

4. Diskussion

4.1. Der Extravillöse Trophoblast (EVT) im Zentrum der Pathogenese der Präeklampsie

In der vorliegenden Arbeit wurde der Schwerpunkt auf den EVT gelegt. Zum besseren Verständnis für diese Fokussierung, folgt eine kurze Beschreibung der komplexen Organarchitektur.

Die Chorionzotte bildet den wesentlichen Bauteil der Plazenta. Jede Zotte besteht im Kern aus Bindegewebe, dem Zottenstroma, das fetale Blutgefäße und massenhaft Makrophagen, die Hofbauerzellen, enthält. Nach außen folgt eine Basalmembran, der die Zytotrophoblasten-Stammzelle, die Langerhans-Zelle, aufsitzt. Der Differenzierungsweg, den diese Progenitorzellen einschlagen, ist abhängig von ihrer Lokalisation. An der Zottenoberfläche differenzieren sie durch Kontakt mit mütterlichem Blut aus dem intervillösen Raum zu multinukleären Synzytiotrophoblasten. Haftzotten verankern den Zottenbaum im mütterlichen Gewebe, der Dezidua. An ihrer Spitze lösen sich die zytotrophoblastischen Stammzellen von der Basalmembran ab und bilden Zellsäulen aus mononukleären Zellen, den extravillösen Trophoblasten, die in den Uterus einwandern (Benirschke and Kaufmann, 2000). Auf ihrem Invasionsweg verhalten sich die EVT zunächst wie Tumorzellen (Muhlhauser, et al., 1993). Die Zellen differenzieren dabei von einer basalmembrannahen, proliferativen Stammzelle hin zum basalmembranfernen, invasiven Phänotyp. Ein Teil dieser EVT invadiert auch endovaskulär in die Spiralarterien. Die invasiven extravillösen Trophoblasten ersetzen in den Spiralarterien sowohl das mütterliche Endothel als auch Teile der muskulären Gefäßwand. Durch die resultierende Gefäßweitstellung, wird eine ausreichende fetale Blutversorgung während der Schwangerschaft gewährleistet (Brosens, et al., 1967).

Dieser ungewöhnlichen Prozess der epithelial-endothelialen Transformation wird von manchen Autoren als Pseudovaskulogenese bezeichnet (Damsky and Fisher, 1998). Mehrere der folgenden Faktoren beeinflussen die Invasivität des EVT:

Auf ihrem Invasionsweg kommt es bei den extravillösen Trophoblasten zu einem Austausch von Adhäsionsmolekülen auf der Zelloberfläche, auch Integrinswitch genannt (Damsky, et al., 1994). Die basalmembrannahen, proliferativen Trophoblasten exprimieren Adhäsionsmoleküle vom epithelialen Typ, $\alpha 3 \beta 1$ und

$\alpha 6 \beta 4$ Integrin (Damsky, et al., 1992). Während der Invasion werden diese epithelialen Rezeptoren durch Adhäsionsmoleküle vom interstitiellen Typ wie $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha 1 \beta 1$, $\alpha v \beta 1$ -Integrin (Damsky, et al., 1992, Damsky, et al., 1994) und vom endothelialen Typ wie Vascular-endothelial-cadherin, $\alpha v \beta 3$ -Integrin, Platelet-endothelial-cell-adhesion-molecule-1 und Vascular-cell-adhesion-molecule-1 ersetzt (Zhou, et al., 1997).

EVT sezernieren, auf ihrem Invasionsweg von den Zellsäulen in das Plazentabett zur Auflösung der extrazellulären Matrix, verschiedene Proteasen. Dazu gehören z. B. die Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) sowie ihre Inhibitoren, die Tissue-Inhibitors-Of-Metalloproteinases (TIMPs) (Benirschke and Kaufmann, 2000). In vitro förderte die Expression and Aktivierung der MMP-9 die EVT-Invasivität (Librach, et al., 1991). Diese Metalloproteinase spielt auch eine Schlüsselrolle in der Angiogenese (Vu, et al., 1998). Bei invasiven EVT findet sich eine apolare Sekretion von extrazellulärer Matrix sowie eine vermehrte Produktion der MMP-2 und MMP-11 (Benirschke and Kaufmann, 2000). Es wird vermutet, dass andere Proteasen oder Inhibitoren, wie der Urokinase-Plasminogen-Activator, der aktivierte Thrombinrezeptor und der Plasminogen-Activator-Inhibitor-Type 1, von EVT sezerniert werden, um während der endovaskulären Invasion eine antithrombogene Oberfläche gegenüber dem mütterlichen Blut zu schaffen (Fisher, 2000).

Zusätzlich kommt es während der Trophoblasteninvasion zu einer Immunadaptation (Fisher, 2000). Invadierende EVT exprimieren dazu auf ihrer Zelloberfläche vermehrt Moleküle, die es ihnen ermöglichen, dem mütterlichen Immunsystem zu entgehen. Dazu gehört die Expression eines speziellen Oberflächenantigens, dem HLA-G der MHC-1b Klasse (Ellis, et al., 1990) (Kovats, et al., 1990), als auch die Produktion von IL-10, einem potenten immunsuppressiven Zytokin (Roth, et al., 1996).

Die funktionelle Bedeutung dieses beschriebenen Transformationsprozesses des EVT wird durch die Tatsache verdeutlicht, dass eine fehlerhafte Transformation zu schwangerschaftsbedingten Erkrankungen, wie der Präeklampsie und der IUGR, führen können (Caniggia, et al., 2000, Genbacev, et al., 1996, Reister, 1998).

Pathophysiologisch kommt es bei der Präeklampsie zu einer generellen endothelialen Dysfunktion mit Bluthochdruck, Proteinurie und Ödemen (Roberts, et al., 1989). Ursächlich dafür ist eine mangelhafte Invasion der extravillösen Trophoblasten (Reister, 1998). Der umspülte Zottenbaum ist kaum von Veränderungen betroffen. Vor allem die endovaskuläre Invasion zum Umbau der Spiralarterie ist stark vermindert (Brosens, et

al., 1972, Brosens, et al., 2002, Kam, 1999 #41). Diese morphologischen Defekte (mangelnde Invasion) lassen eine mangelnde Trophoblastendifferenzierung bei Präeklampsie vermuten (Genbacev, et al., 1996). Die epitheliale-endotheliale Transformation, der die invasiven EVT unterliegen, ist unzureichend (Zhou, et al., 1997). So konnte durch Biopsien aus der Uteruswand von Patientinnen mit Präeklampsie gezeigt werden, dass die endovaskulären Trophoblasten weiterhin Adhäsionsmoleküle der zytotrophoblastischen Stammzellen exprimieren und nicht dem oben beschriebenen Integrinswitch unterliegen (Zhou, et al., 1993, Zhou, et al., 1997).

Auf der Suche nach möglichen Faktoren, die zu einer mangelhaften Trophoblasteninvasion führen, spielen Wachstumsfaktoren eine übergeordnete Regulatorfunktion (Übersicht bei (Benirschke and Kaufmann, 2000), siehe auch Tabelle 3 in der Einleitung). In mehreren Untersuchungen konnte der Einfluss von Wachstumsfaktoren der EGF-Familie und deren Rezeptoren auf die Differenzierung der EVT gezeigt werden (Hofmann, et al., 1992, Morrish, et al., 1998, Muhlhauser, et al., 1993).

Es wird daher vermutet, dass möglicherweise über eine veränderte Wachstumsfaktorrezeptorexpression während der Schwangerschaft die Trophoblastendifferenzierung und somit auch die Trophoblasteninvasionseigenschaften gesteuert werden könnte. Dazu erfolgte der immunhistochemische Nachweis aller vier bekannten EGF-Rezeptoren (HER-1 bis 4) an Plazenten von Patientinnen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen im Vergleich zu Plazenten von unauffälligem Schwangerschaftsverläufen. Beurteilt wurde in der vorliegenden Arbeit nur der fetale Plazentaanteil. Die Auswertung erfolgte ausschließlich an extravillösen Trophoblasten und an seinen unterschiedlichen Lokalisationen innerhalb der Plazenta: Chorionplatte, Zellinseln Septen, Zellsäulen und Basalplatte. Die endovaskulären Trophoblasten in den Spiralarterien, welche sich hauptsächlich im maternalen Plazentaanteil finden, konnte nicht dargestellt werden (siehe auch Kapitel 4.6.).

4.2. HER-1-Expression in EVT

4.2.1.1. Die Expression von HER-1 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen

In ausgereiften Plazenten von unkomplizierten Schwangerschaften wies HER-1 in den EVT hauptsächlich eine Membranfärbung auf. Diese Membranfärbung war gegenüber der starken membranösen HER-1-Expression am villösen Synzytiotrophoblasten deutlich schwächer. Im Bereich der Chorionplatte war die HER-1-Expression generell nur schwach ausgeprägt (77,8%, 42/54). In den übrigen Lokalisationen überwogen die mittleren Färbungen. Nur im Bereich der Zellsäulen fiel vermehrt eine stark positive HER-1-Expression (39,4%, 13/33) auf. Fasste man die Merkmalsausprägung der HER-1-Expression zu „positiv“ und „negativ“ zusammen, so waren nur in den Zellsäulen ($p = 0,012$) und in den Septen ($p = 0,04$) signifikant häufiger positive HER-1-Membranexpressionen als negative vorhanden (Binominal-Test).

In allen Lokalisationen des EVT (Chorionplatte, Zellinseln, Septen, Zellinseln und Basalplatte) war auch eine schwache zytosolische HER-1-Expressionen nachweisbar, wobei wiederum in den Zellsäulen und Septen mehr als 80% der Präparate eine schwache zytosolische HER-1-Färbung aufwiesen.

Die stärkste HER-1-Expression (sowohl membranös als auch zytosolisch) zeigte HER-1 in den Zellsäulen und Septen, in denen physiologischerweise die Invasion in das mütterliche Gewebe eingeleitet wird. Wir vermuten daher, dass HER-1 in diesen Bereichen bei der Regulation der Trophoblasteninvasion eine zentrale Rolle spielen könnte.

Diese Beobachtung stimmt sehr gut mit anderen Untersuchungen überein. Mülhauser und Crescimanno (Mühlhauser, et al., 1993) untersuchten Plazenten des ersten Trimenons (7.-12. SSW) von legalen Schwangerschaftsabbrüchen und des 3. Trimenons von unkomplizierten Schwangerschaften. Sie beschrieben die Expression von EGF-R (HER-1) im Zusammenhang mit Ki67, einem Proliferationsmarker, im EVT in Zellsäulen und Zellinseln. HER-1 verursachte hier ausschließlich eine Membranfärbung. In den EVT deckte sich das Expressionsmuster von Ki67 mit dem von HER-1. Dabei waren EVT, die nahe zum Zottenstroma lagen, besonders stark positiv. Mit zunehmendem Abstand und somit zunehmender Invasion nahm die Färbung kontinuierlich ab.

Die gleiche Beobachtung konnte in der vorliegenden Arbeit gemacht werden. Die Membranfärbung nahm bei weiter in das mütterliche Gewebe invadierten EVT ab. In der Basalplatte wiesen 55,3% (26/47) der Fälle keine HER-1-Expression auf gegenüber nur 9,1% (3/33) in den Zellsäulen und 32,5% (13/40) in den Septen.

Bei der Untersuchung ausgereifter Plazenten fanden Mülhauser und Castellucchi für Ki67 nur noch vereinzelt positive Zellen. Im gleichen Maß verringerte sich die HER-1 Expression. Dies lässt vermuten, dass HER-1 die Proliferation der EVT fördert und am Anfang der Trophoblastendifferenzierung die Invasion einleitet (Mühlhauser, et al., 1993). Diese Beobachtung könnte auch die generell schwache membranöse HER-1 Expression in den hier untersuchten ausgereiften Plazenten erklären.

Hofmann et al. 1992 führte immunhistochemische Färbungen von EGF und HER-1 an Schwangerschaftsprodukten des ersten Trimenons (6-8. SSW) von ektopen Schwangerschaften durch. In dieser Studie konnte erstmals die gemeinsame Expression von EGF und HER-1 am EVT in der Frühschwangerschaft demonstriert werden. Die EGF-Expression war hauptsächlich zytosolisch aber auch vereinzelt an der Zellmembran zu finden. HER-1 hingegen zeigte hauptsächlich eine membranöse neben einer leichten zytosolischen Expression. Die Autoren vermuteten, dass membran gebundenes EGF mit HER-1 von benachbarten Zellen, wie EVT, Deziduazellen und Myometrium, interagieren kann. Über eine autokrine / parakrine Stimulation könnte somit die Invasion in die Dezidua und das Myometrium eingeleitet und gesteuert werden (Hofmann, et al., 1992).

Durch die in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls beobachtete überwiegend leichte zytoplasmatische Färbung von HER-1, ist es unwahrscheinlich, dass es sich um eine unspezifische methodenbedingte Hintergrundreaktion handelt. Die vorgestellten Daten zeigen, dass die zytoplasmatische Färbung am stärksten in Bereich der Invasionszonen, den Zellsäulen und Septen ausgeprägt war. DePalo et al wies in diesem Zusammenhang darauf hin, dass EGF in kultivierten humanen Zytotrophoblasten die Synthese des EGF-R stimuliert (DePalo and Das, 1988).

All diese Beobachtungen zeigen, dass HER-1 beim EVT die Invasion einleitet. Die stärkste HER-1 Expression konnten wir in den Zellsäulen beobachten, wo die Trophoblasteninvasion ihren Ausgang nimmt. Die allgemein eher schwache Markierung in EVT lässt sich auf das fortgeschrittene Schwangerschaftsalter zurückführen. Den grössten Einfluss auf den EVT hat HER-1 nach Datenlage wahrscheinlich am Ende des 1. Trimenons, wo die endovaskuläre Invasion der EVT eingeleitet wird.

4.2.2. Die Expression von HER-1 in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (HSE)

Beim Vergleich der HER-1-Expressionsmuster vom Kontrollkollektiv zur HSE-Gruppe (Patienten) ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen. Generell waren aber in der Patientengruppe die HER-1-Membranfärbungen schwächer ausgeprägt, als in der Kontrollgruppe. Am deutlichsten waren die Unterschiede im Bereich der Septen ($p = 0,064$, Chi-Quadrat-Test). Hier war die HER-1-Membranexpression im EVT bei 58,8% (10/17) der HSE-Plazenten negativ gegenüber 67,5% (27/40) positiven HER-1-Expressionen in der Kontrollgruppe (siehe Tabelle 31 und Abb.36a).

Tabelle 31: HER 1 Membranexpression im EVT der Septen, Vergleich HSE/Kontrolle

HSE		Häufigkeit	Prozente	Kontrolle	Häufigkeit	Prozente
negativ	negativ	1	5,9	negativ	1	2,5
	schwach positiv	9	52,9	schwach positiv	12	30,0
positiv	mittel positiv	7	41,2	mittel positiv	22	55,0
	stark positiv			stark positiv	5	12,5
Gesamt		17	100	Gesamt	40	100

Dieser nicht signifikante Unterschied bei der HER-1-Membranexpression in den Septen wurde auch bei der Unterteilung der HSE-Gruppe nach Schweregrad (Kontrollgruppe/Präeklampsie/HELLP-Syndrom) festgestellt. Hier fiel sogar auf, dass die Expression von HER-1 im EVT in den Septen von der Kontrollgruppe (67,5%, 27/40, positiv) über die Präeklampsien (50%, 5/10, positiv) zu den HELLP-Syndromen (28,6%, 3/7, positiv) kontinuierlich abnahm. In den andern Lokalisationen der EVT waren diese Unterschiede geringer ausgeprägt (siehe Abb. 36a-c).

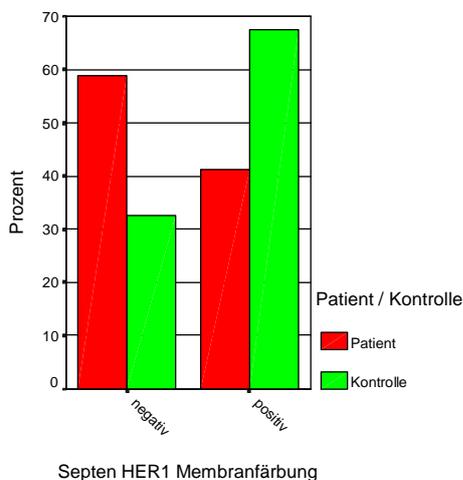


Bild a, $p=0,064$ (Chi-Quadrat-Test)

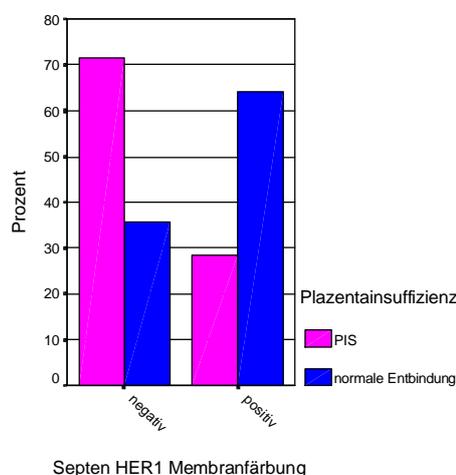


Bild b, $p=0,122$ (Chi-Quadrat-Test)

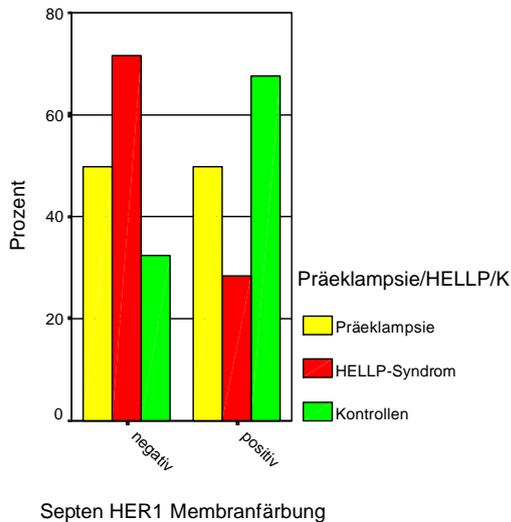


Bild c, $p=0,121$ (Chi-Quadrat-Test)

Abb.36 a-c: HER-1-Membranexpression im EVT in den Septen im Gruppenvergleich, a=Pateint/Kontrolle. b=Plazentainsuffizienz/normale Entbindung, c=Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrolle Tendenziell sind in den Kontrollgruppen die HER-1-Membranexpressionen häufiger positiv als in der Gruppe der HSE oder Plazentainsuffizienz. Wegen zu kleiner Fallzahl sind diese Unterschiede nicht signifikant. Die entsprechenden p-Werte sind unter dem jeweiligen Balkendiagramm angegeben.

Diese Beobachtung könnte bedeuten, dass bei der Präeklampsie die mangelhafte Trophoblastendifferenzierung und Invasion mit einer unzureichenden HER-1 Expression im EVT in Zusammenhang steht.

Unterschiede in der zytosolischen HER-1-Expression waren im Gruppenvergleich nicht festzustellen. In allen Gruppierungen zeigten > 20% der Fälle eine positive zytosolische Expression.

Diese Daten stehen im Gegensatz zu anderen Beobachtungen, die bei Plazenten von HSE, mit Hilfe der Radioimmunfixation, signifikant höhere EGF-R-Konzentrationen fanden, als bei normalen Schwangerschaftsverläufen. Bei dieser Untersuchung wurden allerdings nicht die EVT isoliert beobachtet (Ferrandina, et al., 1995).

Faxen et al. hingegen bestimmte das mRNA-Expressionsmuster von HER-1 in Plazenten mit Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) im Vergleich zu unauffälligen Schwangerschaften. In der Präeklampsie- und IUGR-Gruppe wurde zusätzlich vermehrt ein verkürztes Transkriptionsprodukt von HER-1 gefunden ohne dass bei den Präeklampsien die Menge des Vollängentranskripts erniedrigt war. Bei den IUGR's war hingegen das vollständige Gentranskript von HER-1 gleichzeitig verringert (Faxen, et al., 1998).

Die Translation des verkürzten mRNA-Produkts könnte wiederum einen fehlerhaften EGF-Rezeptor erzeugen, der z. B. durch eine verminderte Tyrosinkinaseaktivität charakterisiert ist. Da durch die Radioimmunfixation diese Rezeptorunterschiede nicht erfasst wurden, könnte dies die von Ferrandina aufgezeigte erhöhte EGF-R Konzentration bei Präeklampsie erklären. Außerdem enthielten die in dieser Arbeit untersuchten Plazenten von Patientinnen mit HSE auch Fälle mit IUGR, einer bekannten Komplikation bei HSE.

Immunhistochemische Färbungen von HER-1 bei HSE liegen in der Literatur nicht vor. Die Ergebnisse von Faxen und Mitarbeiter zeigen aber, dass sich die Unterschiede wohlmöglich schon auf der Transkriptionsebene abspielen. Eine gestörte HER-1 Transkription könnte die in dieser Arbeit beobachtete nicht signifikant verminderte HER-1 Expression bei HSE erklären (Faxen, et al., 1998).

Interessanterweise konnte in der vorliegenden Arbeit eine zunehmend verminderte HER-1-Expression abhängig vom HSE-Schweregrad festgestellt werden (siehe Abb. 36a-c). Eine verminderte HER-1 Expression könnte zu einer verminderten Trophoblasteninvasion führen und damit zu einer unterschiedlichen Ausprägung des klinischen Krankheitsbildes.

4.3. HER-2-Expression in EVT

4.3.1. Die Expression von HER-2 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen

In der Kontrollgruppe wurde die stärkste HER-2-Expression in extravillösen Trophoblasten gefunden. Im Synzytiotrophoblasten hingegen waren die Färbungen schwächer ausgeprägt. Die HER-2-Expression war membranbetont. Allerdings fand sich im EVT auch HER-2 positives Zytoplasma. Bei den Membranfärbungen wiesen die Septen die stärksten Ergebnisse auf (53,5%, 23/43, stark positiv), gefolgt von den Zellinseln (48,3%, 29/60, stark positiv), den Zellsäulen (33,3%, 13/39, stark positiv) und der Basalplatte (21,3%, 13/61, stark positiv). In den aufgezählten Lokalisationen traten in der Kontrollgruppe signifikant mehr positive HER-2-Membranexpressionen auf als negative. In der Chorionplatte war die HER-2-Expression am schwächsten ausgeprägt, mit 45% (30/66) negativen Präparaten. Hier war der Unterschied in der HER-2-Membranexpression nicht mehr signifikant ($p = 0,093$).

Im Zytosol war die HER-2-Expression in fast allen Lokalisationen bei ca. 50% der Fälle mittel positiv. Nur in der Chorionplatte, wo schon die Membranfärbung sehr schwach war, ließen sich wenige zytosolische HER-2-Färbungen (34,8%, 23/66, mittel positiv) finden. Signifikante Merkmalsausprägungen lagen hier in keiner Trophoblastenlokalisation vor.

Muhlhauser et al. beschrieb in der gleichen Studie, die zuvor schon im Rahmen der HER-1 Expression beschrieben wurde, das Expressionsmuster des c-erbB-2 Proteinprodukts (entspricht HER-2, (Muhlhauser, et al., 1993). Im EVT zeigte HER-2 im Vergleich zu HER-1 ein inverses Expressionsmuster. Dabei waren nahe zum Zottenstroma gelegene, proliferative EVT negativ. Mit zunehmender Distanz zum Stroma und somit zunehmender Invasion stieg die HER-2-Expression an.

Diese Beobachtungen konnte in der vorliegenden Arbeit nicht nachvollzogen werden. In der Basalplatte, wo die EVT am weitesten in das mütterliche Gewebe invadiert vorlagen, war die Markierung am schwächsten ausgebildet (ausgenommen von der Chorionplatte). Die stärksten Membranfärbungen traten in den Zellinseln und Septen auf. Berücksichtigt man, dass die Untersuchung an ausgereiften Plazenten durchgeführt wurde und nicht wie bei Muhlhauser an Plazenten des ersten Trimesters, könnten in diesen Lokalisationen (Zellinseln und Septen) in der ausgereiften Plazenta die EVT mit der höchsten invasiven Potenz vorliegen.

In-situ-Hybridisationsanalysen der c-erbB-2-RNA fanden hingegen in allen EVT, unabhängig von ihrer Lokalisation, ein homogenes HER-2-Expressionsmuster (Muhlhauser, et al., 1993). Die Autoren vermuteten, dass obwohl große Mengen cRNA in proliferativen EVT vorhanden sind, die Translation zum HER-2 nur stattfindet, wenn die Zellen einen höheren Differenzierungsgrad erreicht haben. Sie schlussfolgern daher, dass HER-2 vor allen bei der Trophoblastendifferenzierung eine große Rolle spielt und im Gegensatz zu HER1 nicht bei der Proliferation.

Die Beobachtungen einer reziproken Expression von HER-1 und HER-2 am extravillösen Trophoblasten wurden bestätigt (Jokhi, et al., 1994). Die gleichzeitige Expression beider Rezeptoren wurde auch in dieser Studie nur am villösen Synzytiotrophoblasten festgestellt. HER-2, für den noch kein Ligand bekannt ist, dafür aber die stärkste Kinaseaktivität aufweist, ist der bevorzugte Kombinationspartner für die anderen Mitglieder der HER-Familie (Graus-Porta, et al., 1997). Am EVT scheint im

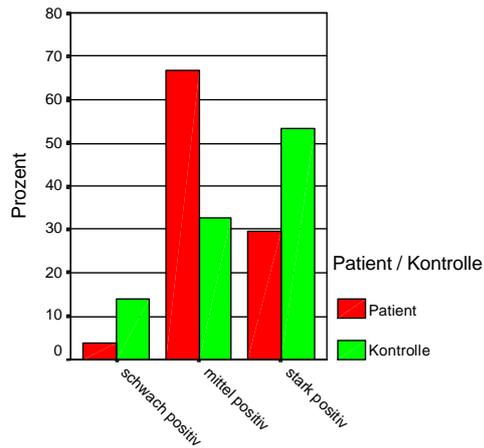
Gegensatz zum Synzytiotrophoblasten demnach eine Heterodimerbildung von HER-2 mit HER-1 keine Rolle zu spielen.

Das reziproke Expressionsmuster war auch in dieser Arbeit andeutungsweise nachvollziehbar. Die Septen mit der stärksten HER-2-Membranexpression (53,5%, 23/43, stark positiv) wiesen nur bei 12,5% (5/40) der Fälle eine starke membranöse HER-1-Expression auf. In den Zellsäulen mit der stärksten membranösen HER-1 Färbung (39,4%, 13/33, stark positiv) wiesen hingegen nur noch 33,3% (13/39) der EVT eine starke HER-2 Expression auf.

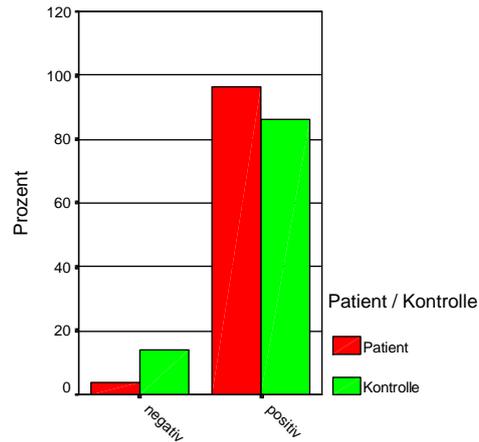
4.3.2. Die HER-2-Membranexpression in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (HSE)

Im Vergleich der Gruppen Patient (HSE)/Kontrollen fielen bei der HER-2-Membranexpression in den unterschiedlichen Lokalisationen (Chorionplatte, Zellinseln, Septen, Zellsäulen und Basalplatte) der EVT keine signifikanten Unterschiede auf. Allerdings fielen deutliche Tendenzen im Bereich der Septen, Zellsäulen und der Basalplatte auf. In diesen Lokalisationen waren in der Kontrollgruppe mehr stark positive HER-2-Membranexpressionen als in der Patientengruppe zu verzeichnen. Das Patientenkollektiv wies dafür mehr mittel- positive Ergebnisse auf.

In den Septen waren die Unterschiede bei der HER-2-Membranexpression am deutlichsten. Hier wurden in der Kontrollgruppe auffallend viele starke Färbeargebnisse (53,5%, 23/43) dokumentiert, während in der HSE-Gruppe die mittel positiven HER-2-Membranexpressionen am häufigsten vertreten (66,7%, 18/27) waren (siehe Abb. 37 links). Wegen zu kleiner Fallzahl, ließ sich mittels der Kreuztabellen keine Signifikanz berechnen. Fasst man jedoch die HER-2-Färbeausprägungen zu positiv oder negativ zusammen (negativ und schwach positiv ergaben negativ, mittel positiv und stark positiv ergaben positiv), so ließen sich keine Unterschiede mehr in der membranösen HER-2-Expression zwischen HSE und Normalkollektiv nachweisen. Es wiesen über 80% der EVT in beiden Gruppen eine positive HER-2-Expression an der Zellmembran auf (siehe Abb. 37 rechts).



Septen HER2 Membranfärbung



Septen HER2 Membranfärbung 2

Abb.37: HER-2 Membranexpression in EVT in den Septen im Vergleich Patient (HSE)/Kontrolle. In den Septen war die HER-2-Membranexpression in der HSE Gruppe bei differenzierter Betrachtung deutlich schwächer ausgebildet, als in der Kontrollgruppe (linkes Bild), die dort ihre stärkste Färbung aufwies. Bei Zusammenfassung der HER-2-Expression waren in beiden Gruppen > 80% der Fälle positiv (rechtes Bild).

Gleiche Ergebnisse bei der HER-2-Membranexpression, wie oben für den Gruppenvergleich HSE gegen Normalkollektiv beschrieben, fanden sich im Gruppenvergleich Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrolle (siehe Abb. 38 links). Auch hier war bei kleiner Fallzahl eine Berechnung der Signifikanz über den Chi-Quadrat-Test nicht möglich. Beim Zusammenfassen der HER-2-Färbeexpression (negativ und schwach positiv entspricht negativ, mittel positiv und stark positiv entspricht positiv) in den EVT der Septen waren keine Unterschiede zwischen den Gruppen Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrollen mehr nachweisbar (siehe Abb. 38 rechts).

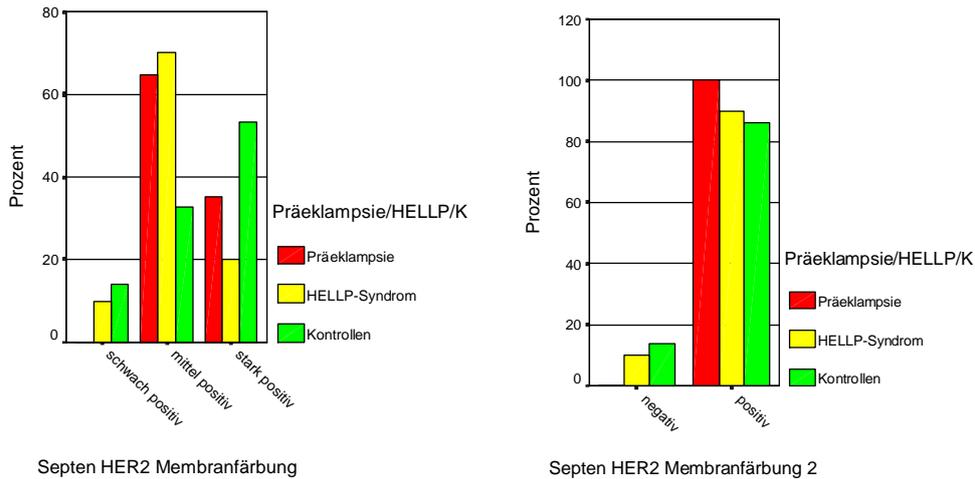


Abb.38: HER-2 Membranexpression im EVT in den Septen im Vergleich Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrollen. Bei den Präeklampsien und HELLP-Syndromen überwog die mittlere HER-2-Expression an der Zellmembran EVT im Gegensatz zur Kontrolle, bei der eine starke HER-2-Expression überwog (links). Bei Zusammenlegung des Zeilenmerkmals HER-2-Membranfärbung waren in allen 3 Gruppen > 80% der Fälle positiv (rechts).

Im Gruppenvergleich Plazentainsuffizienz (PIS)/normale Entbindung waren in den Septen mit 83,3% (10/12) mittel positive Membranfärbungen bei der PIS-Gruppe, gegenüber 66,7% (10/15) stark positiven Membranfärbungen bei den normalen Entbindungen, deutliche Unterschiede vorhanden (siehe Abb. 39 links). Das konnte beobachtet werden ohne dass sich aufgrund der kleinen Fallzahl Signifikanzen über den Chi-Quadrat Test berechnen ließen. Beim Zusammenfassen der HER-2-Färbeausprägung zeigten beide Gruppen in > 80% der Fälle eine positive HER-2-Membranexpression (siehe Abb. 39 rechts).

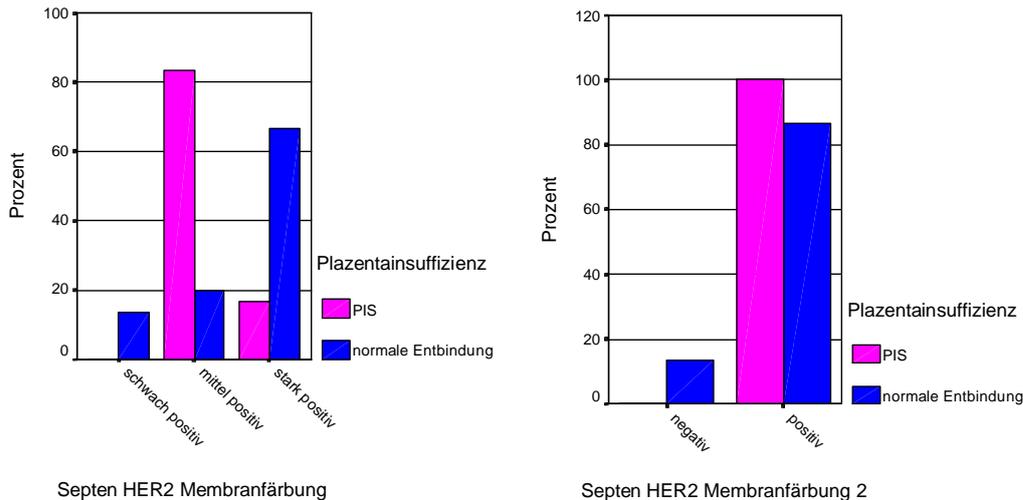


Abb.39: HER-2 Membranexpression im EVT in den Septen im Vergleich Plazentainsuffizienz/normale Entbindung. Links sind deutliche Unterschiede in der HER-2-Membranexpression zwischen PIS und normaler Entbindung zu erkennen, die rechts nach Zusammenlegung des Zeilenmerkmals HER-2-Membranfärbung aufgehoben sind.

Auch in den übrigen Lokalisationen EVT in der Plazenta (Chorionplatte, Zellinseln, Zellsäulen und Basalplatte) ließen sich zwischen den unterschiedlichen Gruppierungen (HES/Kontrollen, Präeklampsie/HELLP-Syndrom und PIS/normale Entbindung) keine signifikanten Unterschiede innerhalb der HER-2-Membranfärbung erkennen.

In allen untersuchten Plazenten ließen sich in fast allen EVT-Lokalisationen, bis auf in der Chorionplatte, signifikant (Binominal-Test) mehr positive als negative HER-2-Membranexpressionen nachweisen.

4.3.3. Die zytosolische HER-2-Expression in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen

Vergleicht man die zytoplasmatische HER-2-Expression in EVT von Plazenten gesunder Frauen mit der von HSE-Patientinnen, ließen sich Unterschiede im Bereich der Septen, Zellsäulen und der Basalplatte erkennen. Tendenziell fand sich in der HSE-Gruppe eine stärkere zytoplasmatische HER-2-Expression als in der Kontrollgruppe. Im Bereich der Septen ($p = 0,001$, Chi-Quadrat-Test, siehe Abb. 40) und im Bereich der Basalplatte ($p = 0,012$, Chi-Quadrat-Test) waren diese Unterschiede sogar signifikant.

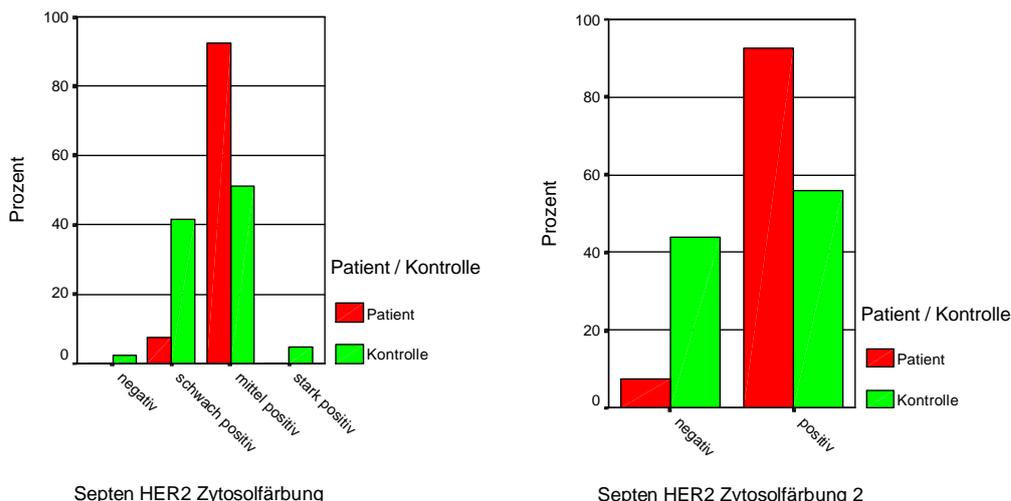
Betrachtet man die HSE- und Kontrollgruppe isoliert, wird deutlich, dass innerhalb der Patientengruppe mehr positive als negative zytosolische HER-2-Expressionen vorhanden waren. Signifikant waren diese Ergebnisse nur im Bereich der Septen ($p < 0,0001$, Binominal-Test). In der Kontrollgruppe stellten sich die HER-2-Zytosolfärbungen gleichverteilt zwischen positiver und negativer Ausprägung dar (siehe Tabelle 32 und 33).

Tabelle 32: ZytosolischeHER-2-Expression in EVT bei HSE-Patientinnen

HSE		Septen		Zellsäulen		Basalplatte	
		Häufigkeit	Prozente	Häufigkeit	Prozente	Häufigkeit	Prozente
negativ	negativ	0	0	0	0	1	3,4
	schwach positiv	2	7,4	8	34,8	8	27,6
positiv	mittel positiv	25	92,6	15	65,2	20	69,0
	stark positiv	0	0	0	0	0	0
Gesamt		27	100	23	100	29	100

Tabelle 33: Zytosolische HER-2-Expression in EVT bei gesunden Frauen

Kontrollen		Septen		Zellsäulen		Basalplatte	
		Häufigkeit	Prozente	Häufigkeit	Prozente	Häufigkeit	Prozente
negativ	negativ	1	2,3	0	0	6	9,8
	schwach positiv	18	41,9	21	53,8	30	49,2
positiv	mittel positiv	22	51,2	17	43,6	25	41,0
	stark positiv	2	4,7	1	2,6	0	0
Gesamt		43	100	39	100	61	100



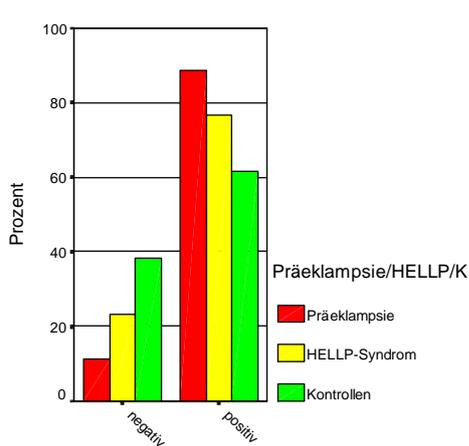
p=0,001, Chi-Quadrat-Test

Abb.40: Zytosolische HER-2-Expression in EVT in den Septen im Vergleich Patienten (HSE)/Kontrollen: Im Gruppenvergleich traten signifikante Unterschiede auf. Die HSE-Gruppe wies hochsignifikant ($p = 0,001$) mehr positive zytosolische Markierungen auf, als die Kontrollgruppe (rechts). Bei der differenzierten Betrachtung (links) liess sich der Chi-Quadrat-Test wegen zu kleiner Fallzahl nicht durchführen.

Im Gruppenvergleich Präeklampsie versus HELLP-Syndrom versus Kontrollen fiel auf, dass in den Plazenten von Präeklampsiepatientinnen die zytosolische HER-2-Expression im EVT in allen seinen Lokalisationen (Chorionplatte (CP), Zellinseln (CI), Septen (S), Zellsäulen (CC) und Basalplatte (BP)), am stärksten war (siehe Abb. 41). Wegen zu kleiner Fallzahl in den einzelnen Gruppen, wurde zur weiteren statistischen Analyse das Zeilenmerkmal „HER-2-Zytosolfärbung“ auf positive und negative Ergebnisse zusammengefasst (oben beschrieben). In der Präeklampsiegruppe wurden in allen Lokalisationen, bis auf in der Chorionplatte, signifikant mehr positive als negative zytosolische HER-2-Expressionen im EVT beobachtet (Binominal-Test, CP $p = 0,571$, CI- $p = 0,001$, S- $p = 0,001$, CC- $p = 0,003$, BP- $p = 0,001$).

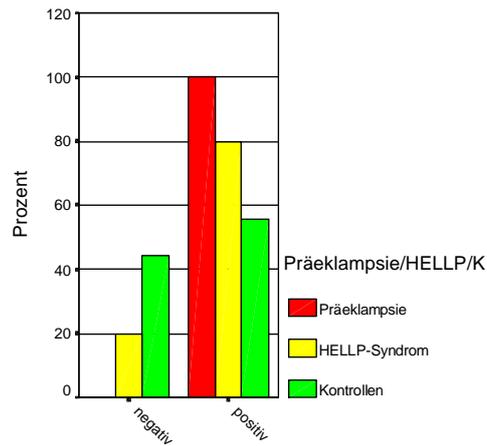
Bei den Plazenten von Frauen mit HELLP-Syndromen, war die zytosolische HER-2-Expression im EVT deutlich schwächer ausgeprägt, als bei den Präeklampsiepatientinnen (siehe Abb.:41). Das HER-2-Expressionsmuster glich dem oben für die Kontrollgruppe beschriebenen Muster. Signifikante Unterschiede zwischen positiver und negativer zytosolischer HER-2-Expression im EVT lagen beim HELLP-Syndrom nicht vor.

Signifikante Unterschiede in der zytosolischen HER-2-Expression zwischen Präeklampsien und HELLP-Syndromen bzw. Kontrollen fanden sich im Bereich der Zellinseln ($p = 0,031$, Chi-Quadrat-Test), der Septen ($p = 0,003$, Chi-Quadrat-Test), in den Zellsäulen ($p = 0,004$, Chi-Quadrat) und in der Basalplatte ($p = 0,001$, Chi-Quadrat-Test). Die EVT in Plazenten von Patientinnen mit Präeklampsie wiesen dort eine signifikant stärkere zytosolische HER-2-Expression auf, als bei den HELLP-Syndromen und den Kontrollen (siehe Abb. 41 A-D).



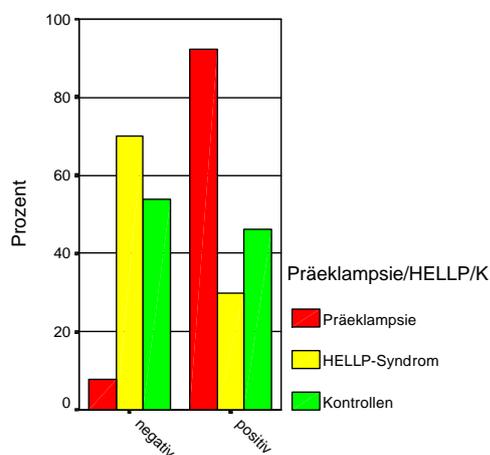
Zellinseln HER2 Zytosolfärbung 2

Bild A, $p=0,031$, Chi-Quadrat-Test



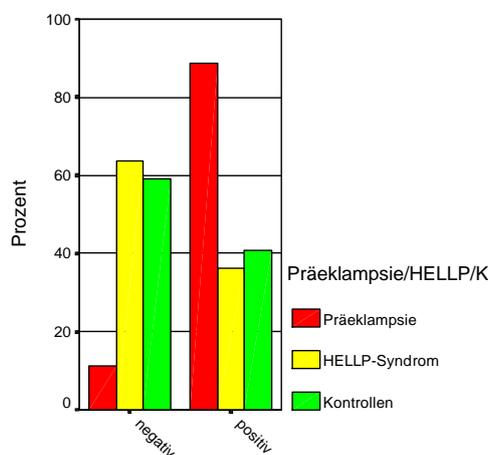
Septen HER2 Zytosolfärbung 2

Bild B, $p=0,003$, Chi-Quadrat-Test



Zellsäulen HER2 Zytosolfärbung 2

Bild C, $p=0,004$, Chi-Quadrat-Test



Basalplatte HER2 Zytosolfärbung 2

Bild D, $p=0,001$, Chi-Quadrat-Test.

Abb.41: Die Zytosolische HER-2-Expression im EVT im Vergleich Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrollen. In allen dargestellten Lokalisationen Zellinseln (A), Septen (B), Zellsäulen (C) und Basalplatte (D) waren die Unterschiede signifikant. Die Präeklampsien wiesen die stärkste zytosolische HER-2-Expression auf. Die HELLP-Syndrome wiesen im Bereich der Zellsäulen (C) und der Basalplatte (D) deutlich mehr negative Ergebnisse, auf als die Präeklampsien. Ihr zytosolisches HER-2-Expressionsmuster glich dem der Kontrollgruppe.

Vergleicht man die zytosolische HER-2-Expression im EVT von Plazenten mit histologisch gesicherter Diagnose Plazentainsuffizienz (PIS) und ortholog ausgereiften Plazenten (normale Entbindung), so war kein signifikanter Unterschied erkennbar. In beiden Gruppen fanden sich im EVT aller Lokalisationen mehr positive als negative HER-2-Expressionen (> 50%). In den Zellinseln und Septen wiesen beide Gruppen an > 80% der untersuchten Plazenten eine positive zytoplasmatische HER-2-Reaktion auf (siehe Abb 42).

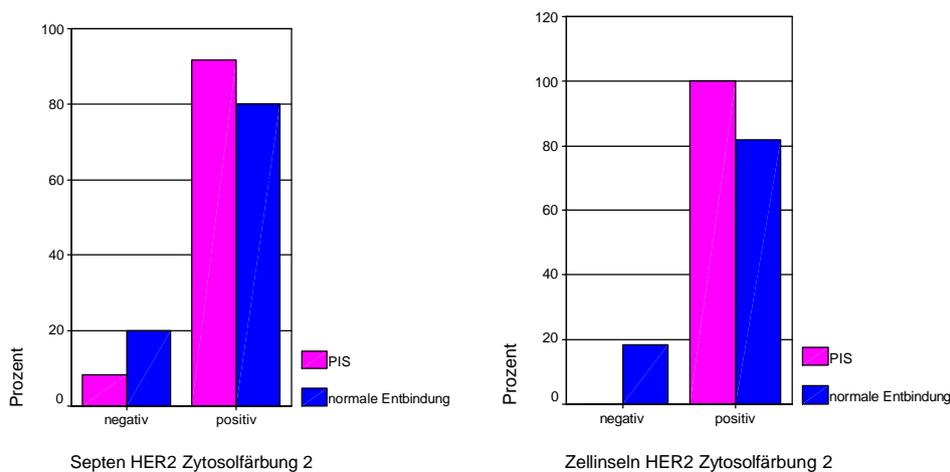


Abb.42: Die zytosolische HER-2-Expression im EVT im Vergleich Plazentainsuffizienz/normale Entbindung. Die zytosolische HER-2-Expression war in beiden Gruppen gleich stark ausgeprägt und wurde am häufigsten im Bereich der Septen (links) und Zellinseln (rechts) beobachtet.

Ein Ansatz, dieses angedeutete reziproke, membranöse und zytoplasmatische HER-2-Expressionsmuster zu erklären, wäre ein verminderter Membraneinbau oder ein verstärkter Abbau von HER-2 bei Präeklampsie. Dadurch würde der Rezeptor vermindert zur Heterodimerisation mit anschließender Signaltransduktion zur Verfügung stehen. Vergleichende Studien über die HER-2-Expression bei HSE konnten nicht in der Literatur gefunden werden.

4.4. HER-3-Expression in EVT

4.4.1. Die Expression von HER-3 im EVT ausgereifter Plazenten gesunder Frauen und in HSE-Plazenten

HER-3 wies ausschließlich eine zytoplasmatische Expression im EVT auf. Dabei fiel allgemein eine schwache Färbung auf. In den benachbarten Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten waren die Färbungen vergleichsweise deutlich stärker.

In den einzelnen Gruppen (Kontrolle, Patienten, Präeklampsie, HELLP-Syndrom, Plazentainsuffizienz oder normale Entbindung) traten nie signifikant (Binominal-Test) mehr positive als negative zytoplasmatische HER-3-Färbungen auf. Wobei in der HSE-Gruppe mehr positive HER-3 Expression und in der Kontrollgruppe tendenziell mehr negative Ergebnisse (siehe Abb. 43) auftraten. Im Gruppenvergleich hingegen traten signifikante Unterschiede auf (Chi-Quadrat-Test).

Beim Vergleich zwischen Patientinnen mit HSE und gesunden Kontrollen, fielen in der Patientengruppe mehr positive zytoplasmatische HER-3-Expressionen auf, als in der Kontrollgruppe. Signifikant waren diese Unterschiede in den Zellinseln ($p = 0,012$, siehe Abb.43, Bild A) und Septen ($p = 0,002$, siehe Abb. 43, Bild B). In der Chorionplatte war bei der HER-3-Expression zwischen den Gruppen kein Unterschied erkennbar. Bei den Präeklampsien und HELLP-Syndromen stellte sich jeweils in der Chorionplatte ein gleich verteiltes HER-3-Expressionsmuster dar. In den Zellsäulen ($p = 0,365$) und in der Basalplatte ($p = 0.117$, siehe Abb. 43, Bild C) waren die angedeuteten Unterschiede nicht signifikant.

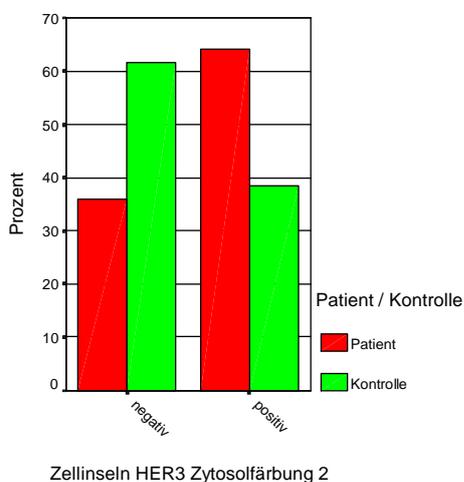


Bild A, $p=0,012$ (Chi-Quadrat-Test)

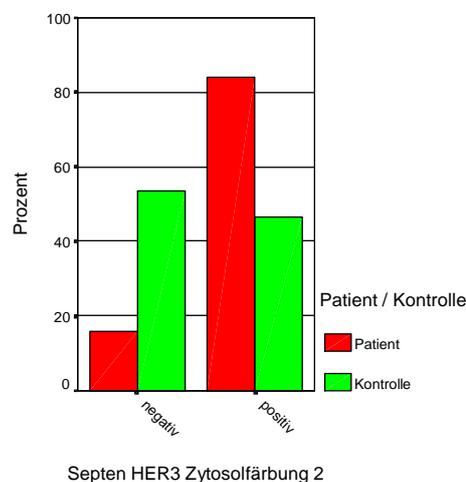
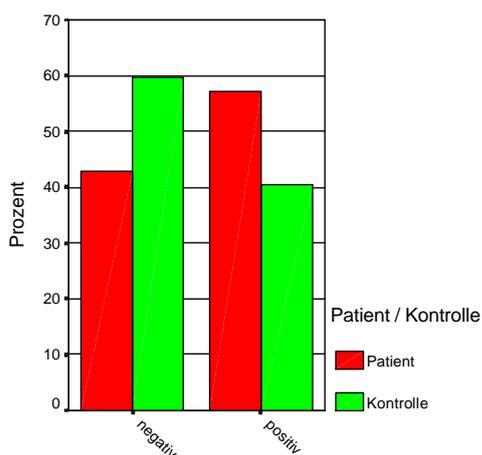


Bild B, $p=0,002$ (Chi-Quadrat-Test)



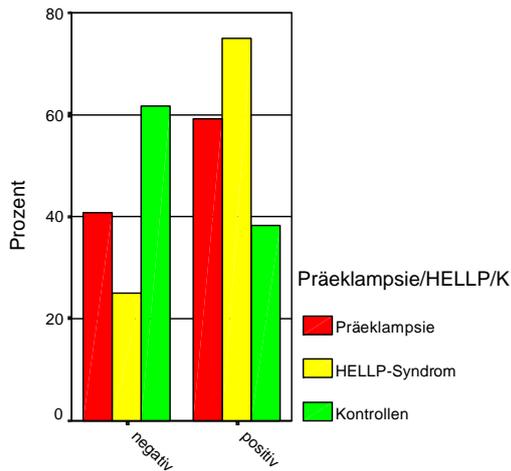
Basalplatte HER3 Zytosolfärbung 2

Bild C, $p=0,117$ (Chi-Quadrat-Test)

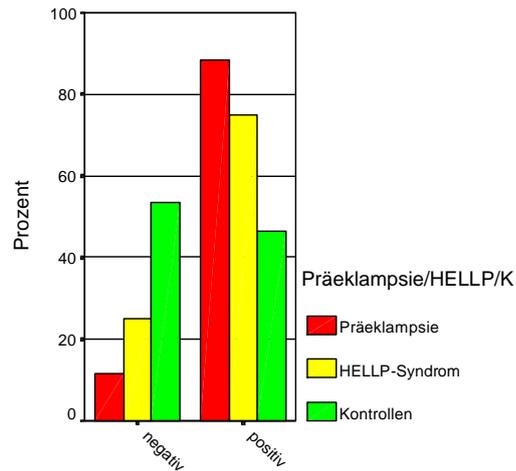
Abb. 43: Zytosolische HER-3-Expression im Vergleich Patient(HSE)/Kontrolle. Dargestellt sind die Bereiche mit deutlichen Unterschieden (Zellinseln, Septen und Basalplatte) in der zytosolischen HER-3-Expression. Wegen der kleinen Fallzahlen in den Gruppen, wurde zur statistischen Analyse das Zeilenmerkmal „Expressionsstärke“ zusammengefasst: negativ und schwach positiv ergaben insgesamt negativ; mittel positiv und stark positiv ergaben zusammen positiv. In den Zellinseln und Septen war in der HSE Gruppe die HER-3-Expression signifikant stärker als bei den Kontrollen.

Beim Vergleich der zytosolischen HER-3-Expression in EVT bei Präeklampsie versus HELLP-Syndrom versus Kontrollen, ließen sich ähnliche Expressionsmuster erkennen, wie beim Vergleich zwischen HSE und Normalkollektiv beschrieben. In den Plazenten von Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom waren mehr positive HER-3-Expressionen in EVT, als in der Kontrollgruppe vorhanden (siehe Abb. 44). Im Bereich der Zellinseln ($p = 0,029$, Chi-Quadrat-Test, Abb. 44A) und Septen ($p = 0,008$, Chi-Quadrat-Test, Abb. 44B) waren die Unterschiede wieder signifikant.

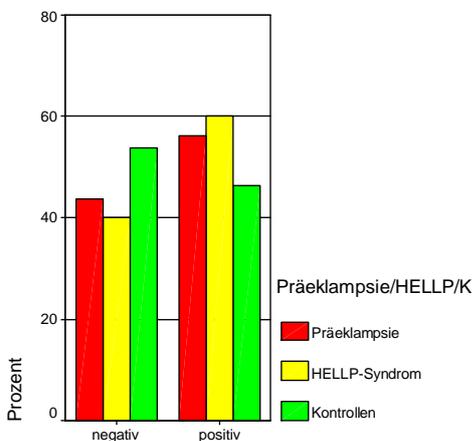
Betrachtete man die HELLP-Gruppe gesondert, so fiel auf, dass hier die prozentualen Unterschiede zwischen positiver und negativer zytosolischer HER-3-Expression stärker waren, als bei den Präeklampsien und den Kontrollen. Wegen der insgesamt kleinen Fallzahl in dieser Gruppe mit 13 HELLP-Syndromen, wovon zwischen 7-12 Präparate pro EVT-Lokalisation in der Plazenta gewertet werden konnten, lagen hier nie signifikant mehr Fälle mit positiver als mit negativer HER-3-Expression vor (Binominal-Test).



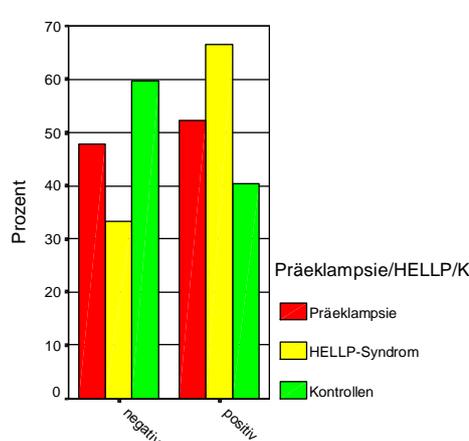
Zellinseln HER3 Zytosolfärbung 2

Bild A, p=0,029 (Chi-Quadrat-Test)

Septen HER3 Zytosolfärbung 2

Bild B, p=0,008 (Chi-Quadrat-Test)

Zellsäulen HER3 Zytosolfärbung 2

Bild C, p=0,652 (Chi-Quadrat-Test)

Basalplatte HER3 Zytosolfärbung 2

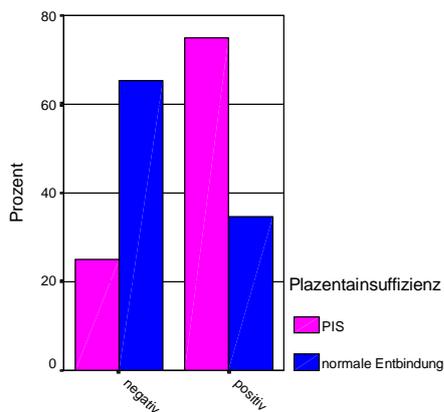
Bild D, p=0,210 (Chi-Quadrat-Test)

Abb.44 A-D: Zytosolische HER-3-Expression in EVT im Vergleich Präeklampsie/HELLP-Syndrome/Kontrollen. Im Bereich der Zellinseln ($p = 0,029$, Bild A) und Septen ($p = 0,008$, Bild B) lag bei den Präeklampsien und HELLP-Syndromen signifikant häufiger eine positive zytosolische HER-3-Expression vor, als in der Kontrollgruppe. In den Zellsäulen (Bild C) und in der Basalplatte (Bild D) waren die Unterschiede nicht signifikant.

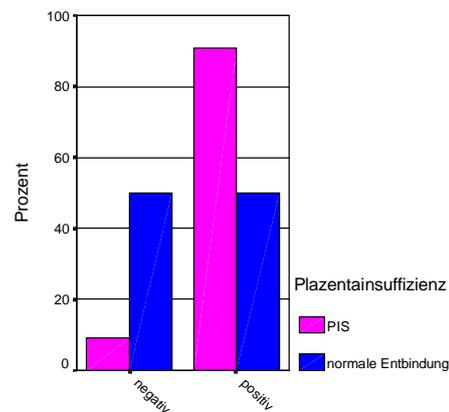
Bei den Fällen mit histologisch gesicherter Diagnose Plazentainsuffizienz (PIS) im Vergleich zu ortholog ausgereiften Plazenten, fielen ähnliche Unterschiede im HER-3-Expressionsmuster auf, wie zuvor für den Vergleich zwischen HSE und Normalkollektiv beschrieben. Dies gilt auch für den Vergleich Präeklampsie versus HELLP-Syndrom versus Kontrollen. In der Plazentainsuffizienz-Gruppe ließen sich in allen Lokalisationen des EVT mehr positive als negative HER-3-Rezeptorexpressionen nachweisen. In der

Gruppe der ausgereiften Plazenten war ein umgekehrtes HER-3-Expressionsmuster erkennbar (siehe Abb. 45). In keiner der beiden Gruppen traten wegen zu kleiner Fallzahl signifikant häufiger positive als negative HER-3-Expressionen auf (Binominal-Test).

Im Gruppenvergleich hingegen traten in den Zellinseln ($p = 0,013$, Chi-Quadrat-Test, Abb. 45A) und den Septen ($p = 0,027$, Chi-Quadrat-Test, Abb. 45B) bei den PIS signifikant häufiger positive HER-3-Expressionen auf, als bei den ortholog gereiften Plazenten.



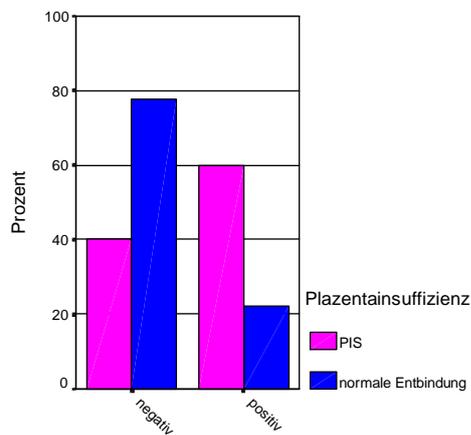
Zellinseln HER3 Zytosolfärbung 2



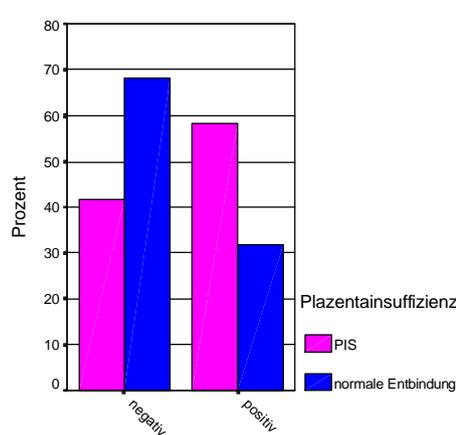
Septen HER3 Zytosolfärbung 2

Bild A, $p=0,013$ (Chi-Quadrat-Test)

Bild B, $p=0,027$ (Chi-Quadrat-Test)



Zellsäulen HER3 Zytosolfärbung 2



Basalplatte HER3 Zytosolfärbung 2

Bild C, $p=0,096$ (Chi-Quadrat-Test)

Bild D, $p=0,133$ (Chi-Quadrat-Test)

Abb. 45: Die zytosolische HER-3-Expression im EVT im Gruppenvergleich Plazentainsuffizienz (PIS)/ortholog gereifte Plazenta. Bei den PIS war die HER-3-Expression im EVT häufiger positiv, als in der Kontrollgruppe. Signifikant waren die Unterschiede in den Zellinseln (Bild A) und Septen (Bild B).

Zur Expression von HER-3 am Plazentagewebe gibt es nur sehr wenige Arbeiten. Die meisten Untersuchungen stehen im Zusammenhang mit verschiedenen menschlichen Tumoren.

In der Arbeitsgruppe um Gullick wurden immunhistochemische Färbungen von HER-3 an unterschiedlichen Geweben durchgeführt, so u. a. an normalem humanen und fetalen Gewebe (Prigent, et al., 1992). In ihrer Arbeit wurde auch Plazentagewebe untersucht sowie das Expressionsmuster bezüglich der anderen HER-Mitglieder beschrieben. Dabei zeigte sich an allen untersuchten Geweben für HER-3 eine rein zytoplasmatische Expression, was in guter Übereinstimmung zu den eigenen Daten steht. Die zytoplasmatische HER-3-Expression wurde an in Paraffin eingebetteten Geweben und an Gefrierschnitten gefunden, was eine methodenbedingte Hintergrundreaktion unwahrscheinlich macht. Eine Erklärungsmöglichkeit für die zytoplasmatische Expression ist, dass HER-3 hauptsächlich als intrazellulärer Pool vorliegt und nur kurz zur Ligandenbindung an der Zelloberfläche erscheint. Ein ähnliches Phänomen ließ sich für HER-2 an der Brustkrebszelllinie SK-BR-3 beobachten, wo nur 20% des gesamten c-erb-B2-Proteins an der Zelloberfläche exprimiert wurden (Kumar, et al., 1991). Da die Trophoblasteninvasion am Anfang mit dem invasiven Wachstum maligner Tumoren vergleichbar ist, sind ähnliche Vorgänge am EVT wahrscheinlich (Ohlsson, 1989).

HER-3 ist die einzige Rezeptortyrosinkinase aus der EGF-Familie, die keine Kinaseaktivität besitzt. Homodimere aus HER-3 sind somit inaktiv (Guy, et al., 1994). Heterodimere werden für eine erfolgreiche Signaltransduktion benötigt. Prigent und Mitarbeiter beschrieben (Prigent, et al., 1992), dass HER-3, im Gegensatz zu HER-1 und HER-2, bevorzugt in differenziertem Gewebe exprimiert wird. HER-3 wurde in den Speicheldrüsendrüsen, in der Nebennierenrinde und in der Plazenta in großen Mengen gefunden. Im Plazentagewebe beschränkte sich allerdings die Beschreibung auf die villösen Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten. Auch in dieser Arbeit war die Markierung an diesen Zellen auffallend kräftig. Im Vergleich dazu war die zytosolische HER-3-Expression im EVT schwach.

Eine Erklärung für die allgemein schwache HER-3 Expression im EVT im untersuchten Material wäre, dass die ausdifferenzierten EVT am Ende der Invasion nur in den tiefen maternalen Plazentaanteilen zu finden sind und nicht in den Zellinseln, Septen, Zellsäulen und der Basalplatte. Möglicherweise sind endovaskuläre EVT stärker HER-3 positiv. Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete leicht stärkere HER-3-Expression

bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen, könnte darauf hinweisen, dass die EVT früher ausdifferenzieren und dadurch zu früh ihre invasive Potenz verlieren.

Truncer und Mitarbeitern beschrieben anhand immunhistochemischer Untersuchungen die HER-3-Expression im EVT. Es wurde die Expression von HER-1, HER-3 und HER-4 an Throphoblastenerkrankungen (partielle Blasenmole, komplette Blasenmole und Chorionkarzinom) und normalen Plazenten untersucht (Tuncer, et al., 2000). Das Plazentagewebe stammte ausschließlich aus dem 1 Trimenon (8.-12. SSW). Dabei wurde das Expressionmuster an den villösen Synzytiotrophoblasten, villösen Zytotrophoblasten und EVT beschrieben. Hier fiel eine signifikant stärkere HER-1-Expression im EVT bei normalen Plazenten und Blasenmole auf, als dies beim Chorionkarzinom der Fall war. Diese Beobachtung passt zu anderen Untersuchungen, die eine starke HER-1-Expression am proliferativen EVT in der Frühschwangerschaft belegen (Hofmann, et al., 1992, Muhlhauser, et al., 1993). Beim Chorionkarzinom waren hingegen 100% der Zellen stark HER-1-positiv.

Im HER-3-Expressionsmuster zeigten sich zunächst keine deutlichen Unterschiede zwischen normaler Plazenta und den Throphoblastenerkrankungen. Allgemein lag eine schwache Färbung vor. Beim Chorionkarzinom hingegen traten mehr stark positive Färbungen auf. Dabei war eine starke Expression von HER-1 und HER-3 am EVT bei kompletter Blasenmole signifikant assoziiert mit der Entwicklung eines Chorionkarzinoms. Somit spielt möglicherweise bei der Entwicklung des Chorionkarzinom die Heterodimerbildung aus HER-1 und HER-3 eine wichtige Rolle. Ein ähnliches Expressionsmuster von HER-1 und HER-3 konnte in der vorliegenden Arbeit weder an den ausgereiften Plazenten gesunder Frauen, noch an den Plazenten von HSE-Patientinnen festgestellt werden. Bei Truncer (et al. 2000) hingegen zeigten die EVT im gesunden Plazentagewebe aus der 8-12 SSW deutlich stärkere HER-3-Expression mit 45% stark positiven Fällen, als in unserer Arbeit mit Plazenten aus einem weiter fortgeschrittenen Schwangerschaftsalter. HER-1 wurde in den frühen SSW stark exprimiert. Die Tatsache, dass in dieser Arbeit HER-1 und HER-3 nur schwach im ausgereiften Plazentagewebe exprimiert wurden, lässt einen gemeinsamen Einfluss dieser Rezeptoren in der Frühschwangerschaft vermuten, z.B. am Beginn der Trophoblasteninvasion. In jedem Fall ist sie ein Beleg für eine differentielle zeitliche Rezeptorexpression.

4.5. HER-4

4.5.1. Die Expression von HER-4 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen und in Plazenten mit HSE

Die HER-4-Expression im EVT trat zytoplasmatisch und nukleär auf. Membranfärbungen waren nicht belegbar.

Beim Vergleich der HER-4-Expression im EVT zwischen Patientinnen mit HSE und gesunden Frauen, fielen bezüglich der Kernfärbung keine Unterschiede auf. In allen Gruppen fanden sich >80-100% stark positiv markierte Kerne.

Auch die zytoplasmatische HER-4-Expression im EVT war generell kräftig ausgebildet. HER-4 war fast ausschließlich mittel oder stark exprimiert. Im Vergleich zwischen HSE und Normalkollektiv fiel auf, dass bei den HSE häufiger starke HER-4-Expressionen auftraten, als bei den Kontrollen (siehe Tabellen 25 bis 30). Signifikant waren diese Unterschiede im Bereich der Zellsäulen ($p = 0,007$, Chi-Quadrat-Test) und der Basalplatte ($p = 0,008$, Chi-Quadrat-Test). In den Zellinseln war nur ein tendenzieller Unterschied erkennbar ($p = 0,190$, Chi-Quadrat-Test, siehe Abb.46).

Betrachtete man die zytoplasmatische HER-4-Expression in der HSE-Gruppe isoliert, so fiel auf, dass in keiner Lokalisation signifikant (Binominal-Test) mehr mittel als stark positive Ergebnisse auftraten. Diese Befunde standen im Gegensatz zur Kontrollgruppe (mit einer größeren Fallzahl), wo in der Chorionplatte ($p = 0,008$), den Zellinseln ($p = 0,045$), den Zellsäulen ($p = 0,001$) und der Basalplatte ($p = 0,0001$) signifikant häufiger eine mittlere als eine starke zytoplasmatische HER-4-Expression auftrat.

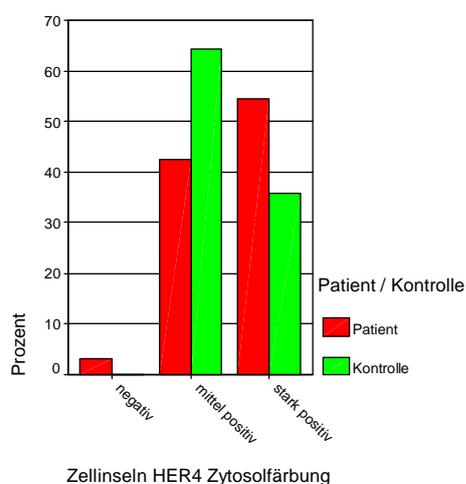


Bild A, $p=0,190$ (Chi-Quadrat-Test)

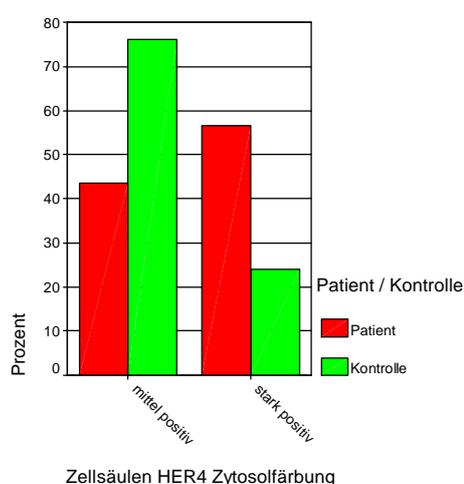


Bild B, $p=0,007$ (Chi-Quadrat-Test)

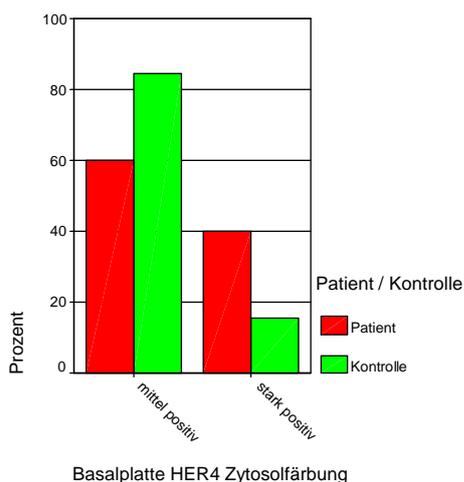


Bild C, $p=0,008$ (Chi-Quadrat-Test)

Abb. 46: Zytosolische HER-4-Expression im EVT im Vergleich Patient (HES)/Kontrolle. Bei den HSE trat in den Zellsäulen (Bild B) und der Basalplatte (Bild B) signifikant häufiger eine starke zytosolische HER-4-Expression auf als bei den Kontrollen. In den Zellinseln (Bild A) war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen nicht signifikant.

Vergleich man die zytoplasmatischen HER-4-Expression im EVT zwischen Patientinnen mit Präeklampsie versus HELLP-Syndrom versus gesunder Frauen, so zeigten sich auch hier in den Zellinseln, den Zellsäulen und der Basalplatte ähnliche Expressionsmuster, wie oben beschrieben. Bei zu kleiner Fallzahl von Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen herzustellen (Chi-Quadrat-Test). Die Präeklampsien wiesen in den Zellinseln, den Zellsäulen und der Basalplatte die stärkste zytosolische HER-4-Expression auf und die Kontrollgruppe die schwächste (siehe Abb. 47 Bild A, C, D). In den Zellinseln fiel auf, dass sich das zytosolische HER-4-Expressionsmuster in der HELLP-Gruppe gleichsinnig zur Kontrollgruppe und nicht, wie erwartet, zur Präeklampsiegruppe darstellte. In den Zellsäulen und der Basalplatte war dies umgekehrt. Die genannten Unterschiede in der zytoplasmatischen HER-4-Expression traten nicht in den Septen auf (siehe Abb. 47 Bild B). Dort überwog in allen Gruppen eine mittlere zytosolische HER-4-Expression.

Bezüglich der nukleären HER-4-Expression traten keine Unterschiede zwischen den Gruppen auf. In allen untersuchten Plazenten überwog eine starke nukleäre HER-4-Expression (> 85% der Fälle).

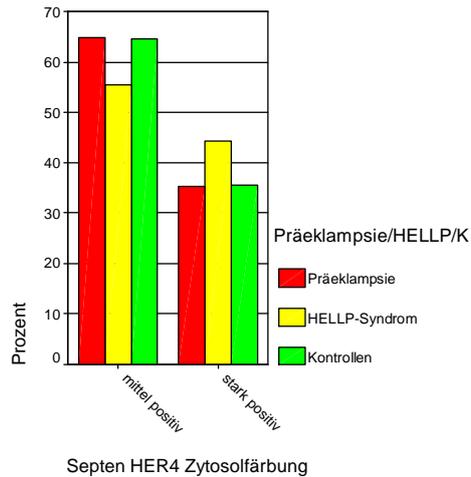
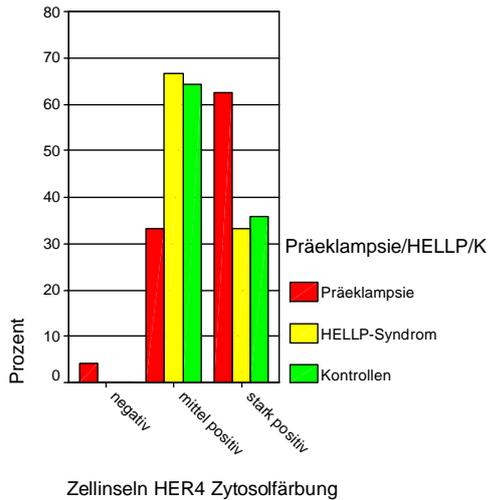


Bild A

Bild B

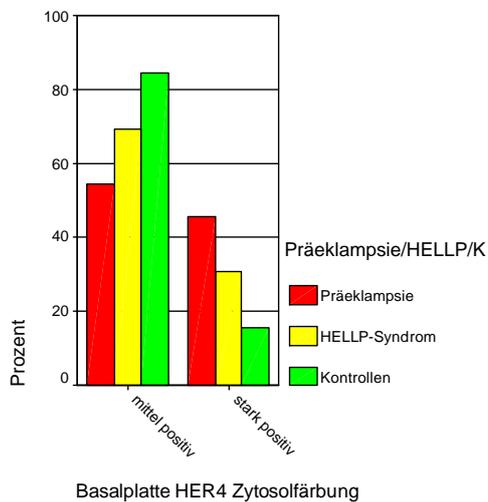
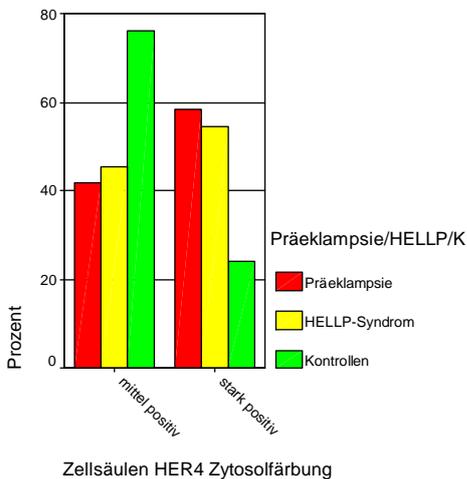


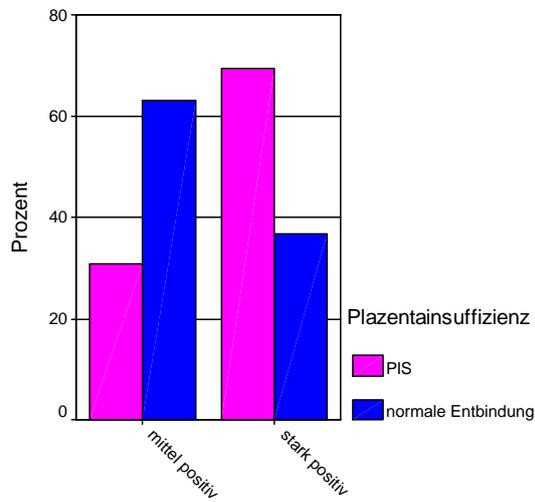
Bild C

Bild D

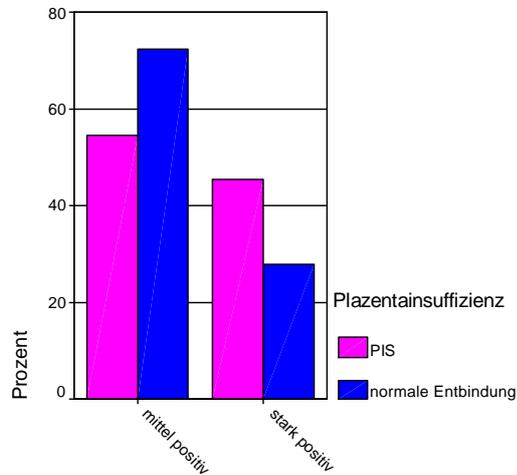
Abb. 47A-D: Zytosolische HER-4-Expression im EVT im Gruppenvergleich Präeklampsie/HELLP-Syndrom/Kontrolle. Bei den Präeklampsien trat im Vergleich zu den HELLP-Syndromen und Kontrollen am häufigsten eine starke zytosolische HER-4-Expression auf, wohingegen bei den Kontrollen eine mittlere HER-4-Expression überwog. Das Expressionsmuster bei den HELLP-Syndromen entsprach in den Zellinseln dem der Kontrollgruppe, wohingegen es in den Zellsäulen und der Basalplatte den Präeklampsien glich. In den Septen überwog in allen drei Gruppen eine mittlere zytosolische HER-4-Expression.

Gleiche HER-4-Expressionsmuster, wie beim Vergleich HSE versus Normalkollektiv, fand man beim Vergleich von Plazenten mit der histopathologischen Diagnose Plazentainsuffizienz (PIS) versus ortholog gereifte Plazenten (siehe Abb. 48). Auch hier wies die Gruppe der Plazentainsuffizienzen die stärkere zytoplasmatische HER-4-

Expression auf. Signifikant waren die Unterschiede wegen zu kleiner Fallzahl pro Gruppe nur in den Zellsäulen ($p = 0,049$, Test nach Fischer).



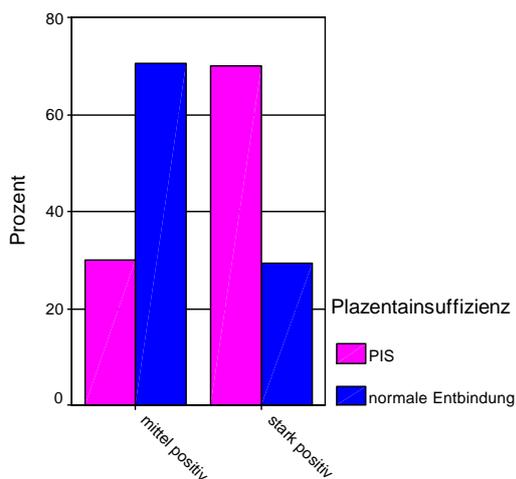
Zellinseln HER4 Zytosolfärbung



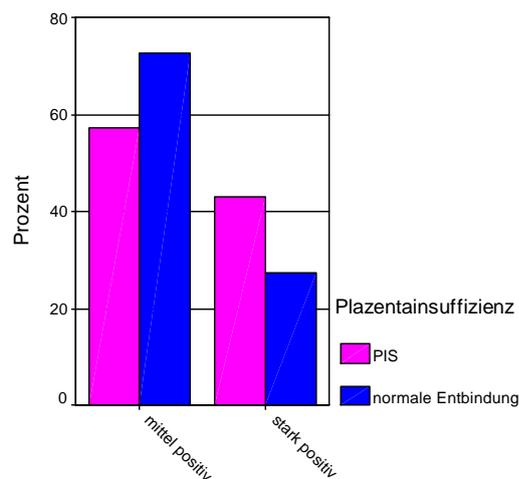
Septen HER4 Zytosolfärbung

Bild A, $p=0,072$ (Chi-Quadrat-Test)

Bild B, $p=0,43$ (Test nach Fischer)



Zellsäulen HER4 Zytosolfärbung



Basalplatte HER4 Zytosolfärbung

Bild C, $p=0,049$ (Test nach Fischer)

Bild D, $p=0,271$ (Test nach Fischer)

Abb. 47: HER-4-Zytosolfärbung im Gruppenvergleich Plazentainsuffizienz (PIS)/ortholog gereifte Plazenta. Am stärksten war die HER-4-Expression bei den PIS in den Zellinseln (Bild A) und den Zellsäulen (Bild B, ca. 70% stark positiv). In den Septen (Bild C) und der Basalplatte (Bild D) war sie schwächer ausgebildet. Hier überwog in beiden Gruppen eine mittlere zytosolische HER-4-Expression. Die ortholog gereiften Plazenten wiesen nicht so starke Schwankungen im zytosolischen HER-4-Expressionsmuster in den EVT auf. Dort überwog in allen Lokalisationen eine mittlere HER-4-Expression mit ca 70%.

Wie für HER-3 liegen für HER-4 kaum Untersuchungen am Plazentagewebe in der Literatur vor. Wiederum war es die Gruppe um Gullick, die umfangreiche immunhistochemische Untersuchungen an verschiedenen fetalen und adulten Geweben durchführte, um das Expressionsmuster von HER-4 darzustellen (Srinivasan, et al., 1998). Die Färbung von HER-4 war hauptsächlich zytoplasmatisch. Gelegentlich wurden auch Kernfärbungen beobachtet.

An der Brustkrebszelllinie SK-BR-3 konnte gezeigt werden, dass die Bindung von Heregulin-beta an HER-4 zu einer raschen nukleären Rezeptortranslokation führte (Li, et al., 1996). Die Autoren schlussfolgerten, dass bestimmte Rezeptorstimulationen eine Translokation des Rezeptors in den Kern bewirken können und so die unterschiedlichen Kernfärbungen erklären.

Bei Srinivasan et al. 1998 war das HER-4-Expressionsmuster, ähnlich wie das von HER-3 und im Gegensatz zu HER-1 und HER-2, mit einem weiter differenzierten Gewebe assoziiert. Die untersuchten Tumore zeigten eine umso verminderte HER-4 Expression, je undifferenzierter sie waren. Beim Plazentagewebe wurden die EVT nicht beschrieben. An den villösen Synzytiotrophoblasten und den Zytotrophoblasten wurde eine mittlere Expression im ersten und zweiten Trimenon beobachtet, wobei eine weitere Abnahme der HER-4-Expression zum dritten Trimenon hin belegt wurde. Auffallend in dieser Arbeit war die generell starke nukleäre Expression von HER-4.

Immunhistochemische Untersuchungen zum Nachweis der Kernexpression von HER-4 wurden an invasivem Brustkrebs durchgeführt (Srinivasan, 2000). Es wurden dabei zwei unterschiedliche Antikörper verwendet, die beide das gleiche Färbemuster ergaben. Einer der Antikörper, der C18 polyklonale Rabbit Antikörper (Santa Cruz Biotechnologie) wurde auch in dieser Arbeit verwendet. Da beide das gleiche Färbemuster erzielten, ist nicht von einer unspezifischen Bindung auszugehen, sondern von einer tatsächlichen nukleären Rezeptorlokalisierung. Im gesunden Brustgewebe wurde nur bei < 5% der Fälle eine Kernfärbung festgestellt. Bei der Untersuchung von Brustkrebs war die nukleäre Markierung signifikant entgegengesetzt zum histologischen Grading (Srinivasan, 2000). Fälle mit > 25% nuklearer Expression wiesen einen besser differenzierten Phänotyp des Tumors auf. Zusätzlich wurde eine positive Korrelation mit der HER-4-Expression und der Expression bestimmter Liganden (TGF α , Cripto und Amphiregulin) beobachtet. Eine Korrelation mit dem Lymphknotenstatus oder der Überlebensrate bestand nicht.

Bei dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Plazentamaterial handelte es sich um ausgereiftes Gewebe am Ende der Schwangerschaft. Wie bereits erwähnt, verhalten sich EVT am Anfang der Schwangerschaft wie invasive Tumorzellen, die im Verlauf vom proliferativen Phänotyp in den differenzierten Phänotyp übergehen. Zur Geburt finden sich fast ausschließlich ausdifferenzierte Zellen, was die generell starke HER-4-Kernexpression erklären könnte.

In der Studie von Truncer (et al. 2000) wurden zwar positive Immunreaktionen für HER-4 beschrieben, allerdings wurde nicht festgehalten, ob diese membranös, zytoplasmatisch oder nukleär waren. Signifikante Unterschiede bezüglich der Trophoblastenpopulation oder der Gewebe traten nicht auf. Die am stärksten HER-4 positive Zelle war der Zytotrophoblast in der normalen Plazenta (64% stark positiv), wohingegen beim Chorionkarzinom nur 20% der Fälle stark HER-4-positiv waren. Die Ursache für die Diskrepanz zu unseren Daten dürfte in erster Linie im Schwangerschaftsalter der Plazenten zu suchen sein, da diese alle aus dem ersten Trimenon stammten, während in unserer Studie Plazenten aus dem dritten Trimenon untersucht wurden.

4.6. Methodenkritik

Die Plazenta ist ein schwierig zu untersuchendes komplexes Organ, da sie in ihrer kurzen neunmonatigen Existenz einer ständigen Veränderung unterliegt (Fisher, 2000, Vogel, 1996). Bevor das wesentliche Wachstum des Feten einsetzen kann, wird ein funktionierendes Organ benötigt. Das bedeutet, dass der hauptsächliche Entwicklungsprozess der Plazenta in der ersten Hälfte der Schwangerschaft stattfindet und sich die Zeitpanne bei der Untersuchung der Plazentaentwicklung dadurch weiter verkürzt. Bei Interpretationen von Untersuchungen am Plazentagewebe ist das Alter des Organs daher entscheidend.

Zusätzlich hat die Plazenta eine komplexe Anatomie, welche weitere Schwierigkeiten bei der Untersuchung verursacht. Durch den Ausstoß bei der Geburt, ist das Gewebe zwar einfach zugänglich, stellt aber nur einen Teil des Organs, den fetalen Plazentaanteil, dar. Der bei der Trophoblasteninvasion weitaus interessantere Anteil, der maternale Plazentaanteil, ist Untersuchungen aus technischen und ethischen

Gründen kaum zugänglich. Er liegt innerhalb der Gebärmutterwand und wird bei der Geburt nicht ausgestoßen.

Die EVT invadieren in den Uterus in Form von Zellsäulen, die von Haftzotten ausgehen und verankern so die Plazenta im mütterlichen Gewebe. Durch ihre Invasion bis in die myometrialen Anteile der Spiralarterien, sichern sie eine ausreichende fetale Blutversorgung (Brosens and Dixon, 1966, Brosens, et al., 1967). Bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen ist die endovaskuläre Invasion des EVT in die Spiralarterien, die im maternalen Plazentaanteil liegen, unzureichend (Brosens, et al., 1972). Für ein besseres Verständnis der komplexen Vorgänge bei der Trophoblasteninvasion müssten beide Plazentaanteile untersucht werden, der fetale und maternale. Die einzige Möglichkeit auch den maternalen Plazentaanteil zu untersuchen stellt eine repräsentative Uterusbiopsie direkt im Anschluss an die Geburt dar (Fisher, 2000). Alternativ könnten Tierversuchsmodelle eingesetzt werden (Klonisch, et al., 2001, Yue, et al., 2000).