bei Präeklampsie (10: 35. Woche, 11: 36. Woche).

4.2.2 Expression von sFLT

Die lösliche Variante des VEGF-Rezeptors-1, sFLT, konnte auf mRNA-Ebene ebenfalls in neutrophilen Granulozyten detektiert werden. Alle Proben der untersuchten Kollektive (normotensive Schwangere prä- und postpartal, n= 45, sowie Präeklampsie-Patientinnen, n= 17) zeigten in der RT-PCR-Analyse spezifische Banden mit einer Größe von 524 bp. In der Gegenüberstellung verschiedener Gestationsalter hinsichtlich der mRNA-Expression des sFLT und des vollwertigen VEGF-Rezeptors FLT-1 ergaben sich vergleichbare Variationen der Bandenintensität (Abb.22, 23, 24 und 25).

In der Abbildung 22 sind Proben des dritten Trimenons bzw. der postpartalen Phase normotensiver Schwangerer dargestellt.

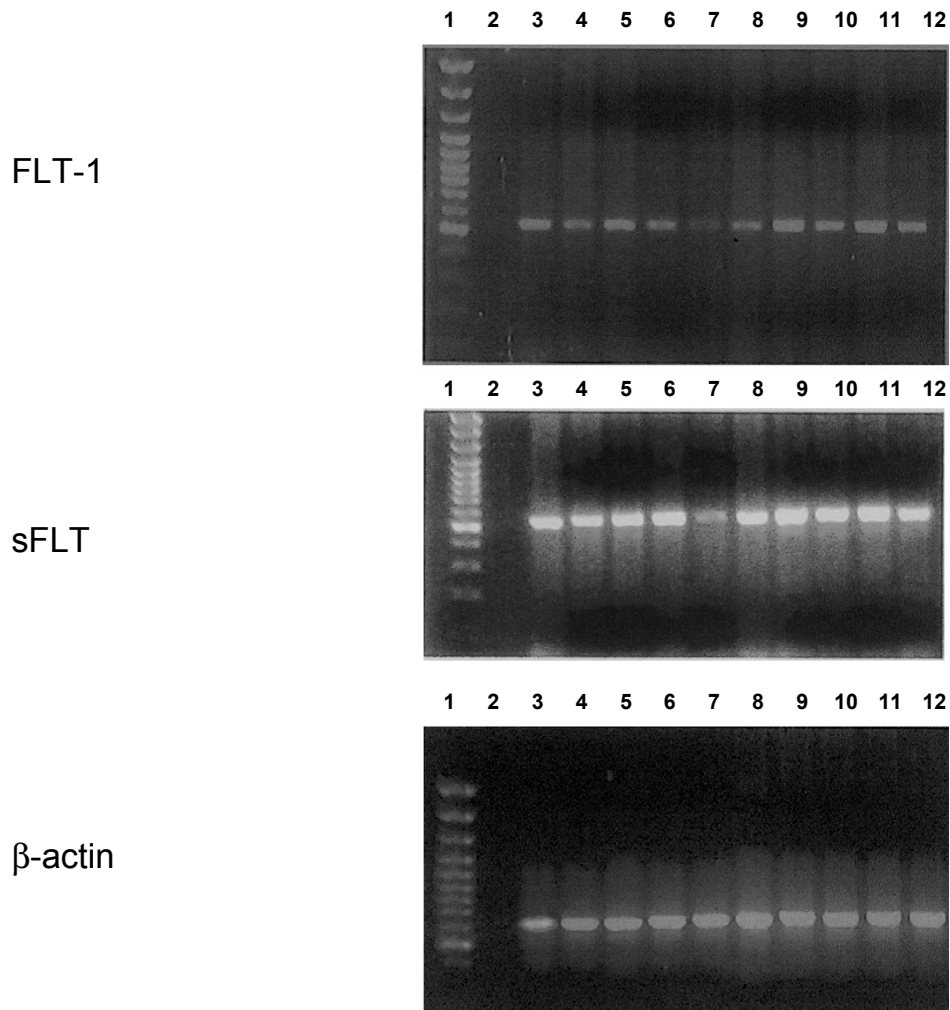


Abb.22: Darstellung der RT-PCR-Analysen der FLT-1- und sFLT-mRNA-Expression in verschiedenen Gestationsaltern bei normotensiver Schwangerschaft

Die Spur 1 zeigt den DNA-Größenmarker, die Spur 2 ein Beispiel eines (-)RT-Ansatzes. 3: 38. Woche; 4: 37. Woche, 5: 37. Woche, 6: 36. Woche, 7: 3 Wochen postpartal, 8: 41. Woche, 9: 40. Woche, 10: 2 Tage postpartal, 9: 40. Woche, 10: 2 Tage postpartal, 11: 37. Woche, 12: 42. Woche

Die Proben entstammen dem dritten Trimenon bzw. der postpartalen Phase bei normotensivem Schwangerschaftsverlauf. Zur Kontrolle der Äquivalenz der eingesetzten cDNA-Menge sowie deren Qualität diente wiederum die Amplifikation von β -actin. Die Expression von sFLT konnte in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden (Spuren 3-12). Die Bandenintensität variiert in dem vollständigen Rezeptor vergleichbaren Maße, besonders deutlich der Spur 7 zu entnehmen, bei der es sich um eine 21 Tage postpartal gewonnene Probe handelt.

Die Spuren 2 der Gelelektrophoresen zeigen exemplarisch jeweils eine durch Verwendung von (-)RT-Ansätzen erhaltene Negativ-Kontrolle. Es wurden keine unspezifischen Amplifikate nachgewiesen.

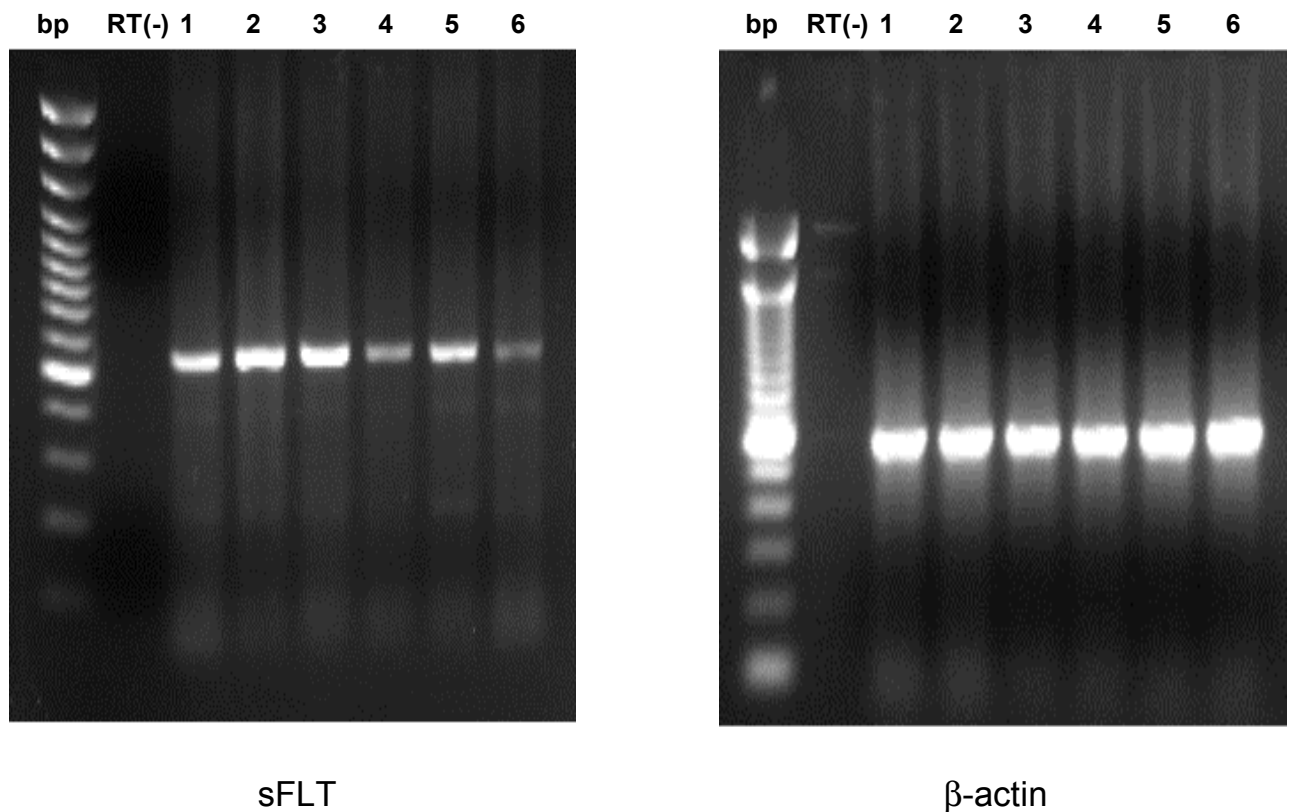


Abb.23: RT-PCR-Analyse der sFLT-Expression normotensiver Schwangerschaften und bei Präeklampsie
Dargestellt sind Proben des gesunden Kollektivs in den Schwangerschaftswochen 24 (1), 30 (2), 34 (3) und postpartal (4 und 5) sowie einer Präeklampsie der 34. Schwangerschaftswoche (6).

Im Vergleich ist wiederum die β -actin-Analyse derselben Proben abgebildet.

Die mit *bp* bezeichnete Spur enthält den DNA-Größenmarker, ausserdem ist beispielhaft ein RT(-)-Ansatz dargestellt.

Es zeigt sich auch hier eine Zunahme der Bandenintensität in der sFLT-Analyse der physiologischen Graviditäten, entsprechend dem Schwangerschaftsfortschritt (1-3), sowie ein postpartaler Rückgang des Expressionsniveaus (4 –5). Das Ergebnis bei Präeklampsie(6) ist eher den postpartalen als den Proben desselben Gestationsalters vergleichbar. Die Bandenintensität der β -actin-RT-PCR ist hingegen bei allen untersuchten Proben nahezu identisch.

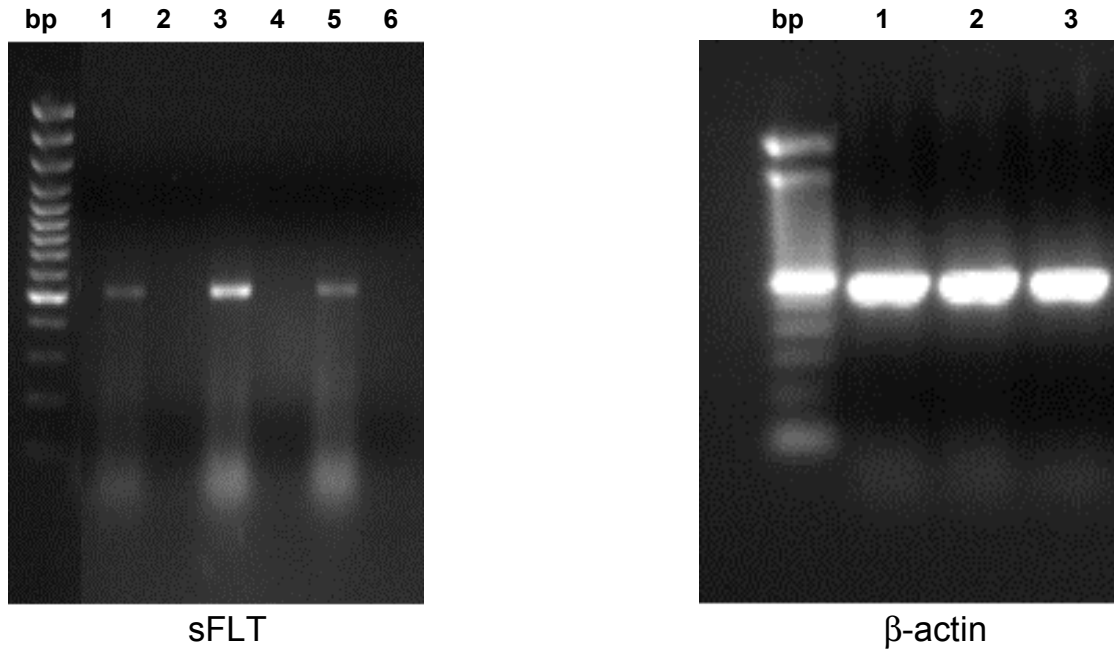


Abb.24: sFLT- und β -actin-RT-PCR einer Präeklampsie und normaler Schwangerschaften der 35. Schwangerschaftswoche, sowie postpartal

Darstellung der sFLT-Analyse jeweils mit den Negativkontrollen (-)RT-Ansätze (Spuren 2, 4, 6).

Vergleichbare Ergebnisse wie in der vorherigen Abbildung (Abb.23). Die Analyse der sFLT-Expression der Präeklampsie (1) zeigt deutliche Differenz zur normotensiven Probe desselben Gestationsalters (3) und entspricht hinsichtlich der Bandintensität vielmehr der postpartal gewonnenen Probe (5). Für die β -actin-Expression ergeben sich bei den drei Proben keine Unterschiede (Spuren 1-3). bp entspricht wiederum dem DNA-Größenmarker.

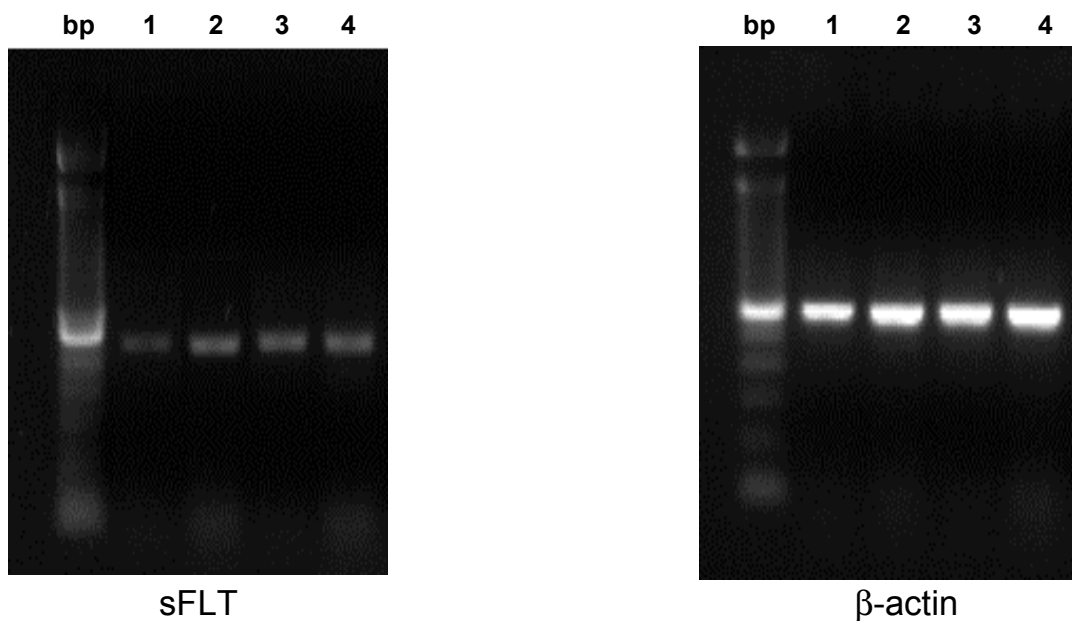


Abb.25: Darstellung der sFLT-Expression anhand RT-PCR bei Präeklampsie-Patientinnen

Es zeigt sich ein stationär niedriges Expressionsniveau in den verschiedenen Gestationsaltern (1: 36 Woche, 2: 34. Woche, 3: 32. Woche, 4: 37. Woche), das im Gegensatz zu den Ergebnissen des normotensiven Kollektivs (Abb.23) keine Anpassung an den Schwangerschaftsfortschritt erkennen lässt.

4.3 FLT-1-Expression im Stimulationsexperiment

Mit Hilfe der Stimationsversuche sollte geklärt werden, ob die für Endothelzellkulturen nachgewiesene Beeinflussung der FLT-1-Expression durch Zusatz von VEGF auch bei neutrophilen Granulozyten beobachtet werden kann. Granulozyten-Isolate von Schwangeren mit normalem Blutdruck ($n = 11$) und von Präeklampsie-Patientinnen ($n = 9$) wurden für die Stimulation verwendet (Abb.26).

Im normotensiven Kollektiv konnte bei jeder Probe nach 24stündiger Inkubation mit VEGF₁₆₅ in der anschließenden FACS-Analyse eine Zunahme der FLT-1-Expression festgestellt werden. In der statistischen Auswertung belegte der zweiseitige t-Test die Signifikanz der Expressionsveränderung ($p < 0,001$).

Die Präeklampsie-Proben wiesen beim Vergleich der Rezeptormarkierung vor und nach Stimulation keine signifikanten Unterschiede auf.

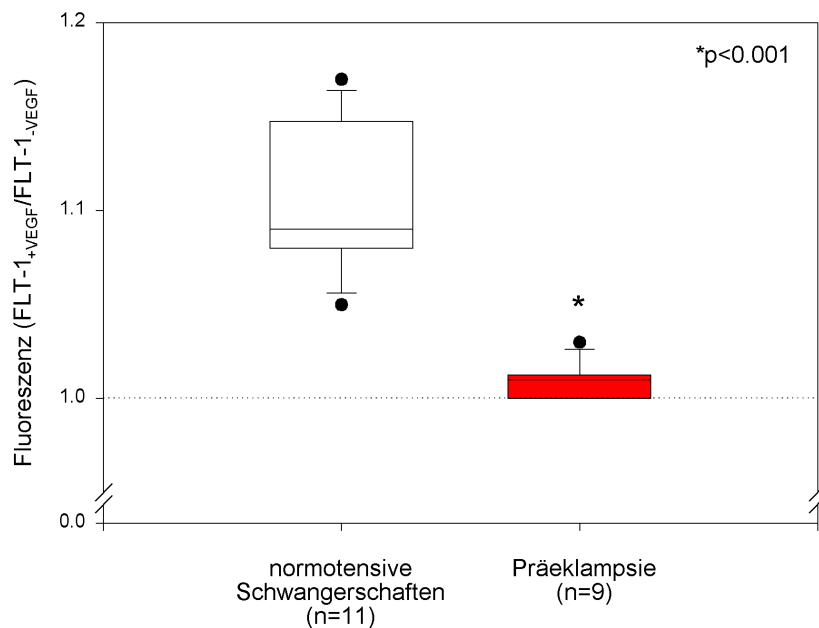


Abb.26: Boxplot-Darstellung der Expressionsveränderung des FLT-1 nach 24h Stimulation mit VEGF₁₆₅ bei normotensiver Schwangerschaft und Präeklampsie.

Zur Erfassung der Veränderung wurde für jede Probe der Quotient der FLT-1-Fluoreszenzen vor und nach Stimulation gebildet. Die Darstellung der so ermittelten Messwerte erfolgte als Boxplot. Neben der 5. und der 95. Perzentile wurden als Streuungsmaße außerdem der Minimal- und Maximalwert eingeführt (●). Für die normotensiven Schwangeren ergab sich eine signifikante Zunahme der Rezeptorexpression (Mittelwert des Quotienten 1,11), während bei Präeklampsie die FLT-1-Fluoreszenz unverändert blieb (Mittelwert des Quotienten 1,01). Beide Kollektive unterschieden sich hierbei signifikant voneinander ($p < 0,001$). n entspricht den Fallzahlen

4.4 Funktionsanalyse des FLT-1 im Migrationsassay

Die Untersuchung der Migrationsfähigkeit der neutrophilen Granulozyten bei gegebenem VEGF-Gradienten sollte Aufschluss über die mögliche Funktion des FLT-1 geben. Es galt zu klären, ob eine Veränderung der eingesetzten VEGF-Konzentration die Zahl der migrierenden Zellen beeinflussen kann und sich hierbei ein Zusammenhang im Sinne einer Dosis-Wirkungsbeziehung ergibt.

Für diese Versuche wurden Granulozytenisolate von Frauen mit normotensivem Schwangerschaftsverlauf (n=7) und von Präeklampsie-Patientinnen (n=6) eingesetzt.

In der Gruppe der gesunden Schwangeren ergab sich bei einer VEGF-Konzentration von 0,15 nM eine gegenüber der nativen, ohne VEGF-Zusatz erfolgten, Migration nur eine geringfügige Zunahme an migrierten Zellen (Tab.4). Bei Steigerung der eingesetzten VEGF-Menge auf 0,3 und 0,6 nM ließ sich jedoch auch eine deutliche Zunahme der gewanderten Zellen verzeichnen (Abb.27). In der statistischen Auswertung konnte belegt werden, dass sich die Ergebnisse der einzelnen Konzentrationsgruppen signifikant unterschieden ($p < 0,001$).

Tab.4: Ergebnisse der Migrationsassays der normotensiven Schwangeren

eingesetzte VEGF-Konzentration (in nM)	Mittelwert der Migration	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
0,15	1,059	0,042	0,016
0,3	1,434	0,209	0,079
0,6	1,800	0,288	0,109

Der Bildung des Mittelwertes der Migration wurde in jeder Gruppe die Quotientenbildung $\text{Migration}_{\text{mit VEGF}} / \text{Migration}_{\text{ohne VEGF}}$ zugrundegelegt.

Im Präeklampsie-Kollektiv konnte die Anzahl der migrierten Zellen durch VEGF nicht beeinflusst werden. Gegenüber dem Migrationsassay, dem kein VEGF hinzugefügt wurde, zeigte keiner der Ansätze mit VEGF eine Veränderung. Die Variation der Konzentration blieb ohne Auswirkung (Abb.28).

In der Tabelle 5 sind wiederum die Mittelwerte des Migrationsquotienten aufgeführt, die einzelnen Konzentrationsgruppen unterscheiden sich statistisch nicht signifikant

Tab.5: Ergebnisse der Migrationsassays der Präeklampsie-Patientinnen

eingesetzte VEGF-Konzentration (in nM)	Mittelwert der Migration	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
0,15	1,002	0,016	0,007
0,3	1,003	0,014	0,006
0,6	1,002	0,015	0,006

In der Abbildung 27 sind die Ergebnisse der Tabellen als Boxplots dargestellt. Bei den gesunden Schwangeren wird die Zunahme des Anteils an gewanderten neutrophilen Granulozyten in Abhängigkeit von der gegebenen VEGF-Konzentration deutlich.

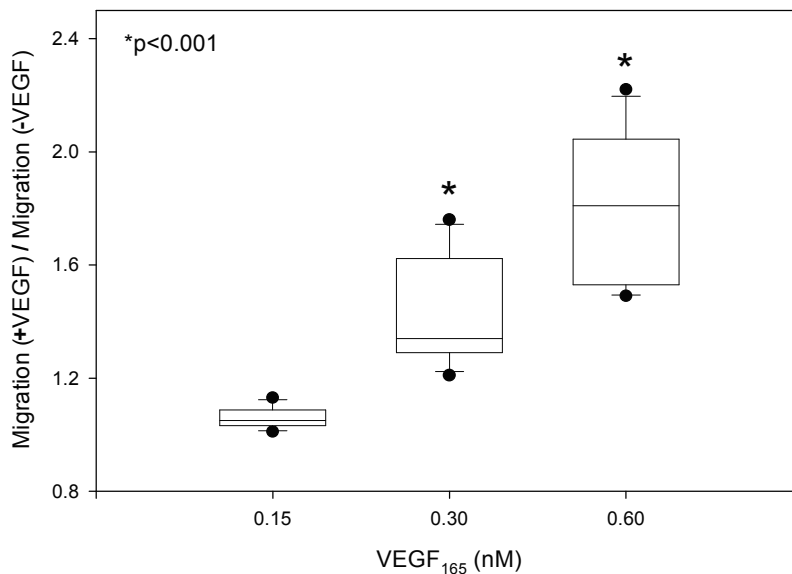


Abb.27: Ergebnisse der Migrationsassays bei normotensiver Schwangerschaften

Boxplot-Darstellung der Migrationsveränderung in Abhängigkeit von der VEGF-Konzentration bei normotensiven Schwangeren. Die statistische Signifikanz der Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (0,15/ 0,3/ 0,6 nM VEGF) wurde belegt (* $p < 0,001$, nach Kruskal-Wallis-Test).

Bei Präeklampsie hingegen unterscheiden sich die Ergebnisse der Migrationsversuche trotz steigender Konzentration von VEGF nicht signifikant (Abb.28).

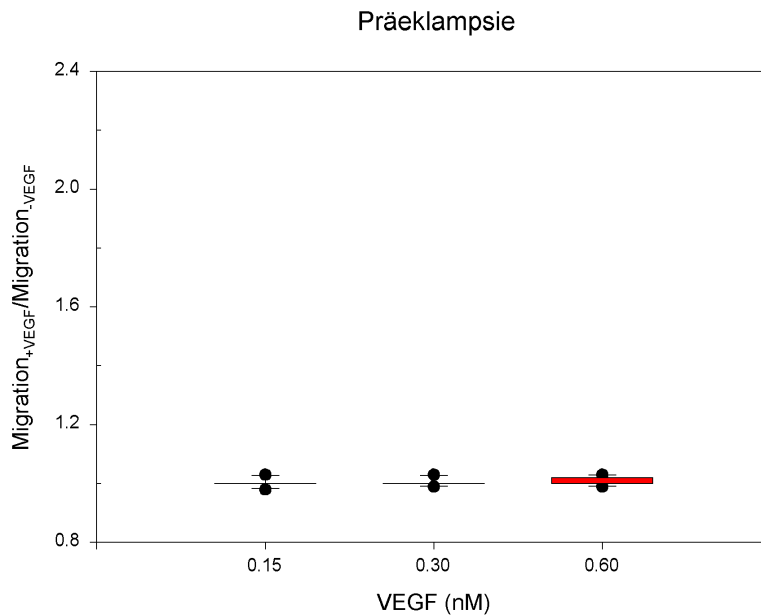


Abb.28: Ergebnisse der Migrationsassays bei Präeklampsie

Boxplot-Darstellung der Migrationsveränderung in Abhängigkeit von der VEGF-Konzentration bei Präeklampsie. Eine Zunahme der VEGF-Konzentration ist nicht mit einem Anstieg der Zahl migrierender Zellen verbunden. Das Verhältnis zur Migration ohne VEGF-Zusatz bleibt auch bei steigender VEGF-Konzentration konstant. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich statistisch nicht signifikant.

Um das unterschiedliche Migrationsverhalten der Granulozyten auf variierende VEGF-Konzentration bei normotensivem und durch Präeklampsie kompliziertem Schwangerschaftsverlauf zu verdeutlichen, wurde die zusätzliche Abbildung in einem gemeinsamen Diagramm gewählt (Abb. 29). Hier wurde nicht nur der statistische Vergleich der einzelnen Konzentrationsansätze innerhalb eines Kollektives einbezogen, sondern auch zwischen beiden Patientinnen-Gruppen. Dabei zeigten sich signifikante Unterschiede bei jedem Wertepaar ($p < 0,002$).

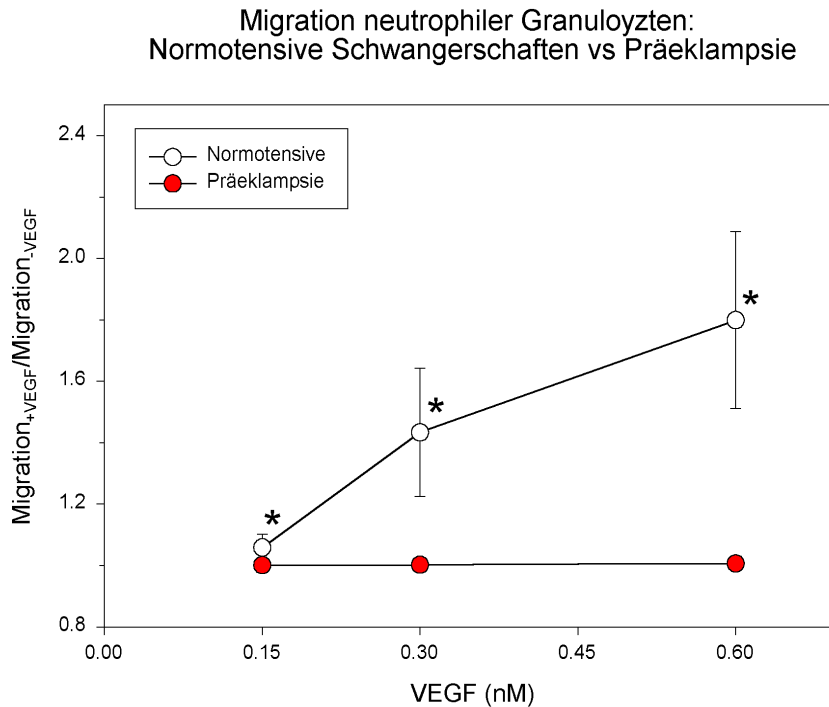


Abb.29: Migration neutrophiler Granulozyten bei gesunder Schwangerschaft und Präeklampsie

Dargestellt ist der Mittelwert der Migration mit der Standardabweichung ($\bar{x} \pm SD$), die statistische Signifikanz der Unterschiede der einzelnen Konzentrationsansätze im Vergleich zwischen beiden Kollektiven ist belegt (* $p < 0,002$, nach Mann-Whitney Rank Sum Test).

Durch Zusatz von fMLP als chemotaktisch wirksamer Substanz sollte geklärt werden, ob die dargestellte Einschränkung des Migrationsverhaltens der neutrophilen Granulozyten bei Präeklampsie VEGF-spezifisch ist oder Ausdruck einer allgemeinen Störung dieser Zellfunktion.

Im Folgenden sind die Ergebnisse der mit fMLP-Zusatz durchgeführten Migrationsassays bei Präeklampsie ($n = 6$) zusammengefasst. Um den Vergleich zwischen dieser Messreihe und den VEGF-Versuchen zu erleichtern, ist auch nochmals die Migration unter VEGF (0,3 nM) dargestellt (Abb.30).

Das Diagramm zeigt die relative Zellwanderung, die aus dem Verhältnis der Messungen mit den jeweiligen Zusätzen und der Eigenbewegung der Zellen (Versuche ohne chemotaktische Substanz) errechnet wurde. Im Gegensatz zu den Resultaten bei VEGF-Zusatz kam es unter fMLP-Einfluss (10ng/ml) bei Präeklampsie zu deutlich gesteigerter Migration der neutrophilen Granulozyten.

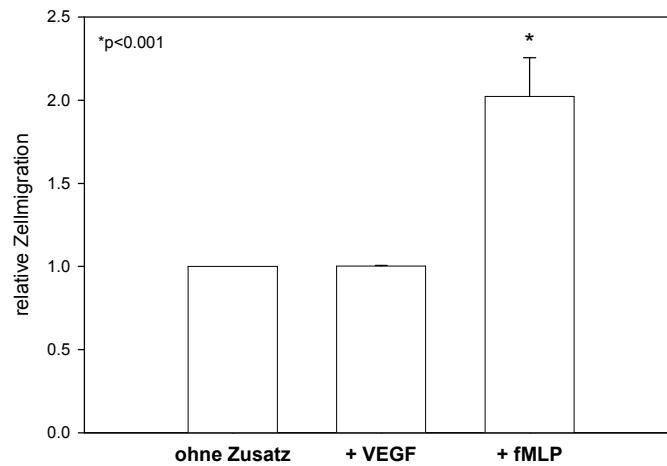


Abb.30: Migration neutrophiler Granulozyten bei Präeklampsie nach Zusatz von fMLP

Darstellung der relativen Zellwanderung bei Präeklampsie (gebildet aus dem Quotienten der Anzahl der migrierten Zellen unter chemotaktischem Einfluss [VEGF/ 0,3 nM, fMLP 10 ng/ml] und der Zelleigenbewegung).

Bei fMLP-Zusatz war die Migration der neutrophilen Granulozyten deutlich gesteigert. Der Unterschied zu den Messungen mit VEGF war dabei signifikant (* $p < 0,001$).

Die Darstellung im Säulendiagramm erfolgt mit Angabe der Standardabweichung.