

Aus der Klinik für Geburtsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von TNF-Alpha auf Schwangerschaften kompliziert
durch Gestationsdiabetes

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tatjana Gabriele Dessoj
aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. U. Schäfer-Graf
2. Prof. Dr. med. KTM Schneider
3. Prof. Dr. med. W. Klockenbusch

Datum der Promotion : 30.01.2009

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung		6
Abstract		8
1.	Einleitung	10
1.1	Fragestellung	10
1.2	Gestationsdiabetes (GDM)	11
1.2.1	Definition und Diagnose	11
1.2.2	Pathophysiologie	12
1.2.3	Folgen für Mutter und Kind	13
1.3	Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)	14
1.3.1	TNF- α und Insulinresistenz	15
1.3.2	TNF- α und Schwangerschaft	17
1.3.2.1.	TNF- α und GDM	18
2.	Material und Methoden	20
2.1	Material	20
2.1.1	Kollektiv	20
2.1.1.1.	Mütterliche Proben	20
2.1.1.2.	Kindliche Proben	21
2.2	Methoden	21
2.2.1	Bestimmung von TNF- α	21
2.2.1.1.	Prinzip des Enzymimmunoassay	21
2.2.1.2.	Praktische Durchführung	22
2.2.2	Bestimmung von Cortisol, Erythropoetin, Insulin und Leptin	24

2.2.2.1.	Prinzip des Radioimmunoassay	24
2.2.2.2.	Praktische Durchführung der Messung von Cortisol	25
2.2.2.3.	Praktische Durchführung der Messung von Erythropoetin	26
2.2.3	Cholesterin, Triglyzeride, LDL und Glukose: Prinzip des optisch enzymatischen Farbttest	27
2.2.4	Kindliches Wachstum	28
2.2.4.1.	Messung des fetalen Wachstums während der SS	28
2.2.4.2.	Neonatale anthropometrische Daten	28
2.2.5	Statistik	28
3.	Ergebnisse	30
3.1	Maternale Charakteristika	30
3.1.1	Demographische und Diagnose GDM betreffende Parameter	30
3.1.2	Maternale Stoffwechselfparameter bei Studieneintritt	31
3.1.3	Maternale Stoffwechselfparameter bei Entbindung	33
3.1.4	TNF- α im Verlauf der Schwangerschaft	33
3.2	Neonatale Charakteristika	34
3.3	Korrelationen zwischen TNF- α und verschiedenen maternalen und fetalen Parametern	35
3.3.1	Maternales TNF- α und mütterlicher Metabolismus	35
3.3.2	Maternales TNF- α und kindliches Wachstum	38
3.3.3	Fetales TNF- α im Nabelschnurblut und kindliches Wachstum	39
3.3.4	TNF- α und kindlicher Metabolismus	40
3.3.5	Mütterliches TNF- α und Nabelschnur-TNF- α	42

3.4	Cortisol	42
3.5	Erythropoetin	46
4.	Diskussion	49
4.1	Mütterliches TNF- α	49
4.1.1	Verlauf von TNF- α in der Schwangerschaft	49
4.1.2	TNF- α und Parameter des Glukosestoffwechsels	52
4.1.3	TNF- α und maternaler Body Mass Index	55
4.1.4	TNF- α und Parameter des maternalen Fettstoffwechsel	56
4.2	Mutter und Kind	57
4.3	Kindliche Ergebnisse	58
4.3.1	TNF- α im Nabelschnurblut	58
4.3.1.1.	TNF- α und fetales Wachstum	58
4.3.1.2.	Fetales TNF- α und Parameter des fetalen Fettstoffwechsels	60
4.3.2	Cortisol im Nabelschnurblut	62
4.3.3	Erythropoetin im Nabelschnurblut	63
5.	Zusammenfassung	64
	Abkürzungsverzeichnis	66
	Literaturverzeichnis	68
	Danksagung	81
	Lebenslauf	82
	Erklärung	83

Zusammenfassung

Die Bedeutung des Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) bei der Entstehung von Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes mellitus rückt zunehmend in das Interesse der diabetologischen Forschung. Ziel dieser Studie war die Klärung der Bedeutung von TNF- α für Mutter und Fet bei Schwangerschaften mit Gestationsdiabetes (GDM).

In der vorliegenden Studie wurde TNF- α im mütterlichen Plasma von 63 Schwangeren mit GDM im Verlauf der Schwangerschaft, vor der Entbindung und im Nabelschnurblut von 92 Neugeborenen per ELISA bestimmt. Zeitgleich wurden Glukose, Insulin, Lipide und Leptin in maternalem und fetalem Blut gemessen. Das kindliche Wachstum wurde durch sonographische Messungen des fetalen Abdominalumfanges während der Schwangerschaft sowie Messung von Geburtsgewicht und -länge bestimmt.

Die vier wichtigsten Ergebnisse unserer Studie waren:

1. Im Verlauf der Schwangerschaft kam es nicht zu signifikanten Änderungen der maternalen TNF- α -Konzentrationen. Parameter des mütterlichen Glukosestoffwechsels sowie der Insulinsensitivität zeigten keine Korrelationen zu der maternalen TNF- α -Konzentration, jedoch ergab sich eine Tendenz einer negativen Korrelation zu den nüchternen Glukosekonzentrationen ($r=-0,4$, $P=0,07$). Es bestand zudem eine signifikante positive Korrelation zu den postprandialen Lipiden.
2. Mütterliches und kindliches TNF- α zeigten keinen Zusammenhang. Der Hauptproduktionsort von TNF- α für den Feten scheint demnach nicht die Plazenta zu sein.
3. Es ergab sich weder für maternales noch für fetales TNF- α ein signifikanter Zusammenhang mit dem kindlichen Wachstum, bestimmt durch sonographische Messungen des fetalen Abdominalumfanges während der Schwangerschaft und Bestimmung von Geburtsgewicht und -länge. Es zeigte sich jedoch tendenziell bei großen Kindern eine höhere maternale TNF- α -Konzentration (1,93 pg/ml) als bei kleinen Kindern (1,15 pg/ml).

4. Bei den Neugeborenen zeigte sich keine Korrelation von TNF- α mit anderen fetalen Stoffwechselfparametern, mit Ausnahme einer positiven Korrelation mit Triglyzeriden bei wachstumsretardierten Neugeborenen. Wir nehmen an, dass intrauteriner Streß oder Hypoxie bei small for gestational age (SGA) Kindern verantwortlich sein könnte für einen Anstieg der TNF- α -Konzentration. Es ist bekannt, dass erhöhtes TNF- α eine Stimulation der Lipolyse mit Anstieg der Lipidkonzentrationen bewirkt.

Wir konnten keinen Zusammenhang zwischen TNF- α und maternalem Glukosestoffwechsel bei GDM nachweisen. Nach unseren Studienergebnissen wird der fetale Stoffwechsel nicht von TNF- α beeinflusst, mit Ausnahme einer möglichen Bereitstellung von alternativen Energiequellen durch Stimulation der Lipolyse bei wachstumsretardierten Neugeborenen.

Schlagworte:

TNF- α , GDM, Insulinresistenz, Fettstoffwechsel

Abstract

Tumor necrosis factor (TNF- α) has been shown to induce insulin resistance and diabetes mellitus. Aim of this study was to map the meaning of TNF- α for mother and fetus in pregnancies with gestational diabetes (GDM).

We measured the concentration of TNF- α in maternal plasma from 63 pregnant women with GDM at different time points in pregnancy, before delivery and in cord blood from 92 newborns. TNF- α was measured by enzyme-linked immunoassay. Additionally we measured blood glucose, insulin, lipids and leptin in maternal and fetal serum at delivery. The fetal growth were determined by ultrasound of the fetal abdominal circumference during pregnancy and determination of weight and height at birth.

Our major findings had been:

1. There were no significant changes in maternal plasma concentrations of TNF- α during pregnancy. There was no correlation between TNF- α and parameters of maternal glucose metabolism and insulin sensitivity besides a tendency of a negative correlation with fasting maternal glucose samples ($r=0,4$, $P=0,07$) and a significant positive correlation to postprandial lipids.
2. Maternal and fetal TNF- α did not correlate, the placenta is obviously not the most important source of fetal TNF- α .
3. Neither maternal nor fetal TNF- α concentrations showed a significant correlation with the fetal growth. But mothers with large for gestational age children tended to have higher maternal TNF- α concentration (1,93 pg/ml) than mothers with small for gestational age children (1,15 pg/ml).
4. There was no significant correlation between TNF- α and fetal metabolism except a positive correlation with triglycerides in small for gestational age newborn. We hypothesized that intrauterine stress or hypoxia in small for gestational age children could be responsible for the increase of TNF- α which stimulated fetal lipolysis.

In our study we could not show a correlation between TNF- α and parameters of maternal glucose metabolism in pregnancies with GDM. We also did not see a

correlation between TNF- α and fetal metabolism except a possible supply of alternative sources of energy by stimulation of lipolysis for SGA.

Keywords

TNF- α , gestational diabetes, insulin resistance, lipid metabolism.

1. Einleitung

1.1 Fragestellung

TNF- α wurde ursprünglich als zytotoxisches, für die Nekrose von Tumoren verantwortliches Molekül beschrieben. Später wurde festgestellt, daß TNF- α ein wichtiger Faktor bei Differenzierung und Wachstum ist (29). Häufig wurde der Einfluß des Zytokins auf pathologische Prozesse wie Diabetes mellitus und Insulinresistenz mit Änderungen in Kohlenhydrat- und Fettstoffmetabolismus untersucht (27,35). Der Einfluß von TNF- α auf die Entstehung von Gestationsdiabetes, der sich durch ähnliche pathophysiologische Vorgänge kennzeichnet, ist bisher nur in begrenztem Umfang untersucht worden. Meist wurden Gewebeproben unterschiedlicher Herkunft in geringen Probenzahlen ausgewählt (78,25). Ziel unserer Studie war die Klärung der Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen TNF- α und mütterlichen Stoffwechselfparametern bei Schwangeren mit GDM gibt. Zudem wollten wir wissen, ob die somatische Entwicklung des Feten durch TNF- α beeinflusst wird.

Folgende Fragen sollen mit Hilfe dieser Studie bearbeitet werden:

1. Wie ist der Verlauf von TNF- α während der Schwangerschaft im mütterlichen Plasma von Schwangeren mit GDM?
2. Welchen Zusammenhang gibt es zwischen maternalen metabolischen Parametern und der Konzentration von TNF- α zu verschiedenen Gestationszeitpunkten?
3. Gibt es eine Korrelation zwischen mütterlichem TNF- α am Entbindungstermin und TNF- α im kindlichem Nabelschnurblut ?
4. Gibt es eine Korrelation zwischen fetalem TNF- α und kindlichen metabolischen Parametern ?
5. Welchen Einfluß haben maternales und fetales TNF- α auf das kindliche Wachstum?

1.2 Gestationsdiabetes (GDM)

1.2.1 Definition und Diagnose

GDM bezeichnet eine erstmalig in der Schwangerschaft aufgetretene oder diagnostizierte Glukosetoleranzstörung, die in der Regel nach der Schwangerschaft nicht fortbesteht.

Die Definition des Gestationsdiabetes umfasst demzufolge auch die Erstmanifestation eines in die Zeit der Schwangerschaft fallenden Diabetes mellitus Typ 1 oder 2 und eines bereits präkonzeptionell aufgetretenen, nicht diagnostizierten Diabetes mellitus Typ 2.

Die Angaben über die Prävalenz betragen 3-5% mit Schwankungen zwischen 1-20%, insgesamt ist jedoch eine Zunahme festzustellen (AWMF).

Die differierenden Häufigkeitsangaben lassen sich zum Einen durch die Disposition für Diabetes mellitus in der jeweiligen Population erklären. Verschiedene ethnische Gruppen weisen ein unterschiedlich hohes Risiko auf, an Diabetes mellitus zu erkranken (**61**). Andererseits unterscheiden sich diagnostische Vorgehensweisen und Bewertungskriterien voneinander.

In Ländern ohne Blutzuckerscreening auf GDM wird dieser häufig nicht erkannt und dementsprechend nicht behandelt (**106**).

Risikofaktoren für die Entstehung eines Gestationsdiabetes sind (AWMF):

- Body Mass Index ≥ 27 kg/m²
- GDM in einer vorherigen Schwangerschaft
- Diabetes mellitus bei Eltern / Geschwistern
- Z.n. Geburt eines Kindes ≥ 4500 g
- Z.n. Totgeburt
- Schwere kongenitale Fehlbildung in einer vorherigen Schwangerschaft
- Habituelle Abortneigung (≥ 3 Fehlgeburten nacheinander)

Die Diagnose wird über einen oralen Glucose-Toleranztest gestellt. Dabei wird eine 75 g Glukoselösung im Nüchternzustand verabreicht und die Glukosekonzentrationen aus dem kapillären Vollblut oder venösen Plasma im Nüchternzustand, nach einer Stunde und nach zwei Stunden gemessen. Als Grenzwerte gelten die von Carpenter und Coustan modifizierten Daten nach O`Sullivan (15):

Tab. 1: Glukose-Grenzwertkonzentrationen in mg/dl nach Gabe von 75g Glukoselösung

	kap.Vollblut (mg/dl)	ven.Plasma (mg/dl)
nüchtern	≥ 90	≥ 95
1 Stunde	≥ 180	≥ 180
2 Stunden	≥ 155	≥ 155

Die Diagnose eines Gestationsdiabetes wird bei Erreichen von mindestens zwei der angegebenen Grenzwerte gestellt.

1.2.2 Pathophysiologie

Während der Schwangerschaft erlebt der Stoffwechsel der Frau tiefgreifende Veränderungen.

Das von der Plazenta gebildete β -HCG, welches ein Konzentrationsmaximum im zweiten bis dritten Monat aufweist, zeigt eine insulinanaloge Wirkung. Dies führt zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität und hat einen gesenkten Insulinbedarf bei insulinpflichtigen Diabetikerinnen zur Folge.

Im zweiten Trimenon werden vermehrt insulinantagonistische, nicht plazentagängige Hormone wie Cortisol, HPL und STH produziert. Diese zeigen auch Wirkungen auf den Fettstoffwechsel, z.B. Stimulation der Lipolyse durch HPL mit nachfolgendem Anstieg der freien Fettsäuren. Die erhöhten Fettsäure- und Glycerolmengen vermindern den mütterlichen Glukose- und Aminosäurebedarf, so dass diese Substanzen für den Fet zur Verfügung stehen (44,30).

Durch Größenzunahme der Plazenta werden vermehrt Proteolyseenzyme für

Insulin produziert, als Folge steigt der Insulinbedarf der Schwangeren im zweiten Trimenon um ungefähr 30 %. Eine Reduzierung der Insulinsensitivität gegen Ende der Schwangerschaft bis zu 65 % beschreiben Kirwan et al. (62).

Während gesunde mütterliche β -Zellen auf diese Anforderung mit einer Insulinmehrproduktion reagieren, kann bei Gestationsdiabetes das Inselorgan dem Bedarf nicht nachkommen und es kommt zu einer mütterlichen Hyperglykämie. Die Betazellsensitivität des Pankreas für Glukose zur Insulinfreisetzung ist bei GDM-Patientinnen um ungefähr die Hälfte vermindert (56). Dabei fällt vor allem die Reduktion der ersten Phase der Insulinantwort auf (11,17).

1.2.3 Folgen für Mutter und Kind

Das erhöhte transplazentare Glukoseangebot bedingt eine fetale Hyperglykämie mit β -Zellhypertrophie und – hyperplasie des fetalen Pankreas und daraus resultierendem Hyperinsulinismus.

Daraus ergeben sich folgende mögliche Risiken für das Kind:

Der Hyperinsulinismus führt zu Organunreife, Veränderungen wie Kardiomegalie mit Glykogeneinlagerungen und Makrosomie. Polyhydramnion und Makrosomie erhöhen das Risiko von vorzeitigen Wehen und Frühgeburt. Es besteht außerdem die Gefahr von protrahierten Geburtsverläufen und Schulterdystokie. Die Sectiorate ist erhöht. Bei fetalem Hyperinsulinismus führt die postpartal plötzlich fehlende übermäßige Glukosezufuhr zu neonataler Hypoglykämie. Das Kind ist zudem durch Hyperbilirubinämie und Hypocalcämie gefährdet. Es kann zu Adaptationsstörungen wie dem Atemnotsyndrom, bedingt durch einen Surfactantmangel, kommen. Im Extremfall kann die fetale Hyperinsulinämie zum intrauterinen Fruchttod führen.

GDM ist mit einem erhöhten Risiko für eine schwangerschaftsinduzierte Hypertonie assoziiert. Die maternale Hyperglykämie begünstigt die Entstehung von Harnwegsinfekten und in Folge vorzeitigen Wehen. Die kindliche Makrosomie kann atonische Nachblutungen durch mangelnde Kontraktionsfähigkeit des überdehnten Uterus verursachen.

Es besteht sowohl für Mutter als auch Kind ein erhöhtes Risiko einer späteren Diabetesmanifestation.

1.3 Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)

1975 identifizierten Carswell et al. ein Serumprotein in endotoxinbehandelten Kaninchen, welches für die hämorrhagische Nekrose von Tumoren verantwortlich war und nannten es TNF- α (**16**). Etwa zur gleichen Zeit entdeckten Kawakami et al. ein für die Auszehrung bei vielen chronischen Erkrankungen verantwortliches Molekül und gaben ihm den Namen Cachektin (Kawakami). Beutler et al. gelang schließlich der Nachweis, daß es sich um ein identisches Molekül handelte (**9**).

TNF- α , ein Polypeptid, wird als Molekül von 26 kD gebildet. Die Freisetzung der aktiven Form erfolgt durch Abspaltung einer Peptidsequenz. Es entsteht ein TNF- α -Monomer von 17 kD. In Lösung kommt es zur spontanen Aggregation von drei Monomeren, und das biologisch aktive Homotrimer mit 51 kD entsteht (**82**). Zwei Rezeptoren, die auf fast allen Körperzellen exprimiert werden, binden TNF- α : TNF- α -RI (55 kD) und TNF- α -RII (75 kD). Stimulation von TNF- α -RI führt zu Apoptose, erhöhter antiviraler Aktivität und Fibroblastenproliferation. Stimulation von TNF- α -RII hat T-Zell- und Thymozytenproliferation zur Folge. Zelluläre Quellen von TNF- α sind hauptsächlich aktivierte Monozyten / Makrophagen, aber auch Mastzellen, T-Zellen und Endothelzellen. Potente Stimulatoren für die Sekretion des Zytokin sind Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien.

Als pleiotroper Faktor zeigt TNF- α vielfältige Wirkungen, wie z. B. zytotoxische oder zytostatische Wirkung auf Tumorzellen, Stimulation und Reifung aktivierter B-Zellen (Abbildung 1).

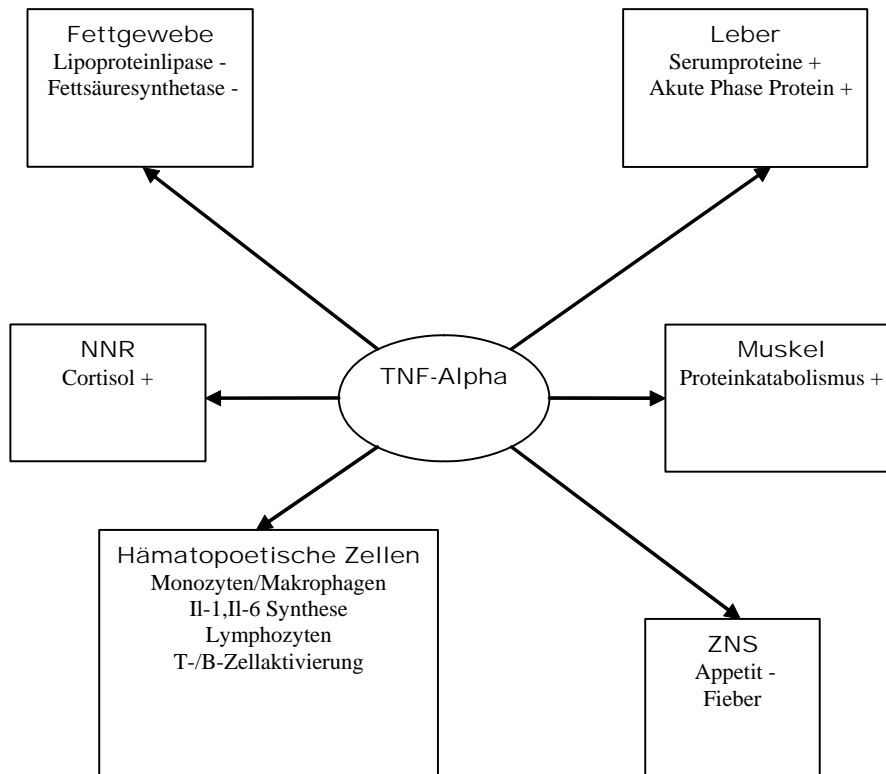


Abb. 1: Pleiotropie von TNF- α

1.3.1 TNF- α und Insulinresistenz

Ursprünglich wurde TNF- α als Protein deklariert, das verantwortlich ist für den nekrotischen Zerfall von Tumoren und daher Tumornekrosefaktor benannt. Ungefähr zur selben Zeit entdeckten Kawakami et al. ein Molekül, das für die Kachexie bei Patienten mit chronischen Erkrankungen verantwortlich schien und nannten es Kachektin. Kurze Zeit wurde entdeckt, dass es sich um ein identisches Molekül zu TNF handelt (57).

Später wurde ein Zusammenhang mit Adipositas entdeckt. Studien mit Menschen (46) und Nagetieren (5) belegten die übermäßige Expression des Zytokins im Fettgewebe von übergewichtigen Probanden (4).

Adipositas ist häufig mit Insulinresistenz assoziiert. Es konnte eine positive Korrelation zwischen der TNF- α mRNA Expression im Fettgewebe und dem Ausmaß der Hyperinsulinämie als indirektem Maß der Insulinresistenz festgestellt werden (46). Als mögliche Erklärung ließ sich im in vitro Versuch mit

Fettgewebekulturen die Beobachtung machen, daß sich die TNF- α -Sekretion aus Fettgewebszellen invers zum maximalen insulinstimulierten Glukosetransport verhält (68). Im Gegensatz zu den Gewebskonzentrationen sind die zirkulierenden Konzentrationen sehr gering und scheinen nicht für die Entwicklung einer Insulinresistenz verantwortlich zu sein (59).

Im Tierversuch wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen TNF- α mRNA und sowohl dem Body Mass Index als auch dem Körperfettanteil beobachtet. Nach Gewichtsreduktion nahmen die Konzentrationen für TNF- α und TNF mRNA signifikant ab. Gleichzeitig zeigte sich zwischen TNF- α und Lipoproteinlipase eine inverse Beziehung (60). Lipoproteinlipase spaltet Lipoproteine durch Hydrolyse des Lipoprotein- und Triglyzeridanteils. Die entstehenden Substanzen können als Energiereservoir gespeichert werden, Lipoproteinlipase ist daher als „Klärfaktor“ bekannt. Die Zunahme der TNF- α -Konzentration mit steigender Körperfettmasse und die Hemmung der Lipoproteinlipase durch TNF- α führte zu der Hypothese, das Zytokin sei ein Helfer zur Limitierung von Fettgewebe. Diese Behauptung wird gestützt durch die Beobachtung, das TNF- α - Gabe in Adipozytenkulturen zu einer erhöhten Apoptoserate der Fettzellen und somit zu einer Modifizierung von Fettgewebsmasse führt (87).

TNF- α verursacht eine Steigerung der Lipolyse, in dem es die Aktivität der hormonempfindlichen Lipase erhöht, welche das Schlüsselenzym der Lipolyse darstellt (4, 93). Im Tierversuch, in dem adipöse Ratten zur Expression eines TNF- α -Inhibitorgens gebracht wurden, reduzierten sich die Konzentrationen für sowohl freie Fettsäuren als auch Plasmainsulin. Die periphere Insulinsensitivität verbesserte sich um 50 % (22). Eine Blockierung des TNF- α kodierenden Gens führte auch bei Mäusen zu verbesserter Insulinsensitivität (45 und 105). Ergänzend dazu konnte nach exogener Gabe des Zytokins eine Insulinresistenz beobachtet werden (73).

Auch beim Menschen wurden erhöhte TNF- α -Konzentrationen in insulinresistenten Zuständen wie z.B. Diabetes mellitus Typ 2, GDM und Adipositas vom Androidtyp beschrieben (27). Eine signifikante Beziehung von TNF- α zu androider Fettverteilung bei Frauen entdeckten Garaulet et al. (36). Im Alter, welches mit einer verschlechterten Insulinaktion und Zunahme der Körperfettmasse verbunden ist, ließ sich ein Anstieg der TNF- α

Plasmakonzentration beobachten (80). Interessanterweise wird TNF- α auch im Muskel exprimiert und zwar in höheren Konzentrationen im Muskelgewebe von insulinresistenten Patienten (89).

Neutralisation von TNF- α bewirkte bei Ratten einen Anstieg der peripheren Glukoseaufnahme durch Insulin (48). Diese Befunde bestätigten sich nicht beim Menschen. Hier führte die Gabe von TNF- α -Antikörpern an adipöse, nicht insulinabhängige Patienten mit Diabetes mellitus zu keiner Änderung der Insulinsensitivität (77). Erklären lässt sich dieser Widerspruch möglicherweise dadurch, dass Hyperglykämie und ein erhöhtes Fettsäureniveau an sich schon eine Insulinresistenz bewirken (10).

Auf zellulärem Niveau wirkt TNF- α durch Herabsetzen des stimulatorischen Effektes von Insulin auf den Glukosetransport. Dies geschieht durch Hemmung der Autophosphorylation von Insulinrezeptoren, die für die Wirksamkeit von Insulin entscheidend ist (2), so dass die biologischen Aktionen des Insulin behindert werden (47). In hohen Dosen bewirkt TNF- α zusätzlich eine Downregulation von Glukosetransporter (GLUT4) mRNA und Protein (40).

Die Möglichkeit einer genetischen Beeinflussung der Höhe der TNF- α -Konzentration zeigte eine Studie, die Personen mit einem Nco I Polymorphismus untersuchte. Dieser erhöht die TNF- α -Transkriptionrate. Probanden mit Nco I Polymorphismus zeigten eine verschlechterte Insulinsensitivität (35).

1.3.2 TNF- α und Schwangerschaft

TNF- α ist in Ovarien (Robey), Endometrium (50), Uterus, Plazenta (21) und Embryonalgewebe (111) nachgewiesen worden. Die Transkription in den spezifischen Zelltypen ist vom Gestationsalter beeinflusst. So fanden Chen et al. in Plazentaprobe im ersten Trimenon vor allem TNF- α mRNA im Syncytiotrophoblast, während Proben am Termin sowohl im Syncytiotrophoblast als auch in den Stromazellen TNF- α mRNA enthielten. Ein Nachweis von TNF- α in der Plazenta am Termin gelang auch Phillips et al. (83), die jedoch im ersten Trimenon kein TNF- α finden konnten.

Eine Longitudinalstudie mit gesunden Schwangeren zeigte in Blutproben einen Anstieg von TNF- α im zweiten Trimenon und nachfolgend einen Abfall (65, 7). Andere Studien dagegen ergaben die höchsten Konzentrationen gegen Ende der

Schwangerschaft (**28,62**). Auch im Fruchtwasser wurde TNF- α nachgewiesen (**52, 66**). Möglicherweise dient die erhöhte TNF- α Konzentration gegen Ende der Schwangerschaft als Signal für den Beginn der Geburt (**101**).

Erhöhte Konzentrationen des Zytokins sind messbar bei pathologischen Zuständen wie Infektionen (**102**) und spontanen Aborten (**28**). Erhöhte Fruchtwasseraktivität im zweiten Trimenon war mit einem intrauterinen Mangelwuchs assoziiert (**42**). Sehr hohe Dosen von TNF- α wirken zytotoxisch und können sogar ein Absterben der Frucht bewirken (**109**).

Aber auch bei normalen Schwangerschaftsverläufen spielt TNF- α eine wichtige Rolle bei Differenzierung und Wachstum (**39**), z.B. beeinflusst TNF- α die fetoplazentare Entwicklung, indem es die Angiogenese der fetoplazentaren Einheit fördert (**41**). Es konnte gezeigt werden, dass das von der Plazenta freigesetzte TNF- α zu 94 % in den mütterlichen und zu 6 % in den fetalen Kreislauf freigesetzt wird (**62**).

Die Entwicklung von kindlichem TNF- α während der Schwangerschaft wurde überprüft, indem fetale Blutproben aus Chordozentesen, Nabelschnurblut aus elektiven Sektionen und Proben aus fetaler Cardiozentese, gewonnen bei induzierten Aborten, gemessen wurden. Es konnte so ein Profil der fetalen TNF- α Konzentrationen entsprechend einem Zeitraum von 12 bis 38 Schwangerschaftswochen erstellt werden. Der beobachtete Anstieg der Zytokinkonzentration im Verlauf der Schwangerschaft wurde auf die gleichzeitige Ausreifung des fetalen Monocyten / Makrophagensystem zurückgeführt (**1**). Auch fetale Nebennierenkulturen produzierten TNF- α nach ACTH-Gabe (**90**). Das fetale TNF- α wird wahrscheinlich nur im Feten und auf fetaler Plazentaseite produziert, denn Versuche an schwangeren Ratten, denen jodmarkiertes TNF- α injiziert wurde, ergaben, dass TNF- α nicht plazentagängig ist: Auf fetaler Seite ließ sich kein markiertes TNF- α nachweisen (**13**).

1.3.2.1. TNF- α und GDM

Neuere Studien untersuchten, ob TNF- α in die Entwicklung von GDM involviert sein könnte. Kirwan et al. verglichen die Konzentrationen von Plazentahormonen, Cortisol und TNF- α während Schwangerschaften mit und ohne Gestationsdiabetes

mit der Änderung der Insulinsensitivität im Verlauf der Schwangerschaft. Dabei stellte sich TNF- α als einziger signifikanter unabhängiger Prädiktor für die Änderung der Insulinsensitivität während der Schwangerschaft dar **(62)**.

Ein Vergleich von Plazenta – bzw. Fettgewebeproben komplikationsloser Schwangerschaften und Schwangerschaften mit GDM, die niedrigen und hohen exogenen Glukosegaben ausgesetzt wurden, zeigte eine signifikant höhere TNF- α -Freisetzung bei Proben von Gestationsdiabetikerinnen unter hohen Glukosedosen als unter Normaldosen. Im Gegensatz dazu fiel kein stimulatorischer Effekt von hohen Glukosegaben auf die TNF- α -Freisetzung bei normaler Schwangerschaft auf **(25)**. Dies unterstützte auch die Beobachtung von Cseh et al. **(27)**, der bei Schwangeren mit GDM signifikant erhöhte TNF- α -Konzentrationen fand. Als Erklärung der Insulinresistenz bei den Frauen mit Diabetes diente der durch TNF- α verschlechterte Glukosetransport **(37)**. Dieser wird vermutlich hervorgerufen durch Veränderungen der Insulinrezeptoren **(2)** und Abnahme der Glukosetransporter **(40)**.

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Kollektiv

Die vorliegende Studie war Teil einer prospektiven Interventionsstudie, die sich mit der Behandlung von Gestationsdiabetikerinnen befasste. Die Patientinnen wurden in den Sprechstunden für schwangere Diabetikerinnen von zwei Berliner Krankenhäusern, dem Vivantes Klinikum Neukölln und der Charite, Campus Virchow-Klinikum, betreut.

Als Einschlusskriterien galten: Pathologischer oGTT nach Coustan und Carpenter (mindestens zwei der angegebenen Grenzwerte werden erreicht oder überschritten: nüchtern ≥ 90 mg/dl, 1 Std. ≥ 180 mg/dl, 2 Std. ≥ 155 mg/dl)(76).

Ausschlusskriterien waren: Zwillingsgraviditäten, vorbestehender DM Typ 1 oder 2, Abort, Hypertonus.

Die Probengewinnung fand zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft statt:

- bei Beginn der Therapie
- mit 28, 32 oder 36 SSW
- vor der Entbindung

2.1.1.1.Mütterliche Proben

Durch Venenpunktion der Arme erfolgte die Blutprobengewinnung, nach Zentrifugation wurde das gewonnene Plasma bei -80° C bis zur Analyse eingefroren.

2.1.1.2. Kindliche Proben

Die fetalen Proben wurden durch Punktion der Nabelschnurarterie nach der Entbindung gewonnen. Anschließend wurden sie zentrifugiert und bis zu ihrer Bestimmung bei -80° Celsius eingefroren.

2.2 Methoden

2.2.1 Bestimmung von TNF- α

2.2.1.1. Prinzip des Enzymimmunoassay

Die Bestimmung von TNF- α erfolgte mittels Enzymimmunoassay. Das Prinzip des Testes beruht auf dem „Sandwich“-Verfahren. Dies beschreibt eine Reaktion, bei der das zu bestimmende Antigen zwischen zwei Antikörper eingebettet wird.

Abb. 2: Prinzip des Enzymimmunoassay nach M. D. Kramer (64)



Abbildung 2.1 :

Eine Testplatte ist mit einem spezifischen Antikörper gegen TNF- α beschichtet.



Abbildung 2.2 :

Standards bzw. Proben mit unbekannter Antigenkonzentration werden in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert. Das Antigen wird in Abhängigkeit von seiner Konzentration an den testplattengebundenen Antikörper gebunden.

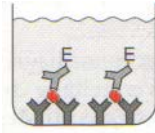


Abbildung 2.3:

Anschließend wird der nichtgebundene Rest der Probe durch Waschen entfernt. Nach Zugabe eines Überschusses enzymmarkierter Antikörper bildet sich in einer anschließenden Inkubation ein Sandwich-Komplex, die nichtgebundenen Antikörper werden ausgewaschen.

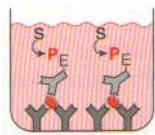


Abbildung 2.4:

Es erfolgt der Zusatz einer farblosen Substratlösung, die durch den gebundenen enzymmarkierten Antikörper in ein farbiges Produkt umgewandelt wird, dabei entspricht die Farbintensität der Menge des Antigens in Proben bzw. Standards.

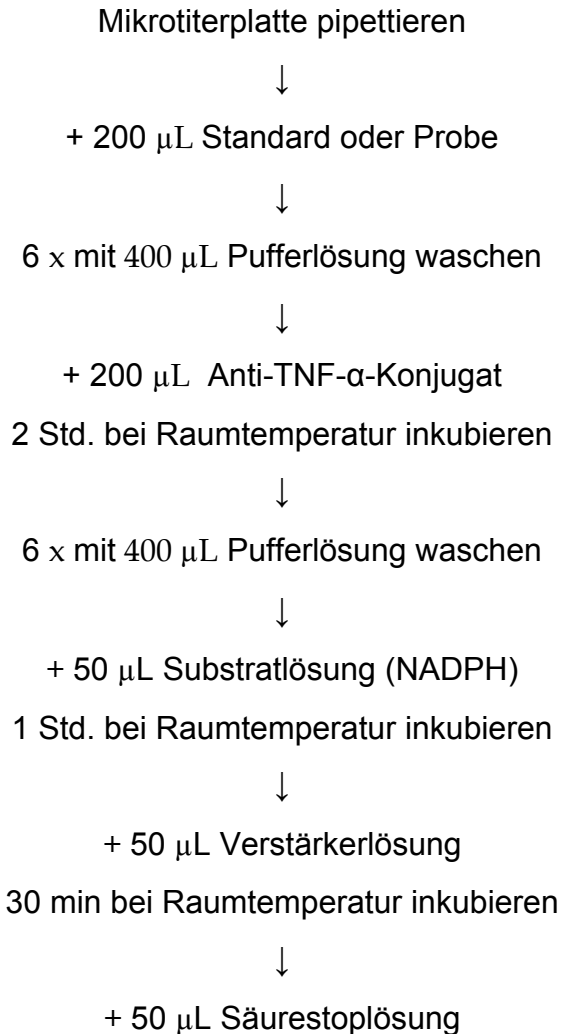
Die Enzymreaktion wird durch Säurelösung gestoppt, und die Menge des farbigen Produktes im Photometer bei 450 nm gemessen.

2.2.1.2. Praktische Durchführung

Die Plasma-TNF- α Bestimmung wurde mit dem Elisa Quantikine[®] HS Human TNF- α der Firma R& D Systems, Minneapolis, durchgeführt. Dabei handelt es sich um einen Hochsensitivtest mit Verstärkungssystem, das über die Bildung von NADH einen Redoxkreislauf aktiviert, mit dessen Hilfe sowohl die Bildung eines farbigen Endproduktes (Tetrazoliumsalz), als auch durch Reduzierung des entstandenen NAD⁺ ein erneuter Eintritt von NADH in den Kreislauf ermöglicht wird. Die Menge des farbigen Produktes ist direkt proportional zum an den Festphasenantikörper gebundenen TNF- α .

Durchführung:

50 μL Verdünnungsmittel in die mit TNF- α -Antikörper beschichtete



Die Extinktion wird innerhalb von 30 Minuten bei 490 nm abgelesen.

Aufgrund der Verdünnung muß die von der Standardkurve abgelesene Konzentration mit einem Verdünnungsfaktor multipliziert werden. Die Sensitivität des Testes liegt bei einer Minimaldosis von 0,12 pg/ml. Die Qualitätskontrollparameter sind wie folgt angegeben: Der Intraassay Variationskoeffizient liegt bei 6,6 %, der Interassay Variationskoeffizient beträgt 10,8 – 16,7 %.

2.2.2 Bestimmung von Cortisol, Erythropoetin, Insulin und Leptin

2.2.2.1. Prinzip des Radioimmunoassay

Cortisol, Erythropoetin und Insulin wurde mittels Radioimmunoassay bestimmt.

Das Prinzip des Radioimmunoassay beruht auf Konkurrenz, das bedeutet, radioaktiv markiertes und gesuchtes Antigen konkurrieren um die Bindung an im Unterschluß vorliegenden Antikörpern.

Abb. 3: Prinzip des Radioimmunoassay nach M.D. Kramer (64)



Abbildung 3.1

Eine Testplatte ist mit spezifischen Antikörpern beschichtet.

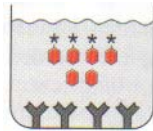


Abbildung 3.2

Es erfolgt der Zusatz von Proben mit unbekannter Antigenkonzentration und Standards bekannter Konzentration radioaktiv markierten Antigens, des sogenannten Tracers.

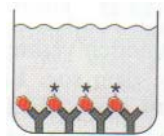


Abbildung 3.3

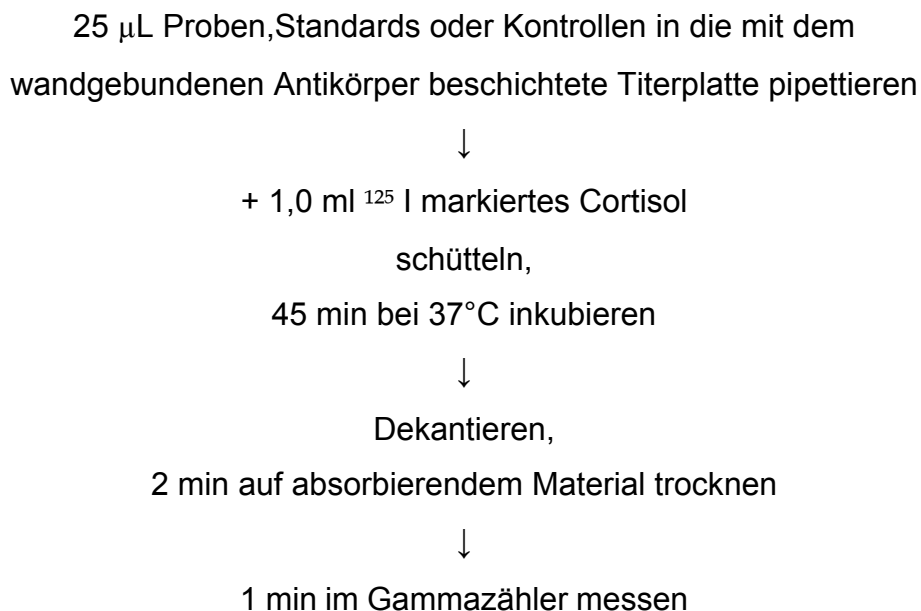
In Abhängigkeit von ihrer Konzentration reagieren die Antigene kompetitiv: je größer die unmarkierte Antigenmenge ist, desto weniger radioaktiver Tracer kann gebunden werden. Nach Inkubation wird der überschüssige Antigen-Rest ausgewaschen.

Anschließend wird die in den Reaktionsgefäßen befindliche Radioaktivität gemessen. Dabei ist die Antigenkonzentration der Proben umgekehrt proportional zur gemessenen Radioaktivität. Die Erstellung von Eichkurven anhand geeigneter Standardreihen ermöglicht die Feststellung der Antigenmenge in der unbekannt Probe.

2.2.2.2. Praktische Durchführung der Messung von Cortisol

Die Nabelschnurcortisolbestimmung wurde mit dem Coat-A-Count® Cortisol der Firma DPC® Diagnostic, USA, durchgeführt.

Durchführung:



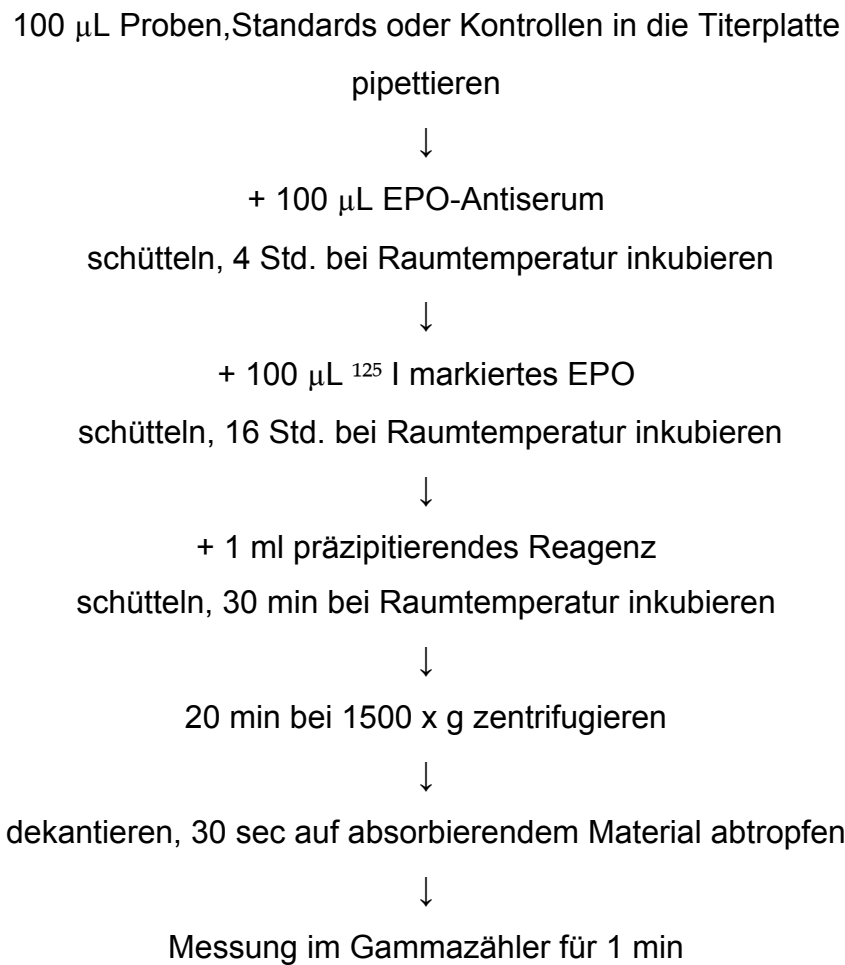
Kontrollen sind Proben mit sehr hohen bzw. niedrigen Cortisolmengen und sollen als Qualitätskontrolle mitbestimmt werden.

Die minimal messbare Dosis des Testes liegt bei 0,2 µg /dl. Der Intraassay Variationskoeffizient ist angegeben mit 4,3 %, der Interassay Variationskoeffizient beträgt 5,2 %. Hämolyse mit Erythrozytenkonzentrationen bis 30 µL /ml hat keinen Einfluß auf das Resultat.

2.2.2.3. Praktische Durchführung der Messung von Erythropoetin

Die Nabelschnurerythropoetinbestimmung wurde mit dem Erythropoietin RIA -1642 der Firma DRG Diagnostics, Deutschland, durchgeführt.

Durchführung:



Kontrollen mit niedrigen und hohen Erythropoetinkonzentrationen wurden als Qualitätsprüfungen mitgeführt.

Die Sensitivität des Testes ist mit einer Minimaldosis von 1,7 mU/ml angegeben, der Intraassay Variationskoeffizient beträgt unter 5 %, der Interassay Variationskoeffizient liegt bei 8,3 %.

2.2.3 Cholesterin, Triglyzeride, LDL und Glukose: Prinzip des optisch enzymatischen Farbtest

Beim optisch enzymatischen Farbtest wird NADPH+H über eine Reaktionskaskade gebildet. Anschließend wird es photometrisch bei einer Wellenlänge von $\lambda = 340 \text{ nm}$ Absorptionsmaximum gemessen.

Beispiel Glukose:

Die Glukosekonzentration im Plasma oder Serum der Mutter bzw. im Nabelschnurblut wurde mit dem Test Gluco-quant Glucose/HK der Firma Roche, Deutschland, bestimmt. Zur Probenvorbereitung müssen die Blutproben mit Perchlorsäure enteiweißt werden. Nach Zentrifugation wurde 0,1 ml Überstand in ein Reagenzglas pipettiert und 2,0 ml Reagenzlösung zugefügt. Die Messung erfolgte gegen einen Reagenzleerwert. Dazu wurden 2,0 ml Reagenzlösung und 0,1 ml Enteiweißungslösung in ein Reagenzglas pipettiert. Die ermittelte Extinktion des Reagenzleerwertes wurde von der Extinktion der Probe abgezogen: $E(\text{Probe}) - E(\text{Reagenzleerwert}) = \Delta E$

Reaktionsprinzip:

Glukose + ATP (+Hexokinase) \rightarrow Glukose-6-Phosphat + ADP

Glukose-6-Phosphat + NADP (+GI-6-P-DH) \rightarrow Glukonat-6-P+NADPH+H

Die Menge des entstandenen NADPH+H ist direkt proportional zu der Glukosekonzentration.

Die LDL-Cholesterin Konzentration wurde mit Hilfe der Friedewald-Formel aus dem Nüchtern-Serum ermittelt:

$\text{LDL}(\text{mg/dl}) = \text{Gesamtcholesterin} - \text{HDL-Cholesterin} - 1/5 \text{ der Serum-Triglyzeride}$

2.2.4 Kindliches Wachstum

2.2.4.1. Messung des fetalen Wachstums während der SS

Bei Diagnosestellung des Gestationsdiabetes und Therapiebeginn wurde eine Sonografie mit Bestimmung der fetalen Kopfmaße, der Femurlänge und des fetalen Abdominalumfanges durchgeführt. Da der Abdominalumfang ein guter Indikator für diabetesassoziierte Makrosomie darstellt, wurde er sowohl als Absolutwert als auch Perzentile festgehalten. Zur sonografischen Messung des Abdominalumfanges wird die Querschnittsebene aufgesucht, in der Aorta, Wirbelsäule und Magen zu sehen sind und die Umbilikalvene die Vena portae kreuzt (**104**).

2.2.4.2. Neonatale anthropometrische Daten

Zur Erfassung der neonatalen anthropometrischen Daten bei der Entbindung wurde postpartal das Geburtsgewicht in Gramm gemessen. Es erfolgte eine Unterteilung nach Voigt in Kinder mit einem Geburtsgewicht unter der 10. Perzentile als small for gestational age (SGA), adaequat for gestational age (AGA) (10. bis 90. Perzentile) und large for gestational age (LGA), definiert als über der 90. Perzentile gemessenes Gewicht. Außerdem wurde die Geburtslänge von Scheitel bis Fußsohle in cm bestimmt.

2.2.5 Statistik

Die Erfassung der Daten erfolgte mit Hilfe des Programmes SPSS for windows, Version 11.0. Alle kontinuierlichen Daten sind als Mean und Standardabweichung dargestellt. Die Überprüfung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen einzelnen Mittelwerten abhängiger Stichproben von geringer Probenzahl erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Testes. Mit dem Einstichproben T-Test wurde geprüft, ob das Mittel einer Stichprobe

signifikant von einem Wert „x“ abweicht.

Der Zusammenhang zwischen den einzelnen Faktoren wurde durch eine Korrelationsanalyse untersucht und anhand des Pearson'schen Korrelationskoeffizient bewertet. Der Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient wurde bei teilweiser geringer Probenzahl angewendet. Als Signifikanzniveau wurde ein p – Wert $< 0,05$ angenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Maternale Charakteristika

3.1.1 Demographische und Diagnose GDM betreffende Parameter

Dreiundsechzig Schwangere mit Gestationsdiabetes wurden untersucht. Dabei konnten bei vierzig Frauen sowohl Proben aus dem zweiten Schwangerschaftstrimenon als auch zum Entbindungszeitpunkt bestimmt werden. Bei dreiundzwanzig Frauen war eine Probengewinnung nur zu einem Zeitpunkt möglich, da sie entweder die Geburt außerhalb der beiden Kliniken erlebten, in denen sie zuvor betreut wurden oder erst gegen Ende der Schwangerschaft an der Studie teilnahmen. Die meisten Proben wurden gegen Ende der Schwangerschaft gewonnen, da zu diesem Zeitpunkt am häufigsten die Diagnose GDM gesichert worden war und die Therapie begonnen hatte.

Das durchschnittliche Alter der untersuchten Frauen betrug 32 Jahre, der Altersbereich lag zwischen 18 und 43 Jahren. Die Mehrzahl der Probandinnen war europäischer Herkunft, 4 Frauen waren asiatischer Herkunft und sechs Frauen weder europäischen noch asiatischen Ursprunges. Ungefähr ein Drittel der Probandinnen überschritten das 35. Lebensjahr. Als mittleres Körpergewicht, beurteilt durch den Body Mass Index vor der Schwangerschaft, fand sich ein Wert von 28,8 kg/m², zwei Drittel der Schwangeren zeigten einen BMI über 25 kg/m². Das Gestationsalter bei Diagnosestellung lag bei durchschnittlich 25,7 Schwangerschaftswochen (Tabelle 2).

Tab. 2: Mütterliche Charakteristika bei Studieneintritt,
SSW=Schwangerschaftswoche, BMI= Body Mass Index, SD=
Standardabweichung)

	Mittelwert±SD	Minimum	Maximum
BMI vor der SS (kg/m ²)	28,8 ± 6,3	17,1	47,8
Alter (Jahre)	32 ± 5,2	18	43
Parität	2,2 ± 1	1	7
SSW bei Diagnose(Wochen)	25,7 ± 4,3	12	33
oGTT nüchtern (mg/dl)	96,5 ± 12,3	68	137
1 Stunde	204,1 ± 29,5	152	301
2 Stunde	152,9 ± 31,1	64	250
Insulingebrauch (%)	37,5		

3.1.2 Maternale Stoffwechselfparameter bei Studieneintritt

Mütterliche Daten zu Insulinsensitivität und Lipidmetabolismus wurden sowohl bei Studieneintritt als auch zum Entbindungszeitpunkt bestimmt. Die Probengewinnung bei Studieneintritt erfolgte zwischen 20 und 32 Schwangerschaftswochen. Dabei wurden in Tagesprofilen sowohl im nüchternen Zustand als auch zwei Stunden nach Nahrungsaufnahme die Glukosekonzentrationen durch Blutzuckerselbstkontrolle bestimmt. Die Insulinresistenz wurde nach dem Rechenmodell Homa ($(\text{Glc} \times \text{Ins}) / 22,5$) ermittelt. Kirwan et al. gelangen der Nachweis der Übereinstimmung zwischen Homa und der direkten Messung der Insulinresistenz mittels euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamps (**63**). Der Mittelwert für Homa lag bei $39,5 \pm 24$. Der Maximalwert 110,13 läßt sich durch eine relativ hohe benötigte Insulindosis von $29,5 \mu\text{U/ml}$ zur Erreichung einer normoglykämischen Konzentration von 84 mg/dl bei einer Schwangeren erklären.

Die Insulinsensitivität ließ sich anhand des Rechenmodells Quicki ($1 / (\lg \text{Ins} +$

Ig Glc)) abschätzen. Quicki gilt als Index der Insulinsensitivität. Katsuki et al. bewiesen die signifikant positive Korrelation zwischen Quicki und der euglykämisch-hyperglykämischen Clamp-Technik (55). Der Mittelwert für Quicki lag bei $0,35 \pm 0,04$.

Die durchschnittliche Insulinkonzentration lag bei $10,88 \pm 6,06 \mu\text{U/ml}$. Da teilweise sehr hohe Insulinwerte auffielen, wurden nur die Proben als nüchtern akzeptiert, deren Insulinwerte unter $40 \mu\text{U/ml}$ lagen. Die Glukosekonzentrationen betragen im Mittel $80,4 \pm 10,7 \text{ mg/dl}$. Die Leptinkonzentrationen zeigten im Durchschnitt einen Wert von $25 \pm 15,6 \text{ mg/dl}$. Für Cholesterin ergab sich ein Mittelwert von $249,7 \pm 57 \text{ mg/dl}$ (Tabelle 3).

Tab. 3: Mütterliche Plasmawerte zu Insulinsensitivität und Lipidmetabolismus bei Studieneintritt

(n=42)	Mittelwert \pm SD	Minimum	Max
Homa (n=32)	39,5 \pm 24	5,5	110,13
Quicki (n=32)	0,35 \pm 0,04	0,29	0,48
Ins/Glucose (n=32)	0,14	0,03	0,35
Insulin ($\mu\text{U/ml}$) (n=32)	10,88 \pm 6,06	1,8	29,5
Glukose (mg/dl) (n=32)	80,4 \pm 10,7	50	107
Leptin (mg/dl) (n=42)	25 \pm 15,6	8,5	56,9
Cholesterin(mg/dl)(n=42)	249,7 \pm 57	84	433
Triglyceride(mg/dl)(n=42)	224,5 \pm 77	88	415
LDL (mg/dl) (n=42)	130 \pm 48,7	53	258

3.1.3 Maternale Stoffwechselfparameter bei Entbindung

Die Parameter zum Entbindungszeitpunkt lagen jeweils etwas höher (Tabelle 4).

Tab. 4: Mütterliche Plasmawerte zu Kohlenhydrat- und Lipidmetabolismus bei Entbindung

(n=61)	Mittelwert±SD	Minimum	Maximum
Homa	55,6 ±35,8	10	199
Quicki	0,33 ±0,03	0,27	0,42
Insulin (μU/ml)	14,9 ±7,9	3,6	35
Glucose (mg/dl)	81,4 ±16	29,6	155
Leptin (mg/dl)	45 ±28,7	6,18	98,9
Cholesterin(mg/dl)	270,5±76,9	174	559
Triglyceride(mg/dl)	245,6±87,5	110	472
LDL (mg/dl)	137,2±59,7	11,8	314

3.1.4 TNF-α im Verlauf der Schwangerschaft

Der Mittelwert des maternalen TNF-α bei Studieneintritt betrug $1,4 \pm 0,8$ pg/ml, das Minimum lag bei 0,59, das Maximum bei 4,27 pg/ml. Bei der Entbindung ergab sich ein Mittelwert von $1,6 \text{ pg/ml} \pm 1,1$ mit einem Minimum bei 0,68 und Maximum bei 7,46 pg/ml. Eine Unterteilung in Subgruppen ergab folgende Mittelwerte und Standardabweichungen für TNF-α-Konzentrationen: 24 SSW = $1,41 \pm 0,75$ pg/ml, 28 SSW = $1,23 \pm 0,61$ pg/ml, 36 SSW = $1,18 \pm 0,23$ pg/ml, 38 SSW = $1,64 \pm 1,20$ pg/ml.

Der Wilcoxon – Test für abhängige Stichproben ergab für TNF-α keine signifikanten Unterschiede zwischen Studieneintritt und Entbindungszeitpunkt ($P = 0,6$). Ein Vergleich 28 SSW versus 38 SSW zeigte ebenfalls einen P-Wert von 0,6.

3.2 Neonatale Charakteristika

Es wurde Nabelschnurblut von zweiundneunzig Neugeborenen gewonnen. Das durchschnittliche Entbindungsalter betrug 39,2 Schwangerschaftswochen. Der Mittelwert des Geburtsgewichtes lag bei $3338,6 \pm 543$ Gramm. 16,3 % (15) der Kinder zeigten ein Gewicht über der 90. Perzentile. Ein Gewicht unter der 10. Perzentile ließ sich bei 14,1% (13) der Kinder ermitteln. Ungefähr ein Fünftel (17,8 %) der Entbindungen erfolgte per Sectio. Als Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels wurden Glukose- (Mittelwert= $84 \pm 21,7$ mg/dl) und Insulinkonzentrationen (Mittelwert= $9,32 \pm 6,8$ μ U/ml) im Nabelschnurblut bestimmt. Als Parameter des Lipidmetabolismus wurden im Nabelschnurblut gemessen: Triglyzeride= $42,5 \pm 25,8$ mg/dl, Cholesterin= 62 ± 17 mg/dl und Leptin= $14,9 \pm 15,3$ mg/dl. Die Nabelschnur – TNF- α – Konzentrationen betragen im Mittel $1,9$ pg/ml $\pm 0,6$ Standardabweichung, das Maximum lag bei 3,99, das Minimum bei 0,88 pg/ml (Tabelle 5).

Tab. 5: Bestimmungen im Nabelschnurblut zu Lipid-, Kohlenhydratmetabolismus und TNF- α (n=92)

	Mittelwert \pm SD	Minimum	Maximum
Glukose (mg/dl)	$84 \pm 21,7$	43	159
Insulin (μ U/m)	$9,32 \pm 6,8$	1,85	40,14
Triglyceride (mg/dl)	$42,5 \pm 25,8$	4	116
Cholesterin (mg/dl)	62 ± 17	29	140
Leptin (mg/dl)	$14,9 \pm 15,3$	2,1	62
TNF- α (pg/ml)	$1,9 \pm 0,6$	0,88	3,99

3.3 Korrelationen zwischen TNF- α und verschiedenen maternalen und fetalen Parametern

3.3.1 Maternales TNF- α und mütterlicher Metabolismus

Zu Beginn der Schwangerschaft konnte ein grenzwertiger Zusammenhang von TNF- α mit dem maternalen BMI beobachtet werden ($r = 0,3$, $P = 0,06$, Abbildung 5).

Bei Studieneintritt zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen TNF- α und postprandialen Triglyceriden sowie LDL (Tabelle 7, Abbildung 4 und 6). Dagegen zeigten die Glukosekonzentrationen des oGTT keine Korrelation zu den TNF- α Konzentrationen (Tabelle 6), diese scheinbare Diskrepanz lässt sich durch den oft in früherer Schwangerschaftswoche durchgeführten oGTT erklären. Die Nüchternglukosekonzentrationen bei Studieneintritt ließen dagegen eine Tendenz zur negativen Korrelation zu den TNF- α -Konzentrationen erkennen ($r = -0,4$, $P = 0,07$). Insulin zeigte keine Korrelationen mit TNF- α (Tabelle 7).

Die Parameter der Insulinsensitivität Quicki und der Insulinresistenz Homa korrelierten weder bei Studieneintritt noch bei Entbindung mit TNF- α (Tabelle 7).

Tab. 6: Korrelation von TNF- α bei Studieneintritt und Glukosekonzentrationen des oGTT

Parameter	Pearson Koeffizient	P-Wert
Nüchtern-Wert	-0,004	0,981
1-Stunden-Wert	0,185	0,241
2-Stunden-Wert	-0,179	0,263
3-Stunden-Wert	0,624	0,571

Tab. 7: Korrelation von TNF- α und Parametern des mütterlichen Metabolismus bei Studieneintritt und Entbindung, r=Pearson Koeffizient, pp=postprandial, nü=nüchtern

Parameter	Koeff. und P-Wert bei Eintritt (n=X)	Koeff. und P-Wert bei Entbdg. (n=X)
Leptin		r=-0,29 P=0,41(n=29)
Cholesterin nü (mg/dl)	r=0,08 P=0,7 (n=42)	r=-0,23 P=0,2 (n=35)
Cholesterin pp	r=0,5 P=0,2	r=0,25 P=0,69
Triglyceride nü (mg/dl)	r=0,31 P=0,88	r=0,2 P=0,26
Triglyceride pp	r=0,8 P=0,003	r=0,03 P=0,97
Triglyceride nü + pp	r=0,3 P=0,08	r=0,4 P=0,51
LDL nü (mg/dl)	r=-0,13 P=0,6	r=-0,12 P=0,5
LDL pp	r=0,76 P=0,007	r=0,4 P=0,5
Glucose nü (mg/dl)	r=-0,4 P=0,07 (n=32)	r=0,1 P=0,45 (n=61)
Insulin nü (μ U/ml)	r=0,13 P=0,54 (n=32)	r=0,07 P=0,65 (n=61)
Ins/Glc nü	r=0,29 P=0,16	r=0,06 P=0,68
Homa	r=0,01 P=0,9	r=0,13 P=0,36
Quicki	r =-0,08 P=0,6	r = -0,16 P=0,29

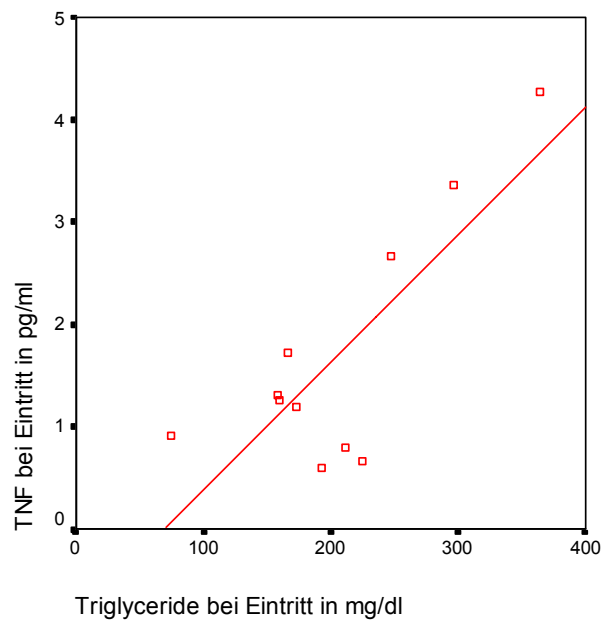


Abb. 4: Korrelation von mütterlichem TNF- α und postprandialen Triglyceriden im Serum bei Studieneintritt ($r = 0,8$, $P = 0,003$)

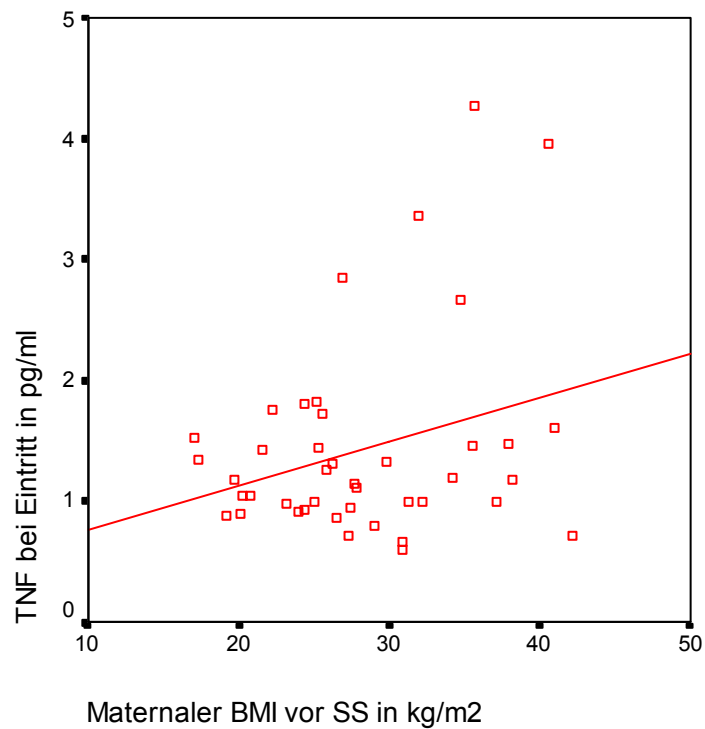


Abb. 5: Korrelation von mütterlichem TNF- α bei Studieneintritt und prägravidem BMI ($r = 0,3$, $P = 0,06$)

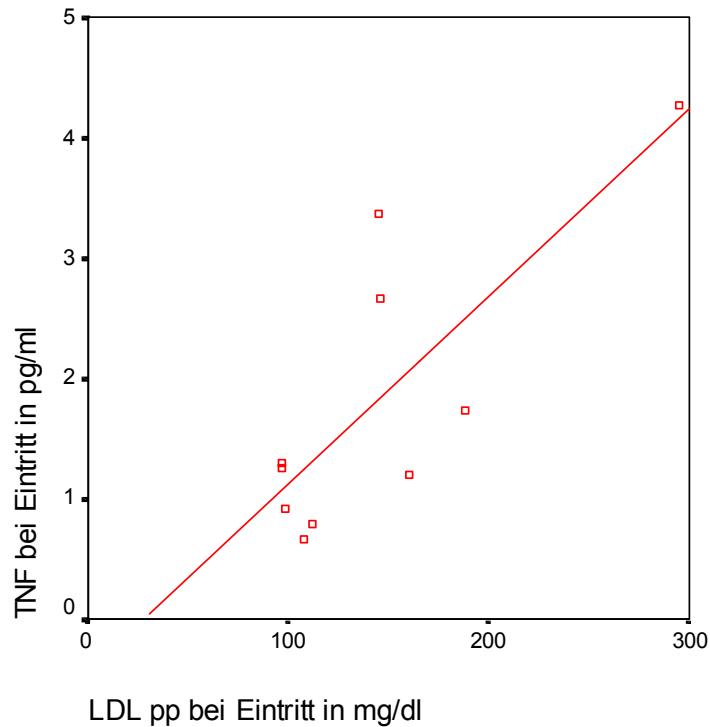


Abb. 6: Korrelation von mütterlichem TNF- α bei Studieneintritt und LDL postprandial bei Studieneintritt ($r = 0,76$, $P = 0,007$)

3.3.2 Maternales TNF- α und kindliches Wachstum

Es wurden mütterliche TNF- α -Konzentrationen im Plasma bei Studieneintritt und Entbindung mit dem kindlichen Wachstum, bestimmt durch Messung des fetalen Abdominalumfangs während der Schwangerschaft und Geburtsgewichtperzentilen bei der Entbindung, korreliert. Es fand sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Zusammenhang (Tabellen 8+9). Gegen Ende der Schwangerschaft ließ sich jedoch eine positive Tendenz zwischen maternalem TNF- α zu gesteigerten fetalem Wachstum erkennen.

Tab. 8: Vergleich von kindlichem Wachstum und maternalem TNF- α bei Studieneintritt, angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung (P = 0,7)

Abdominalumfang	TNF- α bei Eintritt (pg/ml)
<75. Perzentile(n=26)	1,45 \pm 0,8
\geq 75. Perzentile (n=16)	1,38 \pm 0,7

Tab. 9: Vergleich von Geburtsgewicht und maternalem TNF- α bei Entbindung, angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung (P = 0,7)

Geb.gewichts-Perzentile	TNF- α bei Entbdg (pg/ml)
<10. (n=5)	1,15 \pm 0,3
\geq 10.<90. (n=49)	1,53 \pm 1,2
\geq 90. (n=6)	1,93 \pm 0,9

3.3.3 Fetales TNF- α im Nabelschnurblut und kindliches Wachstum

Das Geburtsgewicht des Kindes wurde mit der TNF- α -Konzentration im Nabelschnurblut verglichen. Es konnten keine signifikanten Korrelationen (P = 0,43) ermittelt werden, aber eine leichte Tendenz zwischen erhöhten TNF- α -Spiegeln und gesteigertem Wachstum ließ sich auch hier ausmachen (Tabelle 10).

Tab. 10: Vergleich von kindlichem Wachstum bei Entbindung mit TNF- α im Nabelschnurblut, angegeben als Mittelwert \pm Standardabweichung

Geb.gewichts-Perzentile	Nabelschnur-TNF- α (pg/ml)
<10. (n=16)	1,7 \pm 0,3
\geq 10.<90. (n=60)	1,8 \pm 0,5
\geq 90. (n=15)	2,0 \pm 0,6

3.3.4 TNF- α und kindlicher Metabolismus

Die Korrelation von TNF- α im Nabelschnurblut und Parametern des fetalen Glukose – und Fettstoffmetabolismus ergab keinen signifikanten Zusammenhang (Tabelle 11). Auch die Parameter der Insulinsensitivität und Insulinresistenz zeigten sich unabhängig von den TNF-Alpha–Werten (Homa: $r=-0,006$, $P=0,9$, Quicki: $r=0,03$, $P=0,7$).

Bei einer nach Geburtsgewichtperzentilen in AGA-, SGA- und LGA-Kindern aufgetrennten Subanalyse ließ sich bei SGA-Neugeborenen eine positive Korrelation zwischen TNF- α im Nabelschnurblut und Triglyzeriden im Nabelschnurblut darstellen. Die Glukose im Nabelschnurblut von SGA-Kindern zeigte eine negativ signifikante Korrelation zu TNF- α im Nabelschnurblut (Tabelle 12). Das TNF- α im Nabelschnurblut bei LGA-Neugeborenen verhielt sich invers zum Geburtsgewicht (Tabelle 12). Die übrigen Parameter des fetalen Metabolismus wiesen keine Korrelation zu TNF- α im Nabelschnurblut auf.

Tab. 11: Korrelation von Nabelschnur-TNF- α und Parametern des fetalen Metabolismus, bestimmt im Nabelschnurserum, Darstellung als Pearson Koeffizient r und P-Wert

Parameter	Pearson Koeffizient	P-Wert
Cholesterin (mg/dl) (n=61)	- 0,1	0,47
Triglyzeride (mg/dl) (n=61)	- 0,13	0,31
LDL (mg/dl) (n=61)	- 0,16	0,21
Insulin (μ U/ml) (n=92)	- 0,02	0,9
Glukose (mg/dl) (n=92)	0,001	0,99
Leptin (mg/dl)	0,03	0,86

Tab. 12: Korrelation von Nabelschnur-TNF- α und Parametern des kindlichen Metabolismus, bestimmt im Nabelschnurserum, aufgetrennt in SGA und LGA, Angabe des Spearman Koeffizient und des P-Wertes

Parameter	LGA	LGA	SGA	SGA
	Koeffizient (n=15)	P-Wert	Koeffizient (n=13)	P-Wert
Geburtsgewicht	-0.63	0.01	-0,19	0,52
Cholesterin (mg/dl)	0,61	0,15	0,04	0,94
Triglyzeride (mg/dl)	-0,64	0,14	0,75	0,052
LDL (mg/dl)	0,67	0,10	-0,19	0,69
Insulin (μ U/ml)	0,27	0,37	-0,51	0,09
Glukose (mg/dl)	0,27	0,39	-0,6	0,039
Leptin (mg/dl)	0,5	0,21	-0,25	0,44

3.3.5 Mütterliches TNF- α und Nabelschnur-TNF- α

Die Korrelation ergab keinen Zusammenhang von kindlichem und maternalem TNF- α , der Pearsonsche Koeffizient r lag bei 0,06, der P – Wert bei 0,7 (Abbildung 7).

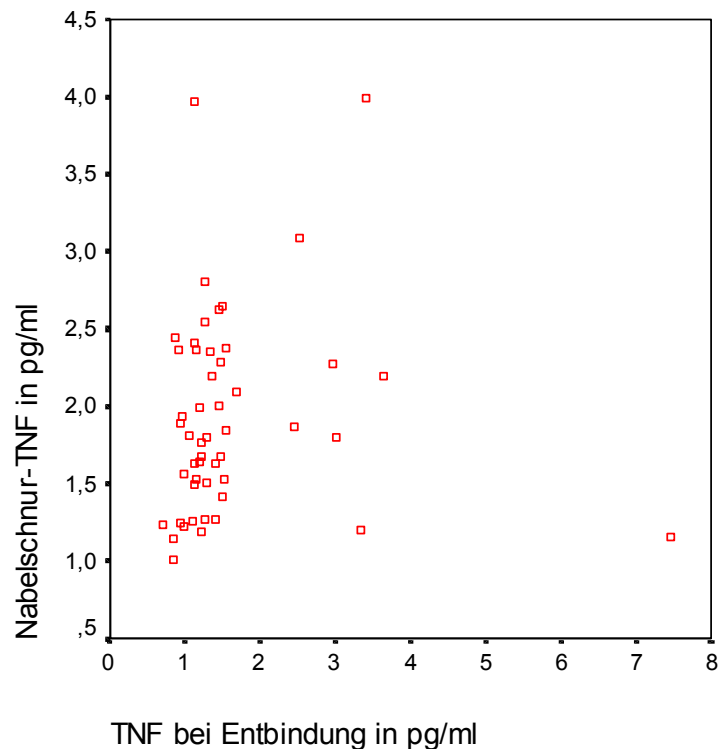


Abb.7: Korrelation von TNF- α im Nabelschnurserum und im mütterlichen Plasma am Ende der Schwangerschaft ($r = 0,06$, $P = 0,7$)

3.4 Cortisol

Bei der Korrelation von TNF- α und Triglyzeriden im Nabelschnurblut von SGA-Neugeborenen ergab sich ein positiver Zusammenhang (Tabelle 12). Zur Überprüfung der Hypothese, ob intrauteriner Stress und Hypoxie zu erhöhten TNF- α -Konzentrationen führen, die wiederum über ansteigende Lipolyserate erhöhte Triglyzeride bedingen, wurden als Parameter für Streß das Hormon Cortisol und als Parameter für Hypoxie das Hormon

Erythropoetin im Nabelschnurblut bestimmt. Die jeweiligen Hormonkonzentrationen wurden mit den Parametern des kindlichen Metabolismus korreliert. Diese Subanalyse muß als Pilotstudie gesehen werden, da die niedrige Prävalenz von SGA und LGA eine geringe Fallzahl bewirkten.

Es ergab sich für Cortisol bei SGA-Kindern ein Mittelwert von 676,04 nmol/l \pm 411 Standardabweichung, das Minimum lag bei 186,4, das Maximum bei > 1379 nmol/l. Für LGA-Kinder stellte sich der Mittelwert bei 727 nmol/l dar \pm 356 Standardabweichung mit einem Minimum von 171 und Maximum von >1379 nmol/l. Ein Mittelwert von 160 nmol/l \pm 182 zeigte sich bei AGA-Kindern mit einem Minimum von 193 und Maximum von 831 nmol/l (Tabelle 13 und Abbildung 8).

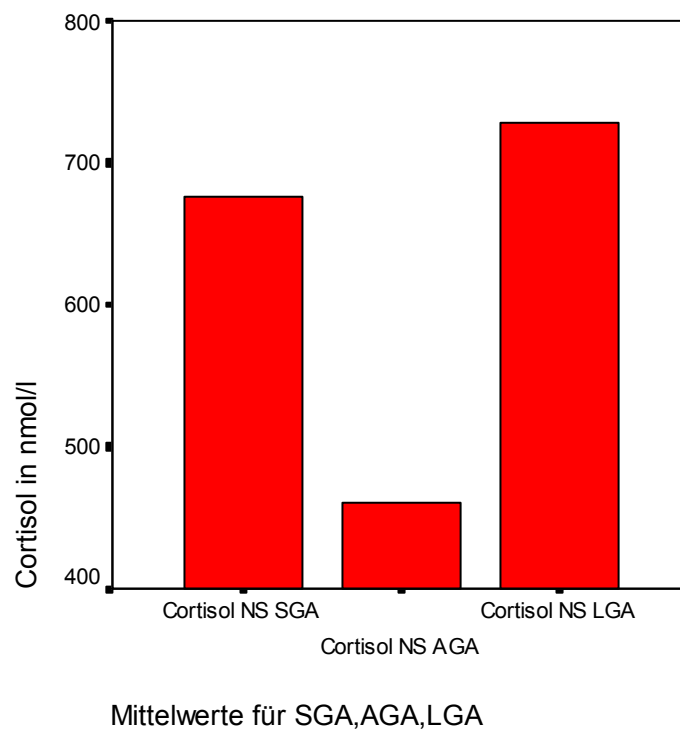


Abb. 8: Vergleich der Mittelwerte von Cortisolkonzentrationen im Nabelschnurblut bei SGA, AGA und LGA – Kindern

Tab. 13: Cortisolkonzentrationen im Nabelschnurblut von SGA, AGA, LGA,

	Mittelwert±SD
NS-Cortisol SGA (nmol/l) (n=13)	676,04 ± 411
NS-Cortisol AGA (nmol/l) (n=15)	160 ± 182
NS-Cortisol-LGA (nmol/l) (n=12)	727 ± 356

Mittelwerte ± Standardabweichung

Der T-Test für abhängige Stichproben ergab eine signifikante Abweichung sowohl des Mittelwertes für Cortisol bei SGA- als auch bei LGA-Neugeborenen vom Mittelwert bei AGA-Kindern (SGA versus AGA: P= 0,001, LGA versus AGA: P= 0,000). Dies läßt vermuten, daß sehr kleine bzw. makrosome Kinder intrauterin vermehrtem Streß ausgesetzt waren.

Bei Analyse der Daten der SGA Neugeborenen fiel eine negative Korrelation zwischen Cortisol und Triglyzeriden im Nabelschnurblut auf. Eine signifikante negative Korrelation zeigte sich ebenfalls zwischen den Nabelschnurblutkonzentrationen von TNF- α und Cortisol (Tabelle 14, Abbildung 10). Als Ergebnis der Berechnungen von LGA – Neugeborenen ließ sich ein positiver Zusammenhang von Cortisol zu Nabelschnurbluttriglyzeriden darstellen (Tabelle 15). Es gab für die Nabelschnurblutfette eine geringere Probenanzahl als für Nabelschnurblutcortisol, da die Fette nur im Plasma bestimmt wurden, während Cortisol auch im Serum bestimmt wurde.

Tab. 14: Korrelation von Nabelschnurblut – Cortisol und TNF- α bei SGA-Kindern, Angabe des Spearman Koeffizient und P-Wertes, NS=Nabelschnur

Parameter (n=13)	Koeffizient r	P-Wert
TNF- α (pg/ml)	-0,58 (n=13)	0,037

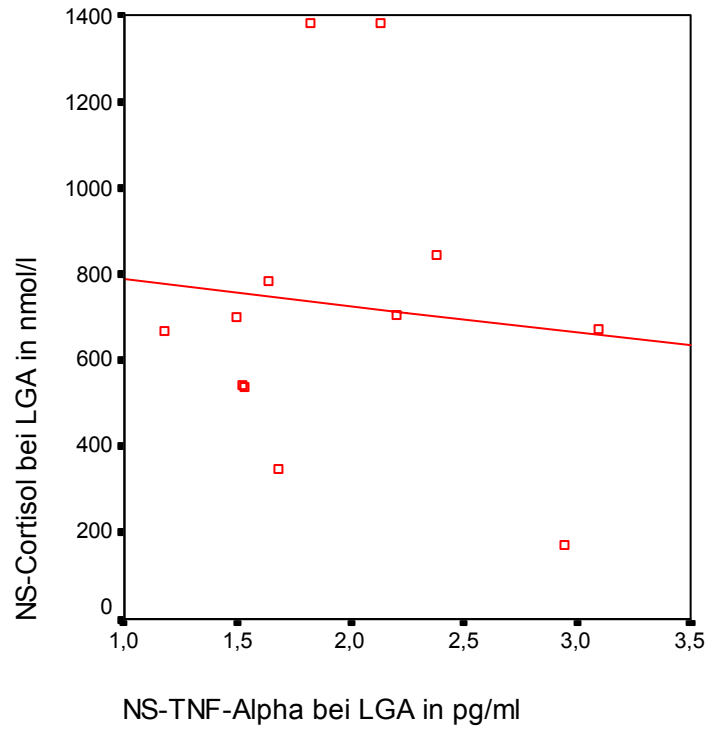


Abb.9: Korrelation von Konzentrationen im Nabelschnurblut für Cortisol und TNF- α bei LGA-Kindern ($r = -0,101$, $P = 0,754$)

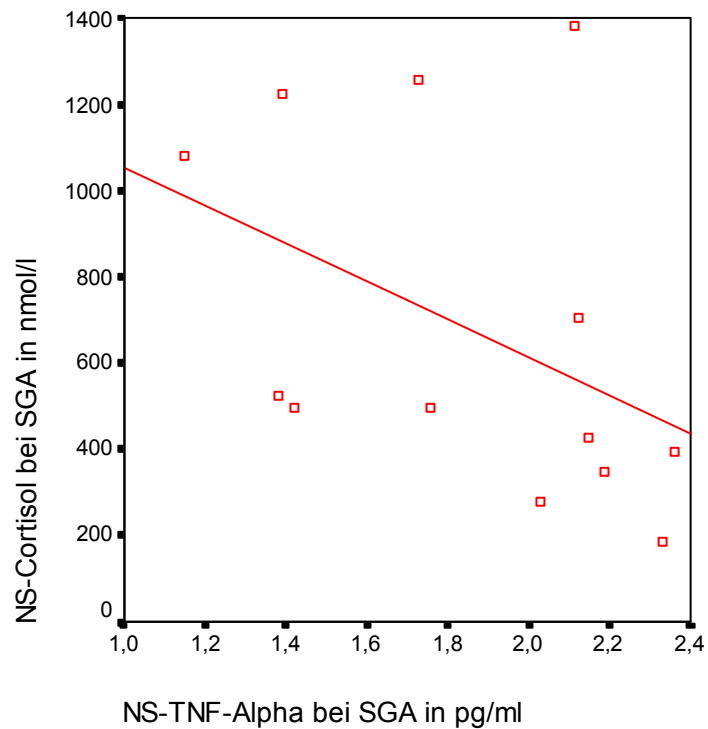


Abb. 10: Korrelation von Konzentrationen im Nabelschnurblut für Cortisol und TNF- α bei SGA-Kindern ($r = -0,58$, $P = 0,037$)

Tab. 15: Korrelation von Cortisol im Nabelschnurblut und TNF- α bei LGA-Kindern, Angabe des Spearman Koeffizient und P-Wertes, NS=Nabelschnur

Parameter (n=12)	LGA Koeffizient r	LGA P-Wert
TNF- α (pg/ml)	0,14 (n=12)	0,66

3.5 Erythropoetin

Erythropoetin ist ein Hormon zur Stimulierung der Produktion roter Blutzellen. Erhöhtes Erythropoetin im Nabelschnurblut gilt als Indikator für fetale Hypoxie (69).

Es wurde eine Bestimmung der Nabelschnurblut-Erythropoetinkonzentrationen in Proben von SGA-, LGA- und AGA- Kindern durchgeführt.

Dabei ergab sich für die SGA-Proben ein Mittelwert von 45,3 mU/ml \pm 61,5 Standardabweichung mit einem Minimum bei 8,9 und Maximum bei 200 mU/ml. Die LGA-Proben zeigten einen Mittelwert von 18,4 mU/ml \pm 11,6 Standardabweichung, das Minimum lag bei 6,1, das Maximum bei 45,6 mU/ml, damit zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Erythropoetinkonzentration im Nabelschnurblut bei SGA- und LGA-Neugeborenen. Ein Mittelwert in der Höhe von 38,4 mU/ml \pm 31,3 Standardabweichung fand sich in den AGA – Proben mit einem Minimum bei 8,1 und Maximum bei 103,1 mU/ml (Tabelle 16, Abbildung 11).

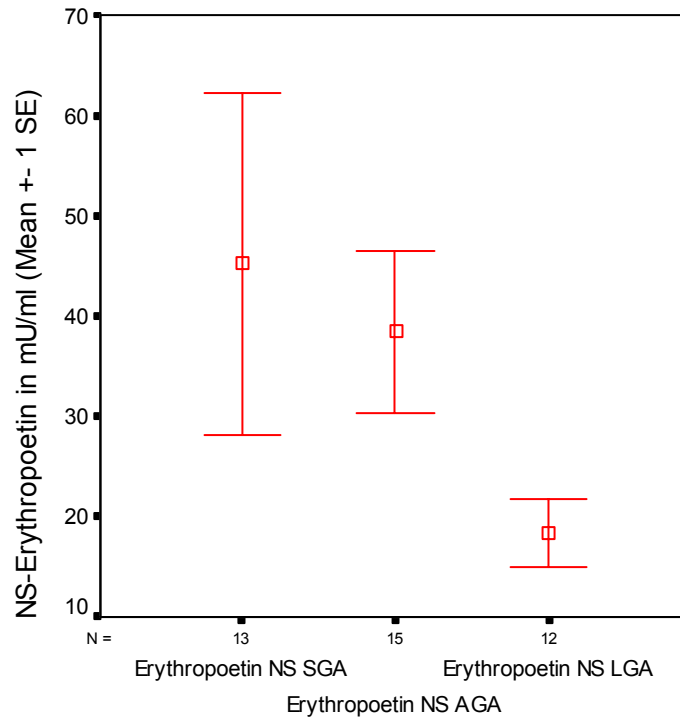


Abb. 11: Vergleich der Erythropoetin-Konzentrationen im Nabelschnurblut von SGA-, AGA- und LGA-Kindern, Vergleich SGA-LGA: P=0,02

Tab. 16: Erythropoetinkonzentrationen im Nabelschnurblut von SGA, AGA,

	Mittelwert±SD
NS-Erythropoetin SGA (mU/ml) (n=13)	45,3 ± 16,5
NS-Erythropoetin AGA (mU/ml) (n=15)	38,4 ± 8,3
NS-Erythropoetin LGA (mU/ml) (n=12)	18,4 ± 3,6

LGA, Mittelwerte ± Standardabweichung, SGA-LGA: P= 0,02

Bei Analyse der Daten ließ sich eine signifikante lineare Korrelation von Erythropoetin zu Nabelschnurblut – Triglyzeriden in Proben von SGA Neugeborenen darstellen. Keine Korrelation konnte zu anderen Fetten im Nabelschnurblut oder der TNF-Alpha-Konzentration im Nabelschnurblut hergestellt werden (Tabelle 17).

Die Auswertung der Ergebnisse bei LGA-Neugeborenen ergab eine signifikant negative Korrelation zu HDL im Nabelschnurblut, während

Triglyzeride, Cholesterin, LDL und TNF- α keinen Zusammenhang zu Erythropoetin zeigten (Tabelle 18). Es gab für die Fette im Nabelschnurblut eine geringere Probenanzahl als für Nabelschnurbluterythropoetin, da die Fette nur im Plasma bestimmt wurden, während Erythropoetin auch im Serum bestimmt wurde.

Tab. 17: Korrelation von Nabelschnurblut-Erythropoetin und TNF- α bei SGA-Kindern, Angabe des Spearman Koeffizient und P – Wertes, NS=Nabelschnur

Parameter (n=13)	SGA Koeffizient r	SGA P-Wert
TNF- α (pg/ml)	0,14 (n=13)	0,66

Tab. 18: Korrelation von Nabelschnurblut-Erythropoetin und TNF- α bei LGA-Kindern, Angabe des Spearman Koeffizient und P – Wertes, NS=Nabelschnur

Parameter (n=12)	LGA Koeffizient r	LGA P-Wert
TNF- α LGA (pg/ml)	-0,27 (n=12)	0,40

4. Diskussion

4.1 Mütterliches TNF- α

Das Ziel dieser Studie war einerseits eine Untersuchung des Zusammenhanges von TNF- α im mütterlichen Blut und mütterlichen und kindlichen Parametern des Glukose- und Fettstoffwechsels, bestimmt als Glukose-, Insulin-, Cholesterin-, Leptin-, Triglyzerid- und LDL-Konzentrationen in maternalem Serum bzw. im Nabelschnurblut. Andererseits sollte der Verlauf der TNF- α -Konzentration während der Schwangerschaft bei Gestationsdiabetes bestimmt werden.

Folgende Ergebnisse wurden gefunden:

1. Es wurde gezeigt, dass TNF- α im Verlauf der Schwangerschaft keine signifikante Konzentrationsänderung erfährt, aber tendenziell gegen Ende der Schwangerschaft eine höhere Konzentration zeigt.
2. Es ergab sich die Tendenz einer negativen Korrelation zwischen Glukose- und TNF- α -Konzentrationen im Blut der Schwangeren bei GDM bei Studieneintritt. Signifikante Korrelationen zu Parametern der Insulinsensitivität und -resistenz konnten nicht festgestellt werden.
3. Es wurde zwischen dem maternalen BMI und TNF- α im Blut der Schwangeren ein grenzwertiger positiver Zusammenhang demonstriert.
4. Bei Analyse der Parameter des Fettstoffwechsels fiel eine signifikante, positive Korrelation von TNF- α zu postprandialen Triglyceriden und LDL auf.

4.1.1 Verlauf von TNF- α in der Schwangerschaft

Der fehlende Anstieg der TNF- α -Konzentration in der Schwangerschaft bei unserem Kollektiv wird von einer früheren Untersuchung gestützt, bei der TNF- α in Blutproben von komplikationslos schwangeren Frauen zu

verschiedenen Gestationszeitpunkten untersucht wurde und keine Änderung des TNF- α -Spiegel im Plasma festgestellt werden konnte (66).

Dagegen wurde während einer Longitudinalstudie von Beckmann zum Verhalten unterschiedlicher Zytokine im mütterlichen Plasma während der Schwangerschaft ein Anstieg von TNF- α und seiner Rezeptoren im zweiten Trimenon registriert mit anschließendem Abfall im dritten Trimenon (7). Die Studie verwendete jedoch eine andere Meßmethode als in der vorliegenden Studie, nämlich den Bioassay.

Hohe TNF- α -Spiegel im Plasma der werdenden Mutter im mittleren Schwangerschaftsdrittel beschrieben auch Kupferminc et al.. Als Erklärung wurde eine vermutlich physiologische Adaptation des mütterlichen Immunsystems auf das fetale Antigen mit Einfluß auf Trophoblastenwachstum und Invasion angenommen. Als Meßmethode wurde ein ELISA angewendet, da allerdings bei der entsprechenden Studie kein TNF- α im Fruchtwasser des zweiten Trimenons oder bei Nichtschwangeren im Plasma entdeckt wurde, stellt sich die Frage nach der Sensitivität der verwendeten Meßmethode (65).

Steigende Zytokinkonzentrationen mit zunehmender Dauer der Schwangerschaft maßen Daher et al. (28). Während bei dieser Arbeit im ersten Trimenon kein TNF- α nachweisbar war, wurde eine Zunahme der Konzentration mit höchsten Werten am Entbindungstermin beschrieben. Daher et al. beobachteten einen signifikanten Anstieg der TNF-Konzentration im maternalen Blut, erklärbar möglicherweise auch durch die verwendete Meßmethode, einem Bioassay, der die absolute TNF-Konzentration, also TNF- α und TNF- β , im maternalen Blut darstellte. Signifikant erhöhte Konzentrationen im dritten im Vergleich zum ersten und zweiten Trimenon im maternale Serum sahen auch Melczer et al. (71). Untersuchungen mit Gestationsdiabetespatientinnen führten Kirwan et al. durch. Die mit demselben Test wie in der vorliegenden Studie gemessenen Konzentrationen entsprachen den hier tendenziell gewonnenen Daten. Kirwan sah ebenso wie Daher und Melczer einen Anstieg von TNF- α um ungefähr 45 % in der Spät – Schwangerschaft im Vergleich zum ersten Trimenon. Die Höhe des Anstiegs war bei Gestationsdiabetes und normaler

Glukosetoleranz gleich **(62)**.

Tendentiell konnten wir in der vorliegenden Studie ebenfalls höhere TNF- α -Konzentrationen gegen Ende der Schwangerschaft im Vergleich zu Proben aus dem zweiten Trimenon beobachten, die jedoch nicht signifikant waren. Der fehlende Anstieg der TNF- α Konzentration während der Schwangerschaft in unserer Studie erklärt sich vermutlich durch den teilweise geringen Zeitabstand zwischen Diagnosestellung des Gestationsdiabetes und Entbindungstermin. Die oben genannten Studien, die deutliche TNF- α Konzentrationsunterschiede im Verlauf der Schwangerschaft sahen, verglichen TNF- α Konzentrationen zwischen erstem, zweitem und dritten Trimenon, während bei der vorliegenden Untersuchung der Studieneintritt der meisten Patientinnen bereits in das dritte Trimenon fiel, sodaß der Abstand zur Geburt wenige Wochen betrug. Ein nichtsignifikanter Anstieg der TNF- α -Konzentration zum Entbindungstermin konnte in unserer Studie ebenfalls beobachtet werden.

Die Suppression der Sekretion zu Beginn der Schwangerschaft scheint dem Schutz des Embryos zu dienen. Unterstützt wird diese Hypothese durch einen in vitro Versuch, der eine Förderung der Apoptose von humanen Trophoblastenzellen in TNF- α -Kulturmedien beobachtet **(109)**.

Eine andere Untersuchung der Rolle des TNF- α bei normal verlaufender Schwangerschaft ergab ebenfalls, dass die Geburt mit einer starken Erhöhung des Zytokins verbunden war. Kulturen zeigten, dass der villöse Trophoblast, der bei einer Spontangeburt gewonnen wurde, sehr viel mehr TNF- α produzierte als nach einer Sectio gewonnene Proben. Die Produktion der Deziduazellen blieb ungefähr gleich (nach Spontangeburt im Vergleich zu durch Sectio entbundenen Frauen). Das Signal für die Geburt scheint demnach unter anderem von TNF- α gegeben zu werden und fetalen Ursprungs zu sein **(101)**. Auch Chen et al. zeigten eine Abhängigkeit des TNF- α -Produktionsortes sowie der -menge vom Gestationsalter. Im ersten Trimenon findet eine Sekretion nur im fetalen Syncytiotrophoblasten sowie maternalen Deziduazellen statt. Am Termin ist TNF- α im Syncytiotrophoblast, villösen Mesenchym und Deziduazellen lokalisiert und wird in höheren Konzentrationen produziert **(21)**.

TNF- α wurde im Zusammenhang mit Störungen im Verlauf von Schwangerschaften untersucht. Dabei sah eine Multicenterstudie bei Frauen mit ungeklärten, sich wiederholenden spontanen Aborten signifikant höhere TNF- α -Konzentrationen als bei Austragung einer erfolgreichen Schwangerschaft. Die erhöhten Werte bestanden auch schon vor einer möglichen Schwangerschaft (75). Auch Shaarawy et al. berichten über erhöhte TNF- α Messungen bei Frauen mit habituellen Aborten, sogar im Vergleich zu Aborten, die durch eine Chromosomenanomalie ausgelöst wurden (97). Bei drohendem Abort mit gutem Outcome und unauffälliger Anamnese wurden normale TNF- α -Konzentrationen gemessen (39).

4.1.2 TNF- α und Parameter des Glukosestoffwechsels

In unserer Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen TNF- α und Parametern der Insulinresistenz oder -sensitivität dargestellt werden.

Die Daten in der Literatur zum Zusammenhang von TNF- α und Glukose sind nicht einheitlich. Frühere Studien zum Einfluß von TNF- α auf die Insulinsensitivität sind zum Teil konkordant zu den von uns gefundenen Ergebnissen. Eine Untersuchung von zirkulierenden Faktoren wie TNF- α und Leptin zeigte keine Korrelation zur Entwicklung einer Skelettmuskelinsulinresistenz (59). Keine Beziehung zwischen TNF- α und Homa als Maß der Insulinsensitivität ergab auch eine Untersuchung gesunder Frauen aller Altersgruppen (51). Ebenso konnte kein Zusammenhang zwischen zirkulierenden TNF- α -Konzentrationen und Insulinsensitivität bei adipösen und normalgewichtigen Versuchspersonen ermittelt werden (86). Beim Menschen führte die Gabe eines TNF- α -Antikörpers an adipöse Personen zu keiner Besserung der Insulinsensitivität (77).

Es finden sich andere Studien, die ähnlich wie in unserer Studie einen negativen Zusammenhang zwischen TNF- α und der Glukosekonzentration sahen, z. B. konnte durch TNF- α -Gabe bei neugeborenen Ratten eine Hypoglykämie induziert werden. Als Gründe wurden sowohl der gleichzeitige

Anstieg der GLUT-1 mRNA in verschiedenen Geweben, der eine Erhöhung des Glukoseuptake zur Folge hatte, als auch der Abfall eines für die Glukoneogenese mitverantwortlichen Leberenzym angenommen (6).

Es gab aber auch Studien, die eine positive Korrelation zwischen TNF- α und Glukosekonzentration fanden, wie Winkler et al., die einen direkten positiven Zusammenhang mit besonderer Ausprägung bei Gestationsdiabetes aufzeigten (107). Auch Untersuchungen der TNF- α -Sekretion in Uterusproben von stoffwechselgesunden schwangeren, diabetischen und insulinbehandelten Ratten demonstrierten die höchste Zytokinfreisetzung bei diabetischen Schwangeren (79). Diese bestätigten in vitro Versuche mit exogenen Glukosegaben zu Plazentagewebsproben bei normal verlaufender Schwangerschaft und GDM. Sie zeigten bei den GDM – Proben eine signifikant höhere TNF- α -Freisetzung unter hohen Glukosedosierungen als unter normaler Glukosekonzentration, während bei unkomplizierter Schwangerschaft kein Effekt zu erkennen war.

Der Einfluß von TNF- α auf die Regulation von Glukosemetabolismus und Insulinresistenz ist bekannt, seit Hotamisligil et al. zeigten, dass mit vermehrter TNF- α mRNA-Produktion das Ausmaß der Hyperinsulinämie steigt (46). Es wird vermutet, daß es möglicherweise auch an der Progression von GDM beteiligt ist (25). Bei Gestationsdiabetes ließ sich ein erniedrigter GLUT-4 – Gehalt der Zellen mit nachfolgend etwas verschlechterter Glukoseaufnahme ermitteln (37). Hauner et al. zeigten im Kulturmedium, daß eine erhöhte TNF- α -Konzentration zu vermindertem GLUT-4 führt. Sie untersuchten neudifferenzierte Fettzellen in TNF- α -Kulturmedien und beobachteten einen kompletten Verlust des stimulatorischen Effektes von Insulin auf den Glukosetransport durch GLUT-4 mRNA-Abfall (40). Unterstützt wird dieses Ergebnis von Okuno et al., der im Fettgewebe schwangerer Frauen signifikant weniger GLUT-4 Expression nachwies, die bei GDM besonders auffällig war (78). Dabei scheint die TNF- α -Sekretion den basalen Glukosetransport nicht beeinflussen, jedoch mit der maximalen Kapazität des insulinstimulierten Glukosetransportes eng zu korrelieren.

Andere Studien dagegen fanden sowohl positive als auch negative

Korrelationen zwischen TNF- α und der Insulinsensitivität. Als mögliche Erklärung mag dienen, dass TNF- α als Zytokin vielen Regulationsmechanismen unterliegt und verschiedene Reaktionsmöglichkeiten unter unterschiedliche Umgebungsbedingungen zeigt.

Um den Ursprung des zirkulierenden TNF- α im maternalen Serum in der Schwangerschaft zu klären, untersuchten Kirwan et al. Plazentaprobe und maternales Plasma und beschrieben die Plazenta als Hauptproduktionsort für TNF- α . Sie sahen in der Spät-Schwangerschaft einen Anstieg von TNF- α . Parallel ermittelten sie einen Abfall der Insulinsensitivität. Im Gegensatz zu der bis dato vertretenen Meinung, dass die Reproduktionshormone wie β -HCG, Östradiol, HPL und Progesteron für die abnehmende Insulinsensitivität im Verlauf der Schwangerschaft verantwortlich seien, fanden sich keine Korrelationen zwischen diesen Hormonen und der Insulinsensitivität. Dagegen korrelierte TNF- α signifikant negativ mit der Insulinsensitivität, so daß TNF- α sich als der einzige signifikante Prädiktor für Insulinresistenz während der Schwangerschaft erwies (62). Im Tierversuch führte eine Ausschaltung des TNF- α -Gens bei adipösen Mäusen zu verbesserter Insulinsensitivität (105,45). Ebenso führte ein Versuch mit Ratten, die zur Expression eines TNF- α -Inhibitorgens gebracht wurden, nachfolgend zu erniedrigten Plasmainsulinkonzentrationen (22). In einem früheren Experiment wurde eine signifikant positive Korrelation von TNF- α zur C-Peptid / Glukose Ratio als indirektem Maß der Insulinresistenz demonstriert (71). In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zu Insulinsensitivität oder -resistenz gesehen werden. Möglicherweise läßt sich dies durch die gute Insulineinstellung der Schwangeren mit Gestationsdiabetes im Rahmen der Studie erklären. Es ist auch nicht auszuschließen, daß einige Frauen bei der Probengewinnung nicht nüchtern waren, obwohl wir versuchten, diesen Unsicherheitsfaktor auszuschließen, indem Frauen, deren Insulinkonzentrationen über 40 μ mol/ml lagen, als nicht nüchtern ausgeschlossen wurden.

4.1.3 TNF- α und maternaler Body Mass Index

Zwischen maternalem BMI und TNF- α wurde in unserer Studie ein grenzwertig positiver Zusammenhang gezeigt. Auffallend war ein bereits prägravide erhöhter BMI der Studienteilnehmerinnen von 28 kg/m².

Differierende Ergebnisse wurden in vorangegangenen Studien zu TNF- α und BMI bzw. Parametern des Fettstoffwechsels beobachtet. Einerseits erwähnen einige Studien wie in unserer Studie eine positive Beziehung zwischen BMI und erhöhten Zytokinkonzentrationen, insbesondere bei übergewichtigen Patienten (71,24,51) und Abnahme von TNF- α nach Gewichtsreduktion (60). Andererseits konnte keine Korrelation zwischen BMI und TNF- α oder seinen Rezeptoren (70) bei Adipösen (86) entdeckt werden.

Eine positive Korrelation von TNF- α und BMI, die bei Gestationsdiabetes besonders ausgeprägt erschien, zeigten Winkler et al. (107). Dabei maßen sie höhere Konzentrationen von TNF- α bei Schwangeren mit GDM als bei physiologisch verlaufender Schwangerschaft (107). Die Frauen mit GDM wiesen jedoch auch einen erhöhten BMI von durchschnittlich 33 kg/m² auf. Es wird vermutet, daß die TNF- α -Überexpression im Fettgewebe zur Apoptose führen soll. Neudifferenzierte Fettzellen, die in ein TNF- α -Kulturmedium gebracht wurden, zeigten eine Abnahme der Fettgewebsmasse durch dosisabhängige Lipolysestimulation und Delipidation von Fettzellen durch das Zytokin (40). Bei adipösen Patienten jedoch entwickelt sich anscheinend eine Resistenz durch beispielsweise antiapoptotische Enzyme (27) oder durch den dominanten antiapoptotischen Effekt von TNF- α -RII gegenüber dem apoptotischen Effekt des TNF- α -RI (72). Dagegen fand eine andere Forschungsgruppe lediglich eine positive Beziehung zu den löslichen TNF- α -Rezeptoren (34).

Eine Untersuchung an schwangeren Frauen, die durch sportliche Übungen ihre Fettmasse reduzierten, führte zu erniedrigten TNF- α -Konzentrationen im Vergleich zu nicht sportlich aktiven Frauen (23). Die Reduktion war bis auf die Hälfte der Ausgangskonzentration möglich (46). Versuche an Ratten bestätigen dies (5).

4.1.4 TNF- α und Parameter des maternalen Fettstoffwechsel

In unserer Studie wurde eine signifikante positive Korrelation von TNF- α zu postprandialen Triglyceriden und LDL gezeigt. Bei erhöhtem BMI der Probandinnen bereits vor der Schwangerschaft wird angenommen, daß die übermäßige Fettmasse zu einer erhöhten TNF- α -Produktion führt und als Folge eine gesteigerte Lipolyse resultiert. Signifikante positive Korrelationen von TNF- α mit freien Fettsäuren und Triglyceriden bestätigten auch Paolisso et al. (80).

Die Expression eines TNF- α -Inhibitorgens führte bei Ratten zu einer Reduktion freier Fettsäuren (22). Eine frühere Arbeit mit Frauen aller Altersgruppen zur Klärung der Rolle des TNF- α bei Arteriosklerose ergab eine positive Korrelation von TNF- α zu LDL und Cholesterolemie und keinen Zusammenhang mit HDL (51). TNF- α -Gabe induzierte eine Hyperlipidämie mit erhöhten Serumtriglyceriden. Dabei soll die Hyperlipidämie durch TNF- α mehr aus einer gesteigerten Lipolyse und hepatischen Lipogenese resultieren als aus einer abnehmenden peripheren Clearance durch Hemmung der Lipoproteinlipase (33).

Andere Autoren fanden eine Hemmung der Lipoproteinlipase im Fettgewebe durch TNF- α (57,94). In vitro Versuche zeigten eine durch gesteigerte Lipolyse und abnehmende Lipoproteinlipase hervorgerufene Verminderung des Adipozytenvolumens. Zusätzlich konnte eine bis zu 20 % erhöhte Apoptoserate bei Adipozyten in TNF- α -Kulturmedien gefunden werden (87). Ein Anstieg der Lipoproteinlipase konnte durch Gewichtsreduktion bei erniedrigten TNF- α -Spiegeln erreicht werden. Mit zunehmendem Gewicht wurde dagegen wieder ein signifikanter Anstieg der TNF- α mRNA – Level gezeigt (60).

In vitro Versuche mit Makrophagen, die durch Lipopolysaccharidzugabe zur TNF- α -Produktion angeregt waren, wurden in ein Kulturmedium zu Adipozyten gegeben. Nachfolgend wurde eine gesteigerte Lipolyse beobachtet. Diese hervorgerufene Lipolyse war durch TNF- α -Antikörpergabe reversibel (38).

Möglicherweise gibt es eine genetische Erklärung für die Unterschiede im

Ausmaß der Lipolyse zwischen den einzelnen Individuen, die durch TNF- α hervorgerufen wird. Es wurden Variationen in der Promotorregion des TNF- α -Gens gefunden, die je nach Genkombination einen unterschiedlichen Grad an Lipolyse bewirken mit daraus resultierenden unterschiedlichen Konzentrationen an freier Fettsäure (32). Eine andere Studie zeigte, dass höhere Körperfettwerte und verminderte Insulinsensitivität mit einem spezifischen TNF- α -Genpolymorphismus verbunden waren, der eine erhöhte Transkriptionsrate für das Zytokin bewirkte (35).

4.2 Mutter und Kind

Die TNF- α -Konzentrationen im mütterlichen Plasma vor der Geburt zeigten keinen Zusammenhang mit TNF- α im Nabelschnurblut .

Dies war zu erwarten, nachdem Kirwan et al. mit Hilfe eines zweiseitig perfundierten Plazentakotelydonenmodells nachgewiesen hatten, daß das von der Plazenta gebildete TNF- α zu 94 % in den mütterlichen und nur zu 6 % in den kindlichen Kreislauf freigesetzt wird, so daß der Fet augenscheinlich eigene Produktionsquellen besitzen muß (62). Eine andere Studie untersuchte Fetalmembranen aus der Plazenta, die direkt nach elektiven Sektionen gewonnen wurden und konnte TNF- α mRNA Expression in den Fetalmembranen nachweisen (110).

TNF- α passiert die Plazenta nicht, dies konnte die Gabe von markiertem Enzym am Entbindungstermin beweisen. Kurze Zeit nach der Injektion wurde markiertes TNF- α lediglich auf mütterlicher Seite oder in der Plazenta entdeckt, aber nicht auf fetaler Seite (13). Zudem ist das Verteilungsvolumen von Mutter und Kind sehr unterschiedlich, so daß eine Korrelation nicht zu erwarten war.

4.3 Kindliche Ergebnisse

4.3.1 TNF- α im Nabelschnurblut

Bisher wurde unserem Wissen nach in keiner Studie der Zusammenhang zwischen fetalem TNF- α und Parametern des kindlichen Metabolismus untersucht.

In unserer Studie konnten wir zeigen, daß:

1. kein signifikanter Unterschied zwischen kindlichem TNF- α von SGA, AGA und LGA Neugeborenen besteht, jedoch ein Trend zu erhöhtem TNF- α mit steigendem Geburtsgewicht
2. es weder eine Korrelation zu Parametern des Glukose – noch des Fettstoffwechsel gibt
3. jedoch eine positive Korrelation von TNF- α und Triglyzeriden bei Neugeborenen mit Wachstumsretardierung besteht

4.3.1.1. TNF- α und fetales Wachstum

Frühere Untersuchungen des Zusammenhanges von TNF- α und fetalem Wachstum führten zu unterschiedlichen Ergebnissen. Insgesamt ließ sich im in vitro Versuch ein Einfluß der TNF- α -Familie auf das intrauterine Knochenwachstum feststellen, in dem eine Modulation der Osteoklastenentwicklung bewirkt wird. Ein Protein, Osteoprotegerin genannt, produziert vom TNF-Rezeptormolekül 1, inhibierte sowohl in vivo als auch in vitro die Osteoklasten (**103**). Konkordant zu unseren Ergebnissen beschrieben deKossodo et al. eine Wachstumshemmung nach Reduktion der TNF- α -Konzentration durch Antikörpergabe. Die Injektion von TNF- α -Antikörpern führte beim Mausembryo zu vorübergehender Wachstumsretardierung sowie Atrophie von Thymus und Milz, die als TNF- α mRNA – Quellen identifiziert wurden (**29**). Heinig et al. beobachteten bei Wachstumsretardierung eine verminderte TNF- α -Expression der Plazenta.

Bei schwangeren Ratten, die einer chronischen TNF- α -Behandlung unterzogen wurden, konnte eine Steigerung der maximalen Geschwindigkeit des Aminosäure-Transportes durch die Plazenta beobachtet werden. Die werdende Mutter war demnach in der Lage, ihren Aminosäuretransport an pathologische Prozesse wie zum Beispiel Tumorwachstum anzupassen, so dass der Fet normal wachsen konnte. TNF- α schien diesen Mechanismus zu triggern (14).

Messungen im Fruchtwasser zeigten bei Spong et al. keinen Unterschied der fetalen TNF- α -Konzentration zwischen SGA- und AGA-Kindern (99), eine andere Studie fand jedoch erhöhte TNF- α -Konzentrationen bei intrauterinem Mangelwuchs. Dazu wurde im zweiten Trimenon Fruchtwasser gewonnen und mit dem Gewicht bei der Geburt verglichen. Die Indikationen zu den einzelnen Amniozentesen waren vergleichbar und Infektionen, per se ein Grund für angehobene Zytokinkonzentrationen, wurden als Ausschlusskriterium gewertet. Bemerkenswerter Weise waren stark erhöhte TNF- α -Konzentrationen mit intrauterinem Minderwuchs assoziiert, möglicherweise durch eine TNF- α vermittelte Cachexie (42). Die unterschiedlichen Ergebnisse erklären sich möglicherweise durch die verschiedenen verwendeten Meßmethoden: Spong et al. verwendeten einen Immunoassay zur Ermittlung der gesamten TNF- α Konzentration, während Heyborn et al. einen spezifischen Zellassay zur Ermittlung der Bioaktivität von TNF- α verwendeten.

Stallmach et al. führten immunhistochemische Untersuchungen durch und zeigten ebenfalls bei Minderwuchs erhöhte TNF- α - Spiegel. Sie konnten die Produktion von TNF- α in Zellen von Fet und Plazenta beweisen und mit steigender Zytokinproduktion wurden mehr Zelltypen mit TNF- α -Produktion, vor allem Makrophagen und Deziduazellen, differenziert (100). Erhöhte TNF- α Expression der Plazenta bei intrauterinem Minderwuchs fanden auch Holcberg et al., die eine Erhöhung des Gefäßwiderstandes durch Vasokonstriktion beschrieben. Beweisend führte eine Bolusinjektion mit Angiotensin II zu erhöhter TNF- α -Sekretion (43). Messungen in mütterlichem und fetalem Plasma, bei der Entbindung gewonnen, ergaben bei Schiff et al. erniedrigte TNF- α -Konzentrationen sowohl bei Frau als auch Kind bei SGA-

Neugeborenen. Der Geburtsmodus hatte keinen Einfluß auf das Ergebnis (92).

Eine signifikant negative lineare Korrelation zwischen mütterlichem TNF- α und Kopfumfang, Körpergewicht und Länge des Neugeborenen, besonders ausgeprägt bei Gestationsdiabetes, stellten Kalabay et al. fest (54,26). Dies bestätigten Untersuchungen von Melczer bei normal verlaufenden Schwangerschaften, die keine Zeichen einer intrauterinen Hypoxie vorwiesen. Es konnten keine Unterschiede im Wachstum zwischen Mädchen und Jungen ausgemacht werden (72). Im Tierversuch wuchsen Rattenembryos im Medium diabetischer Uteruszellen schlechter, eine deutliche Verbesserung ließ sich durch TNF- α -Antikörpergabe erzielen (79).

4.3.1.2. Fetales TNF- α und Parameter des fetalen Fettstoffwechsels

Eine Unterteilung in SGA-, LGA- und AGA-Kinder ergab interessanterweise eine positive Korrelation von TNF- α und Triglyzeriden bei SGA-Neugeborenen. Gleichzeitig fiel eine signifikant negative Korrelation zwischen TNF- α und Glukose im Nabelschnurblut auf. SGA-Neugeborene verfügen über geringe Energiereserven, so dass sich die niedrige Glukosekonzentration erklären lässt. Aus diesen Ergebnissen formulierten wir die Hypothese, dass Hypoxie und Streß bei SGA-Kindern zu einer erhöhten TNF- α -Konzentration führen könnte. Bei bekanntem lipolytischen Effekt von TNF- α könnten so vermehrt Triglyzeride als Energiereserve freigesetzt werden.

In einer früheren Studie wurden die Effekte von Hypoxie und Hyperoxie auf die TNF- α -Produktion untersucht. Es wurde ein Plazentaperfusionsmodell untersucht, dabei stellte sich ein exponentieller Anstieg der Freisetzung von TNF- α für beide Zustände heraus: Bei Hypoxie entsteht durch den anaeroben Metabolismus eine Azidose als Reiz für die Zytokinsekretion (Abbildung 12). Die direkte Toxizität der Oxygene oder Freisetzung von Radikalen sorgt bei Hyperoxie für gesteigerte TNF- α -Freisetzung (85). Eine erhöhte TNF- α -Sekretion wurde auch durch Plazentahypoperfusion bedingt. Durch adaptive Dilatation fetaler Gefäße soll ein Ausgleich erreicht werden

(84). Syncytiotrophoblast, villöse Zellen und CD 68+ Zellen wie Makrophagen produzieren bei Hypoxie vermehrt TNF- α (8).

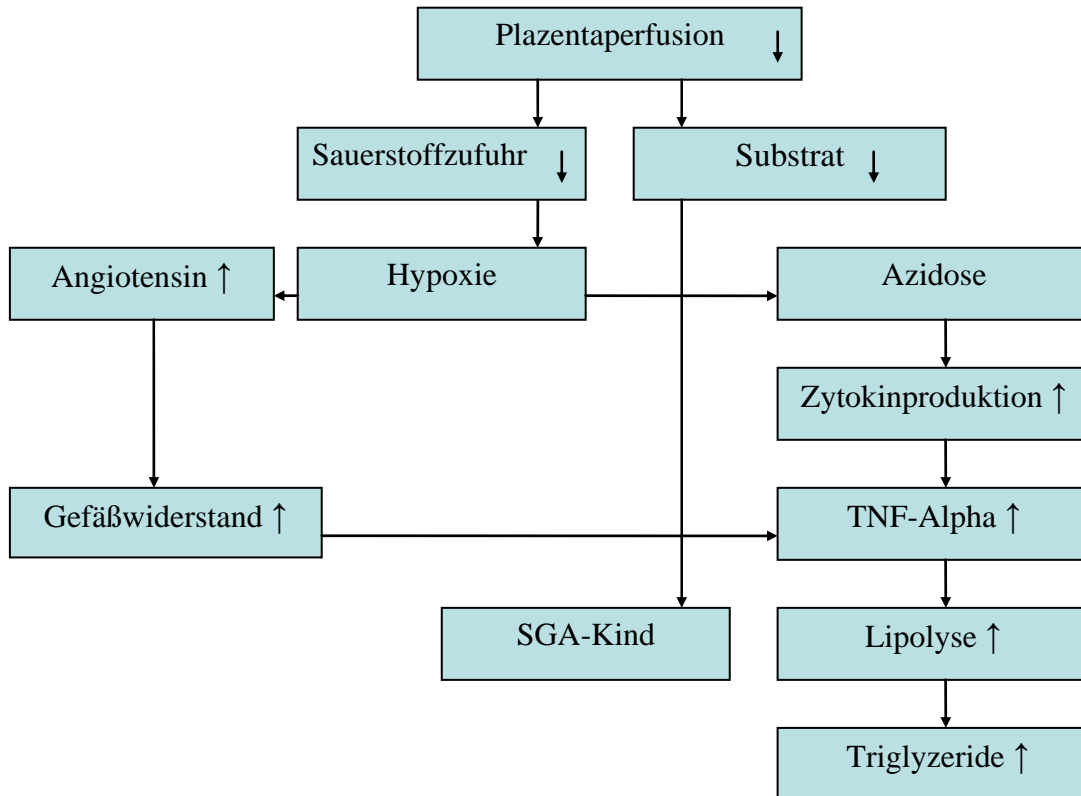


Abb. 12: Durch Hypoxie ausgelöste Kaskade: Hypothetischer Zusammenhang zwischen Hypoxie und erhöhten Triglyzeriden bei SGA Neugeborenen

Thalidomid, bekannt geworden als Contergan, inhibiert die TNF- α -Freisetzung aus Monozyten. Möglicherweise resultierte die durch das Medikament ausgelöste fetale Malformation aus dieser Hemmung der TNF- α -Freisetzung, welches für Differenzierung und Wachstum eine wichtige Rolle spielt (91).

4.3.2 Cortisol im Nabelschnurblut

Um unsere Hypothese einer streßbedingten Erhöhung von TNF- α zu untermauern, bestimmten wir bekannte Parameter, die bei intrauterinem Streß ansteigen. SGA – Neugeborene waren intrauterin erhöhtem Streß ausgesetzt. Da bei den analysierten wachstumsretardierten Kindern eine positive Korrelation zwischen den Nabelschnurkonzentrationen von TNF- α und Triglyzeriden auffiel, stellte sich die Frage, ob die Ursache der erhöhten TNF- α -Werte im Streß zu finden sei. Die parallel ansteigenden Triglyzeridkonzentrationen lassen sich durch die vermehrte Lipolyserate durch das Zytokin erklären.

Cortisol wurde in den vorliegenden Nabelschnurproben von SGA –, LGA – und AGA - Kindern bestimmt. Dabei zeigten sich bei SGA - und LGA – Neugeborenen deutlich höhere Cortisolkonzentrationen im Nabelschnurblut als bei AGA – Kinder. Makrosome Kinder waren demnach ähnlich wie SGA – Kinder intrauterin erhöhtem Streß ausgesetzt.

Bei SGA – Kinder zeigte eine negative Tendenz zwischen den Konzentrationen im Nabelschnurblut für Cortisol und Triglyzeriden. Da diese sehr kleinen Kinder über geringe Fettreserven verfügen, könnte vermutet werden, daß mit zunehmendem Streß die Lipolyserate zur Gewinnung von Energieträgern nicht weiter gesteigert werden kann und sich somit der negative Zusammenhang erklären ließe.

Gegen unsere Hypothese spricht die signifikante, negative Korrelation von TNF- α und Cortisol bei SGA-Neugeborenen. Eine mögliche Erklärung findet sich jedoch bei Saksela et al.. Sie wiesen eine TNF- α -Sekretion der fetalen Nebenniere nach. Es konnte eine TNF- α bedingte Suppression der Steroidsynthese beobachtet werden, so dass eine Rolle bei der Regulation der Steroidentstehung wahrscheinlich ist (90).

4.3.3 Erythropoetin im Nabelschnurblut

Erythropoetin gilt als Indikator für Hypoxie. Es wurde zusätzlich in den vorliegenden Nabelschnurproben von SGA -, AGA - und LGA - Kindern bestimmt zur Überprüfung der Hypothese, ob Hypoxie die Ursache der erhöhten TNF- α Konzentrationen bei den SGA- Kindern sei. Beschrieben wurde bereits die Stimulation der Lipolyse durch TNF- α .

Es zeigten sich mit abnehmendem Geburtsgewicht steigende Erythropoetin – Konzentrationen in der Nabelschnur. SGA – Neugeborene wiesen eine signifikant positive Korrelation von Erythropoetin im Nabelschnurblut zu Triglyzeriden auf. Zudem fiel bei den SGA-Neugeborenen eine niedrigere Glukosekonzentration im Nabelschnurblut als bei den AGA- und LGA-Neugeborenen auf.

Die Konzentrationen von TNF- α im Nabelschnurblut korrelierten jedoch weder bei den SGA – noch bei den LGA – Kindern mit dem Erythropoetengehalt der Nabelschnur. Die erhöhten TNF- α Konzentrationen sind demnach wahrscheinlich nicht in hypoxisch bedingt.

Weiterführende Studien mit größerem Probenumfang sind zur Klärung der Frage erforderlich.

5. Zusammenfassung

In einer prospektiven Studie wurde bei Frauen mit einem durch oGTT gesicherten Gestationsdiabetes zu Beginn (n= 42) der Therapie des GDM und am Ende (n= 61) ihrer Schwangerschaft die TNF- α -Konzentration im Blut gemessen. Ebenso wurde bei 92 Neugeborenen von Patientinnen desselben Kollektivs die TNF- α -Konzentration aus dem Nabelschnurblut bestimmt. Gleichzeitig wurden die Konzentrationen von Glukose, Insulin, Lipiden und Leptin bei Mutter und Fet ermittelt. Ziel dieser Studie war es zu klären, ob TNF- α einen Einfluß auf Mutter und Fet bei Gestationsdiabetes hat.

Unsere Studie zeigte, daß die TNF- α – Konzentration der Mutter im Verlauf der Schwangerschaft keine bedeutende Änderung erfuhr. Ein grenzwertiger Zusammenhang konnte zu dem prägravidem BMI hergestellt werden ($r= 0,3$, $P= 0,06$). TNF- α zeigte keine Korrelation zu Parametern des Glukosestoffwechsels und der Insulinsensitivität. Eine signifikante Korrelation fiel lediglich zu den postprandialen Lipiden auf. Es ist bekannt, dass TNF- α eine Hemmung der Lipoproteinlipase sowie eine Stimulierung der Lipolyse bewirkt und damit eine Erhöhung der Lipide.

Weder die TNF- α -Messungen im mütterlichem Blut noch die fetalen aus dem Nabelschnurblut ergaben eine signifikante Korrelation zum kindlichen Wachstum, welches durch sonographische Untersuchungen des Abdominalumfanges während der Schwangerschaft und Bestimmungen von Geburtsgewicht und -länge erhoben wurde. Es konnte jedoch eine Tendenz zu erhöhten maternalen und fetalen TNF- α - Konzentrationen und gesteigertem kindlichen Wachstum festgestellt werden. Die TNF- α -Spiegel von Mutter und Kind verhielten sich unabhängig voneinander, so daß die Hauptquelle für fetales TNF- α nicht die Plazenta zu sein scheint.

Zwischen TNF- α im Nabelschnurblut und Parametern des kindlichen Metabolismus zeigte sich keine Korrelation mit Ausnahme von wachstumsretardierten Neugeborenen, bei denen eine positive Korrelation von TNF- α zu Triglyzeriden gesehen werden konnte. Zur Überprüfung der

Hypothese, ob intrauteriner Streß und Hypoxie eine Erhöhung des TNF- α -Spiegels hervorrufen, der über die Stimulierung der Lipolyserate wiederum eine erhöhte Lipidfreisetzung bewirkt, bestimmten wir in den vorliegenden Nabelschnurproben Cortisol und Erythropoetin. Dabei fiel eine signifikant negative Korrelation zwischen TNF- α und Cortisol bei wachstumsretardierten Neugeborenen auf, die gegen die obige Hypothese spricht. Die Konzentrationen im Nabelschnurblut von TNF- α und Erythropoetin waren nicht signifikant korreliert.

Zusammenfassend konnten wir die Bedeutung von TNF- α für die Entstehung einer Insulinresistenz nicht nachvollziehen, da wir innerhalb eines Kollektivs von Frauen mit GDM keinen Zusammenhang mit Parametern des Glukosestoffwechsels sehen konnten. Für den fetalen Stoffwechsel scheint TNF- α keine tragende Bedeutung zu haben. Bei wachstumsretardierten Neugeborenen trägt TNF- α zur Bereitstellung von alternativen Energiequellen durch Erhöhung der Lipolyse bei.

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AGA	adequat for gestational age
BMI	Body mass Index
C	Celsius
DM	Diabetes mellitus
g	Gramm
GDM	Gestationsdiabetes mellitus
GI-6-P-DH	Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase
kD	Kilo Dalton
kg	Kilogramm
HDL	High Density Lipoprotein
HPL	humanes Plazentalaktogen
IUGR	intrauterine Growth Retardation
l	Liter
LDL	Low Density Lipoprotein
LGA	large for gestational age
m	Meter
ml	Milliliter
NAD	Nicotinamid – Adenin-Dinukleotid
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NIDDM	non insulin dependent diabetes mellitus
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
pg	Pikogramm
PG	Prostaglandin
SGA	small for gestational age
STH	Somatotropes Hormon
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TNF- α mRNA	Tumornekrosefaktor messenger Ribonukleinsäure
TNF- α -RI	Tumornekrosefaktor – Rezeptor I

TNF- α -RII	Tumornekrosefaktor – Rezeptor II
U	Unit
z. B.	zum Beispiel
Z. n.	Zustand nach

Literaturverzeichnis

- 1 Abbas A, Snijders RJ, Buggins AG, Layton DM, Nicolaides KH: Fetal plasma tumor necrosis factor concentration in normal pregnancy . *Fetal Diagn Ther.*, 1993: 8, S.230-3
- 2 Ahmad F, Goldstein BJ: Effect of tumor necrosis factor-alpha on the phosphorylation of tyrosine kinase receptors is associated with dynamic alterations in specific protein-tyrosine phosphatases. *J of cellular Biochemistry*, 1997: 64, S.117-27
- 3 Argiles JM, Carbo N, Lopez-Soriano FJ: TNF-ALPHA and Pregnancy:the Paradigm of a Complex Interaction. *Zytokine and Growth factor Reviews*, 1997: 3, S.181-188
- 4 Argiles JM, Lopez-Soriano J, Busquets S, Lopez-Soriano FJ: Journey from cachexia to obesity by TNF-ALPHA. *FASEB J*, 1997: 11, S.743-51
- 5 Baba T, Kanda T, Yoshida A, Tsukui S, Nara M, Inukai T, Umeda T, Tamura J, Kobayashi I: Reciprocal changes in leptin and tumor necrosis factor-alpha with exercise in insulin resistant rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 2000: 108, S.133-43
- 6 Battelino T, Goto M, Krzisnik C, Zeller WP: Tumor necrosis factor-alpha alters glucose metabolism in suckling rats. *J Lab Clin Med*, 1999: 133, S.583-9
- 7 Beckmann I, Visser W, Struijk PC, van Dooren M, Glavimans J, Wallenburg HC: Circulating bioactive tumor necrosis factor-alpha, tumor necrosis factor-alpha receptors, fibronectin, and tumor necrosis factor-alpha inducible cells adhesion molecule VCAM-1 in uncomplicated pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1997: 177, S.1247-52
- 8 Benyo DF, Miles TM, Conrad KP: Hypoxia stimulates Zytokine production by villous explants from the human placenta. *J of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1997: 5, S.1582-1588

- 9 Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A: Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature*, 1985: 316, S.552-4
- 10 Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L: Mechanism of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest*, 1994. 93, S.2438-46
- 11 Buchanan TA, Metzger BE, Freinkel N, Bergman RN: Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderately obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 1990: 162, S.1008-14
- 12 Carbo N, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM: Administration of tumor necrosis factor-alpha results in a decreased placental transfer of amino acids in the rat. *Endocrinology*, 1995: 136, S.3579-84
- 13 Carbo N, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM: Tumour necrosis factor does not cross the rat placenta. *Cancer letters*, 1998: 128, S.101-104
- 14 Carbo N, Lopez-Soriano FJ, Fiers W, Argiles JM: Tumour growth results in changes in placental amino acid transport in the rat: a tumour necrosis factor-alpha mediated. *Biochem J.*, 1996: 313, S.77-82
- 15 Carpenter MW, Coustan DR: Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 1982: 144, S.768-773
- 16 Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci*, 1975. 72, S.3666-70
- 17 Catalano PM, Kirwan JP, Haugel-de Mouzon S, King J: Gestational Diabetes and Insulin Resistance: Role in Short- and Long-Term. *The American Society for Nutritional Sciences*, 2003: 133, S.1674-1683
- 18 Catalano PM, Drago NM, Amini SB: Maternal carbohydrate metabolism and its relationship to fetal growth and body composition. *Am J Obstet Gynecol*, 1995: 172, S.1464-70

- 19 Catalano PM, Roman-Drago NM, Amini SB, Sims EA: Longitudinal changes in body composition and energy balance in lean women with normal and abnormal glucose tolerance during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1998. 179, S.156-65
- 20 Catalano PM, Tyzbit ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA: Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*, 1991. 165, S.1667-72
- 21 Chen HL, Yang YP, Hu XL, Yelavarthi KK, Fishback JL, Hunt JS: Tumor necrosis factor alpha mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. *Am J Pathol.*, 1991: 139, S.327-35
- 22 Cheung AT, Ree D, Kolls JK, Fuselier J, Coy DH, Bryer-Ash M: An in vivo model for elucidation of the mechanism of tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance: evidence for differential regulation of insulin signaling by TNF-ALPHA-alpha. *Endocrinology*, 1998: 139, S.4928-35
- 23 Clapp JF 3rd, Kiess W: Effects of pregnancy and exercise on concentrations of the metabolic markers tumor necrosis factor alpha and leptin. *Am J Obstet Gynecol*, 2000: 182, S.300-6
- 24 Corica F, Allegra A, Corsonello A, Buemi M, Calapai G, Ruello A, Nicita Mauro V, Ceruso D: relationship between plasma leptin levels and the tumor necrosis factor-alpha system in obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999: 23, S.355-60
- 25 Coughlan MT, Oliva K, Georgiou HM, Permezel JMH, Rice GE: Glucose-induced release of tumour necrosis factor-alpha from human placental and adipose tissues in gestational diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 2001: 18, S.921-927
- 26 Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Csakany GM, Speer G, Kovacs M, Gero G, Karadi I, Winkler G: The pathophysiological influence of leptin and the tumor necrosis factor system on maternal insulin resistance: negative correlation with anthropometric parameters of neonates in gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol*, 2002: 16, S.453-60

- 27 Cseh K, Winkler G, Melczer Z, Baranyi E: The role of tumour necrosis factor-alpha resistance in obesity and insulin resistance. *Diabetologia*, 2000: 43, S.525
- 28 Daher S, Fonseca F, Ribeiro GO, Musatti CC, Gerbase-de Lima M: Tumor necrosis factor during pregnancy and at the onset of labor and spontaneous abortion. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 1999: 83, S.77-79
- 29 de Kossodo S, Grau GE, Daneva T, Pointaire P, Fossati L, Ody C, Zapf J, Piguet PF, Gaillard RC, Vassalli P: Tumor necrosis factor-alpha is involved in mouse growth and lymphoid tissue development. *J Exp Med*, 1992: 176, S.1259-64
- 30 Dudenhausen JW, Schneider HPG: *Frauenheilkunde und Geburtshilfe*. 1. Auflage Berlin, W de Gruyter, 1994: S.166-169
- 31 Elenkov IJ, Wilder RL, Bakalov VK, Link AA, Dimitrov MA, Fisher S, Crane M, Kanik KS, Chrousos GP: IL-12, TNF-ALPHA and hormonal changes during late pregnancy and early postpartum: Implications for autoimmune disease activity during these times. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001: 86, S.4933-4938
- 32 Fang Q, Xiang K, Lu J: The mechanism of tumor necrosis factor-alpha induced insulin resistance by variation in promoter region of TNF-ALPHA-alpha gene. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 1999: 79, S.343-5
- 33 Feingold KR, Adi S, Staprans I, Moser AH, Neese R, Verdier JA, Grunfeld C: Diet affects the mechanisms by which TNF stimulates hepatic triglyceride production. *Am J Physiol*, 1990: 259, S.E177-84
- 34 Fernandez-Real JM, Broch M, Ricart W, Casamitjana R, Gutierrez C, Vendrell J: Plasma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance. *Diabetes*, 1998: 47, S.1757-62

- 35 Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, Casamitjana R, Fernandez-Castaner M, Vendrell J, Richart C, Soler J: The TNF-ALPHA-alpha gene Nco I polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat and increased serum leptin levels, *Diabetes* . 1997: 46, S.1468-72
- 36 Garaulet M, Perex-Llamas F, Fuente T, Zamora S, Tebar FJ: Anthropometric, computed tomography and fat cell data in an obese population:relationship with insulin, leptin, tumor necrosis factor-alpha, sex hormone-binding globulin and sex hormones . *Eur J Endocrinol.*, 2000: 143, S.657-66
- 37 Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Hancock JA, Golichowski AM: Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes.Heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters. *Diabetes*, 1993: 42, S.1773-85
- 38 Green A, Dobias SB, Walters DJ, Brasier AR: Tumor necrosis factor increases the rate of lipolysis in primary cultures of adipocytes without altering levels of hormone-sensitive lipase. *Endocrinology*, 1994: 134, S.2581-8
- 39 Gucer F, Balkanli-Kaplan P, Yuksel M, Sayin NC, Yuce MA, Yardim T: Maternal serum levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-2 receptor in threatened abortion:a comparison with normal and pathologic pregnancies. *fertil Steril.*, 2001: 76, S.707-11
- 40 Hauner H, Petruschke T, Russ M, Rohrig K, Eckel J: Effects of tumor necrosis factor-alpha on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. *Diabetologia*, 1995: 38, S.764-71
- 41 Heinig J, Wilhelm S, Muller H, Briese V, Bittorf T, Brock J: Determination of Zytokine mRNA-expression in term human placenta of patients with gestational hypertension, intrauterin growth retardation and gestational diabetes mellitus using polymerase chain reaction. *Zentralbl Gynäkol.*, 2000: 122, S.413-8

- 42 Heyborne KD, Witkin SS, McGregor JA: tumor necrosis factor-alpha in midtrimester amniotic fluid is associated with impaired intrauterine fetal growth. *Am J Obstet Gynecol.*, 1992: 167, S.920-5
- 43 Holcberg G, Huleihel M, Sapir O, Katz M, Tsadkin M, Furman B, Mazor M, Myatt L: Increased production of tumor necrosis factor-alpha by IUGR human placentae. *Eur J of Obstet and Gynecol.*, 2001: 94, S.69-72
- 44 Holzgreve W, Jonat W, Schneider K-T, Weiss JM: Diabetes. Hrsg.: Diedrich K: *Gynäkologie und Geburtshilfe*. 1. Auflage Heidelberg, Springer-Verlag, 2000: S.339-341
- 45 Hotamisligil GS: Mechanism of TNF-ALPHA-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1999: 107, S.119-25
- 46 Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelmann BM: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 1995: 95, S.2409-15
- 47 Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelmann BM: Tumor necrosis factor-alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci*, 1994: 91, S.4854-8
- 48 Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelmann BM: Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha:direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 1993: 259, S.87-91
- 49 Hotamisligil GS, Spiegelmann BM: Tumor necrosis factor alpha:key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes*, 1994: 43, S.1271-8
- 50 Hunt JS, Chen HL, Hu XL, Tabibzadeh S: tumor necrosis factor-alpha messenger ribonucleid acid and protein in human endometrium. *Biol Reprod*, 1992: 47, S.141-7
- 51 Ito H, Ohshima A, Tsuzuki M, Ohto N, Takao K, Hijii C, Yanagawa M, Ogasawara M, Nishioka K: Association of serum tumour necrosis factor-alpha with serum low density lipoprotein-cholesterol and blood pressure in apparently healthy japanese women. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 2001: 28, S.188-92

- 52 Jaattela M, Kuusela P, Saksela E: Demonstration of tumor necrosis factor in human amniotic fluids and supernatants of placental and decidual tissues. *Lab Invest*, 1988: 58, S.48-52
- 53 Kainulainen H, Jarvinen T, Heinonen PK: Placental glucose transporters in fetal intrauterine growth retardation and macrosomia. *Gynecol Obstet Invest*, 1997: 44, S.89-92
- 54 Kalabay L, Cseh K, Pajor A, Baranyi E, Csakany GM, Melczer Z, Speer G, Kovacs M, Siller G, Karadi I, Winkler G: Correlation of maternal serum/alpha2-HS-glycoprotein concentration with maternal insulin resistance and anthropometric parameters of neonates in normal pregnancy and gestational diabetes. *Eur J of Endocrinology*, 2002: 147, S.243-248
- 55 Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Urakawa H, Morioka K, Kitagawa N, Tanaka T, Araki-Sasaki R, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi A: Quicki is useful for following improvements in insulin sensitivity after therapie in patients with type 2 diabetes mellitus. *J of Clinical Endocrinology*, 2002: 87, S.2906-2908
- 56 Kautzky-Willer A, Prager R, Waldhausl W, Pacini G, Thomaseth K, Wagner OF, Ulm M, Strelci C, Ludvik B: Pronounced insulin resistance and inadequate beta-cell secretion characterize lean gestational diabetes during and after pregnancy. *Diabetes Care*, 1997: 20, S.1717-23
- 57 Kawakami M, Cerami A: Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase activity. *J. Expl Med*, 1981: 154, S.631-637
- 58 Kawakami M, Cerami A: Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase act. *J Exp Med*, 1981: 154, S.631-9
- 59 Kellerer M, Rett K, Renn W, Groop L, Haring HU: Circulating TNF-ALPHA-alpha and leptin levels in offspring of NIDDM patients do not correlate ti individual insulin sensitivity. *Horm MetabRes*, 1996: 28, S.737-43

- 60 Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. Hrsg.: The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss and relationship to lipoprotein lipase: Band J Clin Invest, 1995: 95, S. 2111-9
- 61 King H: Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. Diabetes Care, 1998: 2B, 9-13
- 62 Kirwan JP, Hauguel-de Mouzon S, Lepercq J, Challier JC, Huston-Presley L, Friedman JE, Kalhan SC: Catalano PMTNF -ALPHA-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. Diabetes, 2002: 51, 2207-2213
- 63 Kirwan JP, Huston-Prestley L, Kalhan SC, Catalano PM: Clinically useful estimates of insulin sensitivity during pregnancy. Diabetes care, 2001: 9, 1602-1607
- 64 Kramer MD: Immunologie und Immunpathologie: 1. Auflage, Stuttgart Ferdinand Enke Verlag, 1997: 143
- 65 Kupfermanc MJ, Peaceman AM, Wigton TR, Tamura RK, Rehnberg KA, Socol M: LImmunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. Am J Obstet Gynecol, 1994: 17, 1976-9
- 66 Laham N, Brennecke SP, Bendtzen K, Rice GE: Tumour necrosis factor alpha during human pregnancy and labour: maternal plasma and amniotic fluid concentration and release from intrauterine tissues. Eur J Endocrinol, 1994: 131, 607-14
- 67 Liban E, Salzberger M: A prospective clinocopathological study of 1. 108 cases of antenatal fetal death. Isr. J Med Sci, 1976: 12, 34-44
- 68 Löfgren P, van Harmelen V, Reynisdottir S, Näslund E, Ryden M, Rössner S, Arner P: Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue. Diabetes, 2000: 688-92
- 69 Maier RF, Böhme K, Dudenhausen JW, Obladen M: Cord blood erythropoietin in relation of different markers of fetal hypoxia. Obstet Gynecol, 1993: 81, 575-580

- 70 Mantzoros CS, Moschos S, Avramopoulos I, Kaklamani V, Liolios A, Doulgerakis D, Griveas I, Katsilambros N, Flier JS: Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor-alpha system in humans. *J Clin Endocrinol and Metabol*, 1997: 103, 408-13
- 71 Melczer Z, Banhidy F, Csomor S, Kovacs M, Siklos P, Winkler G, Cseh K: Role of tumour necrosis factor-alpha in insulin resistance during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2002: 1057-10
- 72 Melczer Z, Banhidy F, Csömör S, Toth P, Kovacs M, Winkler G, Cseh K: Influence of leptin and the TNF-ALPHA system on insulin resistance in pregnancy and their effects on anthropometric parameters of newborns. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 2003: 82, 432-438
- 73 Moller DE, Potential role of TNF-ALPHA-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2000, 11, 212-7
- 74 Morin CL, Gayles EC, Podolin DA, Wei Y, Xu M, Pagliassotti: Adipose tissue derived tumor necrosis factor activity correlates with fat cell size but not insulin action in aging rats. *Endocrinology*, 1998: 12, 4998-5005
- 75 Mueller-Eckhardt G, Mallmann P, Neppert J, Lattermann A, Melk A, Heine O, Pfeiffer R, Zingsem J, Domke N, Mohr-Pennert A: Immunogenetic and serological investigations in nonpregnancy and in pregnant women with a history of recurrent spontaneous abortions. German RSA/IVIG Study Group *J Reprod Immunol*, 1994: 27, 95-109
- 76 O`Sullivan J, Mahan C: Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes*, 1964: 13, 278-285
- 77 Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R: Effects of an engineered human anti-TNF-ALPHA-alpha antibody on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes*, 1996: 45, 881-5
- 78 Okuno S, Akazawa S, Yasushi I, Kawasaki E, Matsumoto K, Yamasaki H, Matsuo H, Yamaguchi Y, Nagataki S: Decreased expression of the GLUT4 glucose transporter protein in adipose tissue during pregnancy. *Horm Metab Res*, 1995: 27, 231-4

- 79 Pampfer S, Vanderheyden I, Wuu YD, Baufays L, Maillet O, De Hertogh R: Possible role for TNF-ALPHA-alpha in early embryopathy associated with maternal diabetes in the rat. *Diabetes*, 1995: 44, 531-6
- 80 Paolisso G, Rizzo MR, Mazziotti G, Tagliamonte MR, Gambardella A, Rotondi M, Carella C, Giugliano D, Varricchio M, D'Onofrio F: Advancing age and insulin resistance:role of plasma tumor necrosis factor-alpha. *Am Physiol Society*, 1998: 294-99
- 81 Peraldi P, Spiegelmann: BTNF-ALPHA-alpha and insulin resistance:summary and future prospects *Molecular and Cellular. Biochemistry*, 1998: 18, 2169-75
- 82 Peter H, Pichler WJ: Proinflammatorische Enzyme. *Klinische Immunologie*. 2.Auflage
- 83 Phillips TA, Ni J, Hunt JS. Death-inducing tumour necrosis factor (TNF-ALPHA) superfamily ligands and receptors are transcribed in human placenta, cytotrophoblasts, placental macrophages and placental cell line. *Placenta*, 2001: 22, 663-72
- 84 Pierce BT, Pierce LM, Wagner RK, Apodaca CC, Hume RF Jr, Nielson I, Calhoun BC: Hypoperfusioncauss increased production of interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in the isolated, dually perfused placental cotyledon. *Am J Obstet Gynecol*, 2000: 183, 863-7
- 85 Pierce TP, Napolitano PG, Pierce LM, Apodaca CC, Hume RF, Calhoun BC: The effects of Hypoxia and hyperoxia on fetal-placental vascular tone and inflammatory Zytokine production, 2001: 21. Annual Meeting of the Society for maternal-fetal Medicine, 5.-10.2.2001
- 86 Pincelli AI, Brunani A, Scacchi M, Dubini A, Borsotti R, Tibaldi A: The serum concentration of tumor necrosis factor alpha is not an index of growth hormone or obesity-induced insulin resistance. *Hormone research*, 2001: 55, 57-64
- 87 Prins JB, Niesler CU, Winterford CM, Bright NA, Siddle K, O`Rahilly S, Walker NI, Cameron DP: Tumor necrosis factor-alpha induces apoptosis of human adipose cells. *Diabetes*, 1997: 46, 1939-44

- 88 Rossi G, Sherwin RS, Penzias AS, Lapaczewski P, Jacob RJ, Shulman G, Diamond MP: Temporal changes in insulin resistance and secretion in 24-h-conscious pregnant rats. *Am J Physiol*, 1993: 265, E845-51
- 89 Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA: The expression of TNF-ALPHA alpha by human muscle: Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest*, 1996: 97, 1111-6
- 90 Saksela E, Jaattela M: Tumor necrosis factor in the human fetoplacental unit. *Int J Dev Biol*, 1989: 33, 173-6
- 91 Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R, Cohn ZA, Kaplan G: Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor-alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med*, 1991: 173, 699-703
- 92 Schiff E, Friedman SA, Baumann P, Sibai BM, Romero R: Tumor necrosis factor-alpha in pregnancies is associated with preeclampsia or small-for-gestational-age newborns. *Am J Obstet Gynecol*, 1994: 170, 1224-9
- 93 Schlierf, G: *Fettstoffwechsel, Siegenthaler, Walter: Klinische Pathophysiologie 6* Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1987:169
- 94 Semb H, Peterson J, Tavernier J, Olivecrona T: Multiple effects of tumor necrosis factor on lipoprotein lipase in vivo. *J Biol Chem*, 1987: 262, 8390-4
- 95 Sethi JK, Hotamisligil GS: The role of TNF-ALPHA alpha in adipocyte metabolism. *Cell and Developmental Biology*, 1999: 10, 19-29, www.idealibrary.com
- 96 Sewter CP, Digby JE, Blows F, Prins J, O`Rahilly S: Regulation of tumor necrosis factor-alpha release from human adipose tissue in vitro. *J Endocrinol*, 1999: 163, 33-8
- 97 Shaarawy M, Nagui AR: Enhanced expression of cytokines may play a fundamental role in the mechanisms of immunologically mediated recurrent spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 1997: 76, 205-11
- 98 Skoog T: Tumour necrosis factor polymorphism -857C/A and 863C/A are associated with TNF-ALPHA secretion from human adipose tissue. *Diabetologia*, 2001: 44, 654-655

- 99 Spong CY, Scherer DM, Ghidini A, Pezzullo JC, Salafia CM, Eglinton GS: Midtrimester amniotic fluid tumor necrosis factor-alpha does not predict small-for gestational-age infants. *Am J Reprod Immunol*, 1997: 37, 236-9
- 100 Stallmach T, Hebisch G, Joller-Jemelka HI, Orman P, Schwaller J, Engelmann M: Zytokine production and visualized effects in the fetomaternal unit. Quantitative and topographic data on Zytokines during intrauterine disease. *Lab Invest.*, 1995: 73, 384-92
- 101 Steinborn A, Gunes H, Halberstadt E: Signal for term parturition is of trophoblast and therefore of fetal origin. *Prostaglandines*, 1995: 50, 237-52
- 102 Steinborn A, Niederhut A, Solbach C, Hildenbrandt R, Sohn C, Kaufmann: Zytokine release from placental endothelial cells, a process associated with preterm labour in the absence of intrauterine infection. *Zytokine*, 1999: 11, 66-73
- 103 Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ: Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrinol Rev*, 1999: 20, 345-57
- 104 Tamura RK, Sabbayha RE: Percentile ranks of sonar fetal abdominal circumference measurements. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1980: 13, 8475-9
- 105 Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil G: Sprotection from obesity-induced insulin resistance in mice lack TNF-ALPHA-alpha function. *Nature*, 1997: 389, 610-4
- 106 Weiss P, Walcher W, Scholz H: Der vernachlässigte Gestationsdiabetes: Risiken und Folgen Geburtshilfe und Frauenheilkunde. 1995: 35-544
- 107 Winkler G, Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Speer G, Hajos P, Salamon F, Turi Z, Kovacs M, Vargha P, Karadi I: Tumor necrosis factor system in insulin resistance in gestational diabetes *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2002: 56, 93-99 108 Xu H, Hirosumi J, Uysal T, Guler D, Hotamisligil GS: Exclusive action of transmembrane TNF-ALPHA in adipose tissue leads to

reduced adipose mass and local but not systemic insulin resistance.
Endocrinology, 2002: 143, 1502-1511

- 109 Yui J, Garcia-Lloret M, Wegmann TG, Guilbert LJ: Cytotoxicity of tumour necrosis factor-alpha and gamma-interferon against primary human placental trophoblasts. Placenta, 1994: 15, 819-35
- 110 Zicari A, Ticconi C, Realacci M, Cela O, santangelo C, Pietropolli A, Russo MA, Piccione E: Hormonal regulation of Zytokine release by human fetal membranes at term gestation: effects of oxytocin, hydrocortisone and progesterone on tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta 1 output. Journal of Reproductive Immunology, 2002: 56, 123-136
- 111 Zolti M, Ben-Rafael Z, Meirum R, Shemesh M, Bider D, Mashiach S, Apte RN: Zytokine involvement in oocytes and early embryos. Fertil Steril., 1991: 56, 265-72

Danksagung

Ich danke Fr. Priv.-Doz. Dr. med. Ute Schäfer-Graf für das Thema und die Betreuung, Fr. U. Stein, Fr. M. Menze und Fr. M. Marksteiner für die Mitarbeit und Hilfe im Labor sowie Fr. Dobratz für die Hilfe bei der endgültigen Fertigstellung. Meinem Lebensgefährten Roger Sturm danke ich für die Unterstützung und das immer währende Mitgefühl, meiner Familie für die Voraussetzung und das Ermuntern.

Tatjana Dessoy

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Erklärung

Ich, Tatjana Dessoy, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema : ``Einfluss von TNF-Alpha auf Schwangerschaften kompliziert durch Gestationsdiabetes`` selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

28.04.2008

Tatjana Dessoy