

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

DISSERTATION

„Vaskuläre Funktion uteriner Arterien und intrauterine Wachstumsretardierung
der Feten von Ratten mit präeklampsischem Phänotyp“

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Manuela Niehoff

aus Mühlhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. W. Henrich
2. Prof. Dr. med. M. Schmidt
3. Priv.-Doz. Dr. med. R. Dechend

Datum der Promotion: 03.06.2012

Gewidmet meiner Familie und meinen Freunden,
„den Menschen, die mich verstehen,
den Menschen, die meine Worte verstehen,
den Menschen, die mich lieben, weil ich sie verstehe.“

(Annegret Kronenberg)

Vielen Dank für all Eure Unterstützung und Liebe!

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
1.1. Allgemeines zur Präeklampsie	3
1.2. Pathogenese und Pathophysiologie der Präeklampsie	5
1.2.1. Das Schlüsselereignis: eine inadäquate Trophoblasteninvasion	6
1.2.1.1. Normale Plazentaentwicklung und Gefäßremodeling	6
1.2.1.2. Abnormale Trophoblasteninvasion im Falle einer Präeklampsie	6
1.2.2. Die Folgen der gestörten Trophoblasteninvasion	7
1.2.2.1. Folge 1: Die intrauterine Wachstumsretardierung	8
1.2.2.2. Folge 2: gestörte Angiogenese	11
1.2.3. Folge 3 ein gestörtes Renin-Angiotensin-System	12
1.2.3.1. Das RAS in einer normalen Schwangerschaft	12
1.2.3.2. Das RAS in der Präeklampsie	12
1.2.3.3. Die Bedeutung eines Autoantikörpers	13
1.2.4. Folge 4: die endotheliale Dysfunktion	14
1.3. Ein Tiermodell für die Präeklampsie	17
1.3.1. Das RUPP-Modell	17
1.3.2. Das sFlt-1-Modell	18
1.3.3. Weitere Tiermodelle zu Präeklampsie	19
1.3.4. TGR: transgenes Rattenmodell für die Präeklampsie	19
2. Herleitung einer Fragestellung	21
3. Material und Methoden	22
3.1. Versuchstiere	22
3.2. Isometrische Kontraktionsmessungen an der uterinen Arterie	22
3.2.1. Präparation der Untersuchungsgefäße	22
3.2.2. Das Prinzip der isometrischen Kontraktionsmessung	23
3.2.3. Versuchsprotokolle	25
3.2.4. Datenerfassung und -analyse	26
3.3. Bestimmung der Prostaglandin/Thromboxan-Ratio	27
3.4. Ultraschalluntersuchungen und biometrische Daten	27
3.5. Datenanalyse und statistische Auswertung	30
3.6. Reagenzien und Chemikalien	30
4. Ergebnisse	31
4.1. Isometrische Kontraktionsmessung	31
4.1.1. Kontraktion mit Phenylephrin	31
4.1.2. Relaxation mit Acetylcholin	33
4.1.3. Inkubation mit L-NAME	36

0.	Inhalt	2
	4.1.4. Inkubation mit Indomethacin	38
	4.1.5. Inkubation mit SQ-29,548	40
	4.2. PGF1 α /TxB2-Ratio	41
	4.3. Ultraschalluntersuchungen und biometrische Daten	42
	4.3.1. Ultraschalluntersuchungen	42
	4.3.2. Gewichtsmessungen	43
	4.3.3. Dopplerultraschallmessungen	44
5.	Diskussion	46
	5.1. Isometrische Kontraktionsmessungen	46
	5.1.1. Kontraktion mit Phenylephrin	46
	5.1.2. Relaxation mit Acetylcholin	46
	5.1.3. Paradoxe Acetylcholinwirkung	48
	5.1.4. Inkubation mit L-NAME	49
	5.1.5. Inkubation mit Indomethacin	50
	5.1.6. Inkubation mit SQ 29,549	52
	5.2. PGF1 α /TxB2-Ratio	53
	5.3. Ultraschalluntersuchungen und biometrische Daten	54
	5.3.1. Ultraschalluntersuchungen	54
	5.3.2. Gewichtsmessungen	56
	5.3.3. Dopplerschalluntersuchungen	58
	5.4. Klinischer Bezug	60
6.	Zusammenfassung	65
7.	Literaturverzeichnis	67
8.	Abkürzungsverzeichnis	75
9.	Danksagung	77
10.	Lebenslauf	78
11.	Publikation	79
12.	Erklärung	80

1. Einleitung

1.1. Allgemeines zur Präeklampsie

Der römische Schriftsteller Aulus Cornelius Celsus beschrieb vor fast 2000 Jahren erstmals eine Erkrankung, bei der schwangere Frauen unter Krampfanfällen litten, deren Symptomatik unter der Geburt zusehends nachließ [1]. Man gab diesem Syndrom den Namen Eklampsie, was aus dem Griechischen übersetzt „die plötzlich Hervorschießende“ bedeutet und das rasche und unvorhersehbare Erscheinen dieser Erkrankung widerspiegeln soll [2]. Im Verlauf des 19. Jahrhunderts konnte dann festgestellt werden, dass bei den meisten Patientinnen mit eklampthischen Anfällen eine Proteinurie auftrat, die den Anfällen vorausgehen konnte. Zum anderen konnte im späten 19. Jahrhundert gezeigt werden, dass die betreffenden Patientinnen auch an erhöhtem Blutdruck litten, der sich ebenfalls häufig vor den Krämpfen manifestierte. Das gleichzeitige Auftreten von erhöhtem Blutdruck und Proteinurie wurde deshalb „Prä-Eklampsie“ genannt [1].

Im Laufe der Zeit wandelte sich die Klassifikation dieser Erkrankung von einem schwangerschaftsspezifischen Anfallsleiden, über die Synonyme Gestose und EPH-Gestose bis zum Jahr 1986, in dem die Erkrankung, dank eines zunehmenden Verständnisses, durch die International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy [3] in den Formenkreis der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen aufgenommen und als das gemeinsame Auftreten von Hypertonie und Proteinurie nach der 20. Schwangerschaftswoche definiert wurde [4].

Laut dieser Definition liegt eine Schwangerschaftshypertonie vor, wenn bei einer zuvor normotensiven Patientin der Blutdruck bei zweimaliger Messung im Abstand von vier Stunden $\geq 140/90$ mmHg beträgt.

Eine Proteinurie in der Schwangerschaft besteht, wenn eine signifikante Eiweißausscheidung im Urin bei einer bisher normotensiven, nicht proteinurischen Schwangeren auftritt. Als signifikante Proteinurie gilt dabei eine Eiweißausscheidung von ≥ 300 mg/d im 24-h-Sammelurin [5].

Die Definition einer Eklampsie ist erfüllt, wenn im Rahmen einer Präeklampsie tonisch-klonische Anfälle auftreten, die nicht einer anderen Ursache zugeordnet werden können. Zu beachten ist, dass in 38% der Fälle einer auftretenden Eklampsie zuvor Präeklampsie-definierende Symptome fehlen können [6].

Die Komplikation eines HELLP-Syndrom gestaltet sich in der Trias aus Hämolyse, pathologisch erhöhter Leberenzyme und erniedrigter Thrombozytenzahl ($\leq 100.000 /\mu\text{l}$). Auch hier kann ein HELLP-Syndrom in 10-15% der Fälle auftreten, ohne das zuvor Bluthochdruck und Proteinurie aufgetreten sind [6].

Die Präeklampsie stellt weltweit eine der Hauptursachen mütterlicher und fetaler Morbidität und Mortalität dar [7]. In ca. fünf Prozent aller Schwangerschaften in den USA und Europa kommt es zu einer Erkrankung, in einer unter Tausend Schwangerschaften kommt es zu schweren Komplikationen. In den USA, Großbritannien und den skandinavischen Ländern stehen die Komplikationen der Präeklampsie an erster Stelle der mütterlichen Todesursachen [8]. Obwohl die Erkrankung in Deutschland im Rahmen des Screenings bei der Schwangerschaftsvorsorge meist rechtzeitig erkannt wird, stellte sie in Bayern die vierthäufigste Ursache mütterlicher Sterbefälle dar [9]. In einer Untersuchung von Vigil-De Garcia waren in den Schwellenländern sogar 41,7 Prozent der mütterlichen Sterbefälle auf Präeklampsie oder Eklampsie zurückzuführen [10].

Die wichtigsten prädisponierenden Faktoren sind eine positive Eigenanamnese, vorbestehender Hypertonus, Adipositas, Diabetes und vorbestehende Nierenerkrankungen, Primigravidität, hohes mütterliches Alter und niedriger sozialer Status [11]. Die Präeklampsie tritt gehäuft familiär auf, dies ist seit langem bekannt und findet bereits in den Lehrbüchern des 19. Jahrhunderts Erwähnung.

Die Präeklampsie ist eine Multiorganerkrankung. Krankheitsbild und -verlauf sind sehr variabel. Eine über längere Zeit unveränderte Symptomatik wird ebenso beobachtet, wie eine rasche Progredienz mit Entwicklung schwerer Komplikationen. In der fetalen Beeinträchtigung besteht ebenfalls eine große Bandbreite. In einigen Fällen prägen mütterliche Symptome das Krankheitsbild, während in anderen der bedrohte Zustand des Feten im Vordergrund steht.

Die einzige kausale Therapie einer schweren Präeklampsie kann nur die Beendigung der Gravidität mit Entfernung der Plazenta als auslösende Ursache sein. Die symptomatische Therapie der Präeklampsie beschränkt sich bislang auf eine Stabilisierung des Krankheitsbildes bis zur Entbindung. Sie konzentriert sich hierbei im Wesentlichen auf die Kontrolle der exzessiv erhöhten Blutdruckwerte und die Prophylaxe von Krampfanfällen [12].

1.2. Pathogenese und Pathophysiologie der Präeklampsie

Die genaue Pathogenese der Erkrankung ist bisher immer noch nicht vollständig bekannt. Mehrere Auslöser wurden in der Vergangenheit vorgeschlagen und intensiv untersucht.

Diese Arbeit beleuchtet insbesondere den mütterlichen Symptomkomplex der generalisierten Endotheldysfunktion einerseits und andererseits ein Hauptmerkmal des fetalen Erkrankungsbildes, die intrauterine Wachstumsretardierung. Gemäß der aktuellen Forschung wird die Entstehung der Erkrankung als Zweiphasenmodell verstanden. Wie in der unteren Abbildung beschrieben, führen ungeklärte Umstände zu einer gestörten Plazentaentwicklung. Eine daraus entstehende Plazentaperfusionsstörung führt zum einen zu einer Wachstumsretardierung des Kindes und zum anderen zur Bildung plazentarer Faktoren, die im mütterlichen Kreislauf zirkulieren und zu den mütterlichen Symptomen führen (Endotheldysfunktion, erhöhte Gefäßpermeabilität und Vasospasmen, Proteinurie und glomeruläre Endotheliose, Hypertonus, Hyperkoagulopathie, HELPP-Syndrom und Eklampsie).

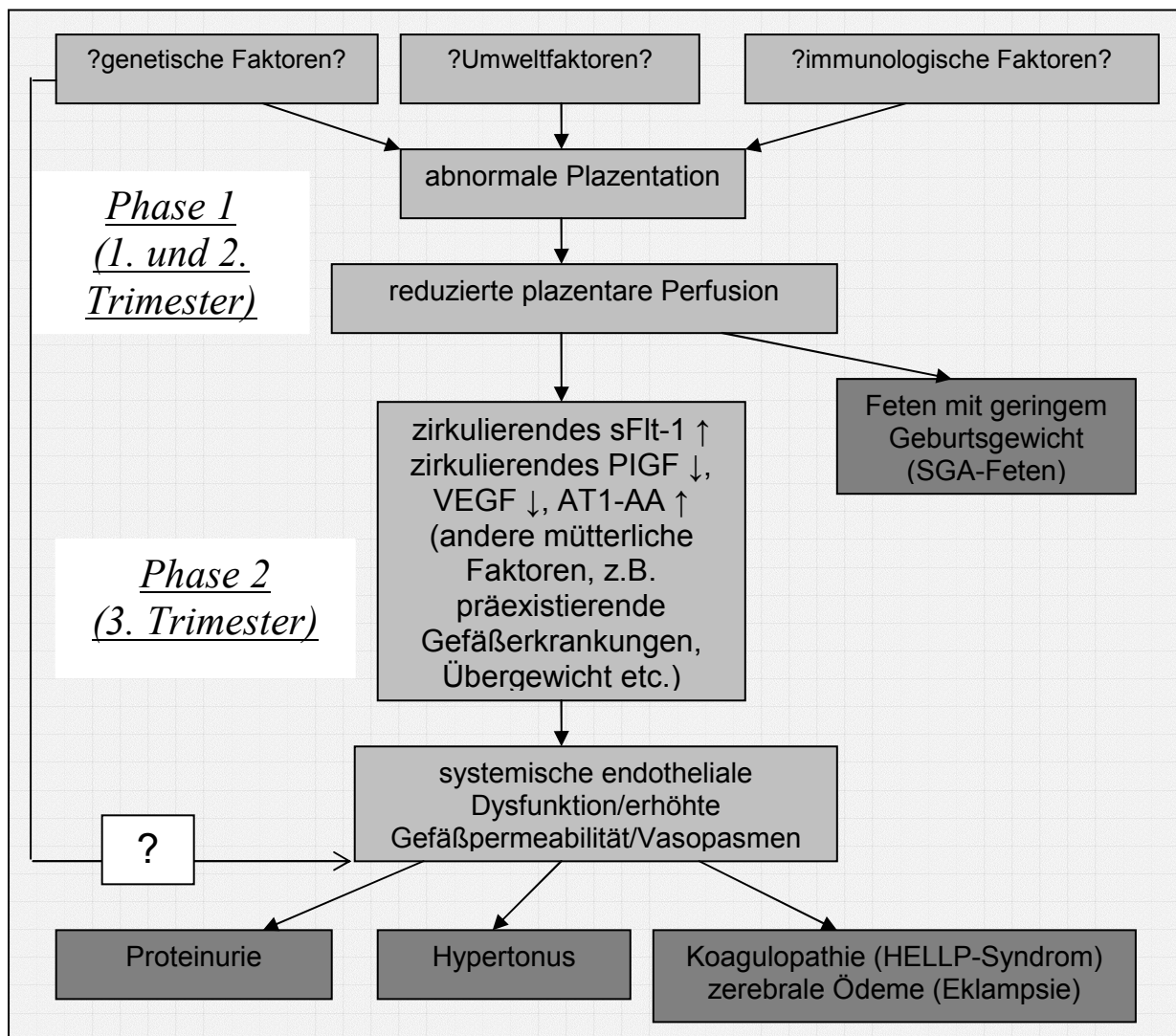


Abbildung 1.1.: Zweiphasenmodell der Präeklampsieentstehung. Erläuterungen im Text. Aus [13].

1.2.1 Das Schlüsselereignis: eine inadäquate Trophoblasteninvasion

1.2.1.1. Normale Plazentaentwicklung und Gefäßremodeling

Die Entwicklung einer normalen menschlichen Plazenta beginnt im ersten Trimester einer Schwangerschaft und endet mit der 18. – 20. Schwangerschaftswoche [13]. Sie dient dem fetomaternalen Gas- und Stoffaustausch sowie der Produktion von Hormonen. Von zentraler Bedeutung für die Funktion der Plazenta ist eine normale Entwicklung der uteroplazentaren und fetoplazentaren Gefäßgebiete. Das uteroplazentare Gefäßsystem wird durch ein Anastomosensystem aus den Aa. uterinae und den Aa. ovaricae versorgt. Durch weitere Aufzweigungen führt das Gefäßsystem letztlich zu den myometran gelegenen Basalarterien, die sich schließlich in endometran und dezidual gelegene Spiralarterien aufteilen [14].

Die Kontaktzone der Plazenta und der Dezidua wird aus einer kontinuierlichen Schicht von Trophoblasten gebildet, die für die zottenförmige Implantation der Blastozyste in die Dezidua sorgen. Während der frühen Schwangerschaft differenzieren sich die Trophoblastenstammzellen in einen Zytotrophoblasten und einen Synzytiotrophoblasten. Auf Grund der weiteren Entwicklung dringen Anteile des Zytotrophoblasten in die mütterlichen Spiralarterien ein (endovaskulärer Trophoblast), wobei es hier zu einem Remodeling der Arterien kommt, in dessen Folge Trophoblasten die bestehende Endothelzellschicht verdrängen und ersetzen [15].

Das Ergebnis ist ein Gefäßsystem mit größerer Volumenkapazität und niedrigerem Gefäßwiderstand, resultierend in einer dramatischen Erhöhung des Blutflusses, welches vom herkömmlichen Stimulus des sympathischen Nervensystems abgekoppelt ist. Nur so kann unabhängig vom mütterlichen Zustand die Versorgung der uteroplazentaren Einheit gewährleistet werden [16].

1.2.1.2. Abnormale Trophoblasteninvasion im Falle einer Präeklampsie

Brosens et al. beschrieben erstmals einen Zusammenhang zwischen einer fehlerhaften Trophoblasteninvasion und dem Auftreten einer Präeklampsie [17]. In der Folge erbrachten Untersuchungen Hinweise darauf, dass die gestörte Invasion der Trophoblasten mit einer gestörten Umwandlung des epithelialen Charakters der Zellen in einen endothelialen Typ verbunden ist [18]. Andere Untersuchungen zeigten, dass es auf immunologischer Ebene zu einer vermehrten Apoptose von Trophoblasten kommen könnte, die durch eine verstärkte Aktivierung von Makrophagen vermittelt wird [19].

Durch welche Einflüsse eine gestörte Trophoblasteninvasion induziert und wodurch sie vermittelt wird ist letztlich nicht vollständig geklärt. Das Resultat daraus ist jedoch unumstritten

eine Reduktion sowohl der Anzahl als auch der Tiefe der Trophoblasteninvasion in den mütterlichen Uterus. Als Ergebnis bleiben die tiefen myometralen Segmente anatomisch intakt, nicht dilatiert und stehen weiter unter dem Einfluss des Sympathikus. Zytotrophoblasten lassen sich in den Lumina dieser Arterien zwar oft nachweisen, jedoch ersetzen sie nicht die Endothelzellschicht [20]. Die externen Durchmesser dieser uterinen Spiralarterien betragen weniger als die Hälfte der Arterien, als sie in einer normalen Schwangerschaft zu finden sind. Die Tunica intima zeigt sich verdickt, atheromatoseähnliche Schädigungen und luminale Fibrinablagerungen bis hin zur vollständigen Gefäßobliteration werden beobachtet [21].

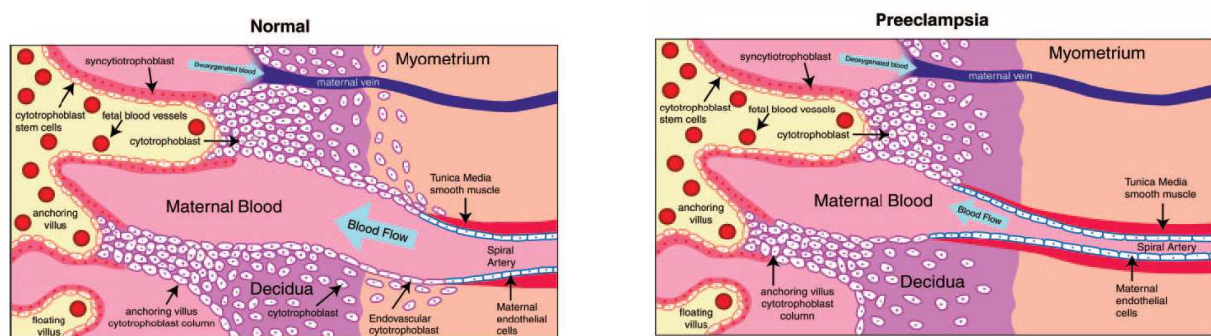


Abbildung 1.2.: Die Zytotrophoblasten erreichen in einer normalen Schwangerschaft auch die tiefen Anteile der Dezidua, ersetzen das Endothel der Spiralarterien, bauen die Muskelschicht der Tunica media ab und führen so zu einer Gefäßerweiterung mit erhöhtem Blutfluss (links). Im Fall einer Präeklampsie (rechts) geschieht dies nur unzureichend mit den Folgen eines verminderten Blutflusses. Aus [13].

1.2.2. Die Folgen der gestörten Trophoblasteninvasion

Der Hypothese nach verursacht eine derart pathologische Veränderung des uterinen Blutflusses eine plazentare Hypoxie. Multiple Plazentainfarkte und eine Reduktion des plazentaren Parenchyms und der Zottenbaumoberfläche führen zu einer Plazentainsuffizienz [13], die eine Retardierung des wachsenden Fetus zur Folge hat. Zum anderen exprimiert die fehlentwickelte Plazenta vermehrt Faktoren in den mütterlichen Kreislauf, die zum klinischen Bild der Präeklampsie führen. Die bislang am besten untersuchten Faktoren sind ein Autoantikörper gegen den Angiotensin-Rezeptor-1 und eine Dysbalance der angiogenetischen Faktoren VEGF, PlGF und sFlt-1.

1.2.2.1. Folge 1: die intrauterine Wachstumsretardierung

Eine intrauterine Wachstumsretardierung („Intrauterine Growth Retardation/Restriction“, [IUGR]) liegt vor, wenn ein Fetus mit seinem intrauterinen Schätzwicht unterhalb der 10. Perzentile der Norm für das Gestationsalter liegt und zusätzlich ultrasonographisch eine pathologische Wachstumsrestriktion aufweist [22]. Die IUGR geht mit einer deutlich erhöhten perinatalen Morbidität und Mortalität einher und macht mehr als 20% der intrauterinen Fruchttode aus [23].

Diagnostisches Vorgehen und Überwachung

Bei der intrauterinen Wachstumsretardierung werden aufgrund des unterschiedlichen sonographischen Wachstumsmusters zwei Grundformen unterschieden [24]:

- (a) die symmetrische proportionierte oder hypoplastische; und
- (b) die asymmetrische disproportionierte oder hypotrophe Wachstumsretardierung.

Welche Form der Retardierung beim Kind in Erscheinung tritt, hängt zum größten Teil vom Zeitpunkt des pathologischen Stimulus ab [14].

- (a) Die symmetrische Wachstumsretardierung kommt mit einer Häufigkeit von 20-30% vor und entwickelt sich im ersten bzw. zweiten Schwangerschaftstrimenon. Die Körperlänge, das Körpergewicht und der Kopfumfang sind gleichermaßen betroffen. Sowohl das Geburtsgewicht als auch die Geburtslänge liegen unterhalb des definierten Grenzwertes [23].
- (b) Die asymmetrische Wachstumsretardierung macht ca. 70-80% der Retardierungen aus und entwickelt sich im letzten Schwangerschaftstrimenon. Bei dieser Form liegt das Geburtsgewicht unterhalb des definierten Grenzwertes und die Geburtslänge im Normbereich, d.h. die Körperlänge und der Kopfumfang sind von der Retardierung im Vergleich zum Körpergewicht minimal betroffen [23].

Klinische Bedeutung der Dopplersonographie

Die Dopplersonographie ist in der Geburtshilfe und Pränatalmedizin eine wichtige additive Methode zur Beurteilung und Überwachung von Risikoschwangerschaften wie z. B. der intrauterinen Wachstumsretardierung und der Präeklampsie. Einen nicht unerheblichen Teil der unterschiedlichen Mechanismen dieser Schwangerschaftspathologien machen Veränderungen der utero- und fetoplazentaren Hämodynamik aus [25].

A. uterina

Die Dopplersonographie der A.uterina ist ein Maß für die uteroplazentaren Strömungsverhältnisse. Eine pathologische uteroplazentare Gefäßversorgung zeichnet sich typischerweise durch eine Persistenz der postsystolischen Inzisur (Notch) und hohe Widerstandsindizes (RI) aus [26].

Die unteren Abbildungen zeigen ein unauffälliges gegenüber einem pathologischen Dopplersonogramm der A.uterina mit Notch als Zeichen eines hohen vaskulären Widerstandes. Es konnte im Verlauf gezeigt werden, dass je ausgeprägter der Schweregrad des klinischen Krankheitsbildes ist, desto höher ist auch der RI und umgekehrt [27].

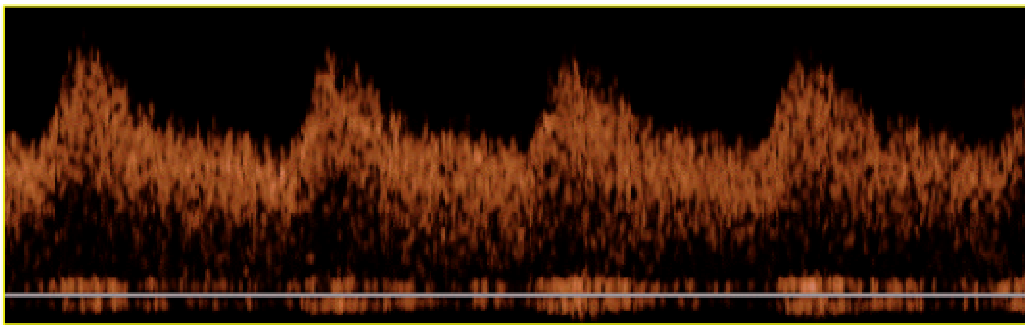


Abbildung 1.4.: Physiologisches Strömungsprofil der A. uterina nach 24 SSW, aus [28].

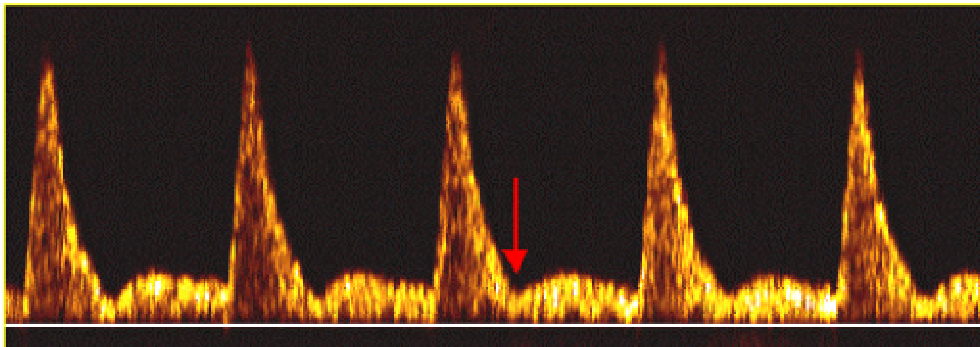


Abbildung 1.5.: Pathologisches Strömungsprofil der A. uterina mit erhöhter Impedanz und postsystolischem Notch, auf den der rote Pfeil hinweist, aus [28].

A. umbilicalis

Mit Hilfe der Dopplersonographie der A. umbilicalis kann man die fetoplazentaren Strömungsverhältnisse und die Qualität der fetalen Blutversorgung beurteilen [27, 29]. Eine pathologische Plazentaentwicklung zeigt auch Auswirkungen auf das Dopplersonogramm der Umbilikalarterien im Sinne erhöhter Widerstandsindizes mit enddiastolischem Flussverlust bis

hin zur Flussumkehr, dem so genannten ARED-Fluss („Absent or Reversed End-Diastolic“-Flow, [ARED-Flow]) [28].

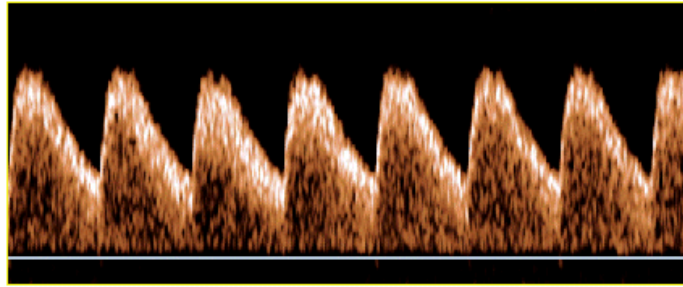


Abbildung 1.6.: Physiologisches Strömungsprofil der A. umbilicalis, aus [28].

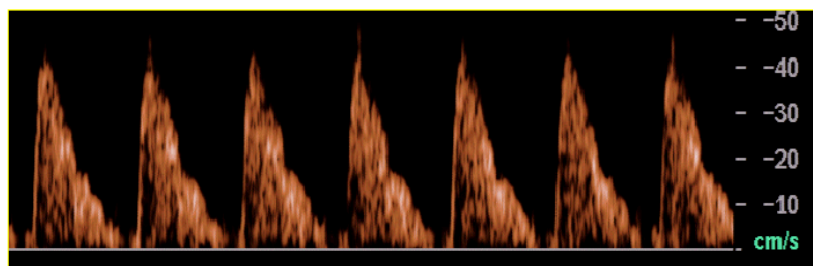


Abbildung 1.7.: Flussprofil der A. umbilicalis mit enddiastolischem Nullfluss (Zero-Flow), aus [28].

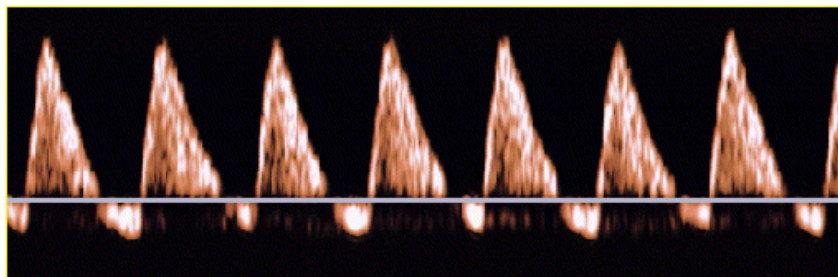


Abbildung 1.8.: Flussprofil der A. umbilicalis mit enddiastolischem Rückfluss (Reverse-Flow), aus [28].

Die einzige kausale Therapie der Präeklampsie zur Verhinderung schwerer mütterlicher Komplikationen ist nur die Beendigung der Gravidität mit Entfernung der Plazenta als auslösende Ursache. Damit ist aber häufig eine erhebliche Frühgeburtlichkeit verbunden.

Durch eine stärkere Überwachung der genannten Parameter kann eine Prognosestellung und Therapieplanung erfolgen, um unter anderem den idealen Entbindungszeitpunkt und die Planung der Entbindung zu ermöglichen [30].

1.2.2.2. Folge 2: gestörte Angiogenese

Lange wurde darüber diskutiert, worin die Verbindung einer fehlentwickelten Plazenta mit der Entstehung der mütterlichen Symptome im Rahmen einer Präeklampsie bestand. Es wurde diskutiert, dass die Plazenta einen oder mehrerer Faktoren in den mütterlichen Kreislauf abgeben könnte, die dazu führten. Dafür spricht die Tatsache, dass die postpartale Retransfusion vor der Entbindung entnommenen Blutes bei Präeklampsie-Patientinnen erneut zum Blutdruckanstieg führte, während solche Effekte durch Blut normotensiver Schwangerer nicht auszulösen waren [31]. An isolierten Widerstandsgefäßen normotensiver Schwangerer konnte dies nach Behandlung mit dem Plasma von Präeklampsie-Patientinnen ebenso beobachtet werden [32].

Im derzeitigen Fokus der Forschung stehen folgende Faktoren: VEGF, PlGF und sFlt-1 sowie ein agonistischer Autoantikörper gegen den Angiotensin-Rezeptor-1.

VEGF (vascular endothelial growth factor) ist ein potenter angiogenetischer und mitogener Faktor. PlGF (placental growth factor) ist dem VEGF in Aufbau und Funktion sehr ähnlich und wird durch die Plazenta produziert [13]. Beide stehen im Mittelpunkt eines Regulationssystems für die Formation von Blutgefäßen während der embryonalen Entwicklung und sind wichtige Determinanten der Differenzierung von Hämangioblasten in endotheliale Vorläuferzellen [33]. Sie stabilisieren die Endothelzellen in Blutgefäßen nicht nur der Nieren, sondern auch der Leber und des Gehirns [34].

Durch alternatives Splicing entsteht aus dem VEGF-Rezeptor 1 das sFlt-1, die lösliche Form des Rezeptors, welcher durch eine fehlende transmembrane Domäne zwar in der Lage ist, VEGF und auch PlGF zu binden, aber nicht deren Effekte an die Zelle vermittelt. Es bindet VEGF und PlGF irreversibel und senkt damit deren Wirkungsspiegel im Serum [35, 36]. sFlt-1 wird von Synzytiotrophoblasten gebildet und vermindert die Invasivität von Trophoblasten [37]. Im 3. Trimenon steigt natürlicherweise der Serumspiegel von sFlt-1 an, was eine abgeschlossene Plazentaentwicklung repräsentiert und damit die fehlende Notwendigkeit einer weiteren Angiogenese [34].

Durch die Arbeiten von Karumanchi et al. konnten zu einer gestörten Angiogenese im Rahmen einer Präeklampsie folgende Aussagen getroffen werden: sFlt1-Serumspiegel erkrankter Frauen sind signifikant gegenüber gesunden Schwangeren erhöht. Im Gegensatz dazu sind die Werte für VEGF und PlGF erniedrigt [38, 39]. Die Beteiligung einer gestörten Angiogenese an der Entstehung präeklampsietypischer Symptome ist demnach nahe liegend.

1.2.3. Folge 3: ein gestörtes Renin-Angiotensin-System

Ein weiterer Gegenstand der Präeklampsieforschung ist die Rolle des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems in der Entstehung und Vermittlung des klinischen Erkrankungsbildes, insbesondere da bei diesen Patientinnen die Bildung eines Antikörpers gegen einen Angiotensinrezeptor nachgewiesen werden konnte.

1.2.3.1. Das Renin-Angiotensin-System in einer normalen Schwangerschaft

Das zirkulierende Renin-Angiotensin-System (RAS) beinhaltet eine Signalkaskade, die den systemischen Blutdruck und die Balance der Serumelektrolyte reguliert. Das Enzym Renin wird in den juxtaglomerulären Zellen der afferenten Nierenarteriolen gebildet, wenn der Perfusionsdruck der Niere oder die Konzentration zirkulierenden Natriumchlorides sinkt.

Renin spaltet enzymatisch das in der Leber produzierte Angiotensinogen in Angiotensin I (Ang I). Dieses Aminopetid bildet die biologisch funktionslose Vorstufe von Angiotensin II (Ang II), welches durch das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) abgespalten wird (in der Lunge produziert). Angiotensin II wiederum, als biologisch aktive Form, bindet an zwei Typen von Rezeptoren: dem AT1- und dem AT2-Rezeptor.

Die meisten Ang II-Effekte werden über die Aktivierung des AT1-Rezeptors vermittelt, welcher unter anderem auf der Oberfläche glatter Gefäßmuskelzellen und der Nebennieren exprimiert wird. Seine Aktivierung führt zu einer Vasonkonstriktion, Aktivierung des sympathischen Systems und Ausschüttung von Aldosteron [40].

Darüber hinaus wurden neben dem klassischen RAS auch lokale RAS beschrieben, wie im Gehirn, dem Herzen, den Ovarien und der Plazenta [41, 42].

Während einer Schwangerschaft unterliegt das RAS bedeutenden Veränderungen. Schon frühzeitig kommt es zu einem Anstieg der Reninproduktion in extrarenalen Geweben wie den Ovarien und der maternalen Dezidua [43]. Die Synthese von Angiotensinogen in der Leber wird durch die erhöhten Östrogenspiegel der wachsenden Plazenta gesteigert. Dies führt zu erhöhten Serumspiegeln von Ang II [44].

Obwohl die Ang II-Level während einer Schwangerschaft steigen, scheinen normotensive schwangere Frauen jedoch resistent gegenüber seinem vasopressorischen Effekt zu sein. Ein Grund dafür scheint eine vermehrte Inaktivierung der AT1-Rezeptoren zu sein [45].

1.2.3.2. Das RAS in der Präeklampsie

Verschiedene Aspekte des RAS sind im Rahmen einer Präeklampsie verändert. Ausgenommen dem ACE sind die zirkulierenden Komponenten des RAS in einer normalen Schwangerschaft

erhöht. Eine Studie von Merrill et al demonstrierte, dass dies in einer Präeklampsie nicht der Fall ist. Die zirkulierenden Spiegel von Renin, Ang I und Aldosteron sind in diesem Fall erniedrigt [46].

Während es bei normotensiven Schwangeren zu einer verminderten vaskulären Sensibilität auf Ang II kommt, zeigen Präeklampsiepatientinnen eine erhöhte Sensibilität in der Nebennierenrinde und dem Gefäßsystem [47]. Dieses Phänomen könnte in der Aktivität der AT1-Rezeptoren begründet sein. Während einer normalen Schwangerschaft werden die heterodimeren AT1-Rezeptoren durch Sauerstoffradikale (ROS = radical oxygen species) in eine monomere Form überführt, die weniger sensibel für Ang II ist [45]. Im Falle einer Präeklampsie werden die AT1-Rezeptoren weiterhin in der heterodimeren Form gefunden. Diese zeigen sich resistent auf die ROS-Inaktivierung und hypersensibel auf Ang II [45, 48]. Diese Veränderungen zeigen sich postpartal rückläufig.

1.2.3.3. Die Bedeutung eines Autoantikörpers

Ein Puzzelteil des System ist, dass bei Frauen im Erkrankungsfall erniedrigte Level von Ang II gefunden werden können [47], die Patientinnen aber an Symptomen leiden, die mit erhöhten Spiegeln oder einer erhöhten Rezeptoraktivität verbunden sind.

Ein großer Schritt zum besseren Verständnis wurde durch die Studien von Dechend et al. und Wallukat et al. erreicht, die darüber berichteten, dass bei Frauen mit einer Präeklampsie ein Autoantikörper gefunden werden kann, der den AT1-Rezeptor stimuliert = AT1-Autoantikörper (AT1-AA) [49]. Der AT1-AA beschleunigt die Schlagfrequenz neonataler Rattencardiomyozyten, ein Umstand, der mit einem selektiven AT1-Blocker gehemmt werden konnte, nicht aber durch einen AT2-Blocker. Wallukat et al war es möglich nachzuweisen, dass der untersuchte Autoantikörper an eine Aminosäuresequenz der zweiten extrazellulären Einheit der AT1-Rezeptor bindet und damit spezifisch für diesen ist. Nach der Geburt, verschwindet der Autoantikörper schnell, was ebenfalls den Zusammenhang mit einer Erkrankung an Präeklampsie bekräftigt [50, 51].

Die Rolle des AT1-AA für die Plazenta

Studien brachten sFlt-1 eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der Plazenta und der Entstehung der Präeklampsie ein [39, 52]. Der Autoantikörper AT1-AA könnte ebenso eine Rolle in diesem System spielen. Während einer normalen Schwangerschaft produziert die Plazenta sFlt-1 über die Stimulation der Trophoblastenzellen durch Ang II [53]. Damit könnte eine Überstimulation des AT1-Rezeptors zu einer überschießenden Produktion von sFlt führen.

Freie Sauerstoffradikale (ROS) sind ein normales Abfallprodukt aerober Stoffwechselfvorgänge. Bei einem Überschuss sind die antioxidativen Mechanismen des Körpers nicht mehr in der Lage, die hochreaktiven Moleküle abzufangen, was zu Schäden an DNA, Fetten und Proteinen führen kann. In diesem Zusammenhang führen sie in einer Schwangerschaft zu direkten Schäden am placentaren Gewebe. Die teratogenen Effekte des ROS können den Fetus schädigen, besonders in der sensiblen Phase der Organentstehung [54, 55]. Das ROS ist in einer Präeklampsie vermehrt und könnte eine wichtige Rolle bei der gestörten Plazentation spielen [56]. Dechend et al fanden heraus, dass die AT1-AA über das Enzym NADPH-Oxidase die Produktion von ROS in placentaren Trophoblastenzellen und glatten Gefäßmuskelzellen erhöhen [57]. Zusammenfassend vermitteln AT1-AA vermehrt pathologische Vorgänge, wie sie in Plazenten präeklampsischer Patientinnen gefunden werden können.

Die Rolle des AT1-AA für die Mutter

In Anlehnung an die Wirkung des Autoantikörpers auf die placentaren Vorgänge, spielt der Antikörper eine ebenso wichtige Rolle in Bezug auf mütterliche Belange, wie endotheliale Dysfunktion und Gefäßschädigung, die diese Erkrankung ebenso charakterisieren.

Die Stimulation des AT1-Rezeptors führt zu einer Vasokonstriktion und damit arteriellen Hypertonus, des Weiteren zu Nierenschädigung und gestörter Blutgerinnung. Es ist wahrscheinlich, dass die Wirkung eines AT1-AA, initiiert durch eine fehlerhafte Entwicklung der Plazenta, Anteile an der Entwicklung der klinischen Symptome einer erkrankten Mutter hat [49]. Im Zentrum der folgenden Ausführung steht die mütterliche endotheliale Dysfunktion und über welche Botenstoffe diese vermittelt wird.

1.2.4. Folge 4: die endotheliale Dysfunktion

Um den steigenden Anforderungen des wachsenden Fetus gerecht zu werden, verändern sich viele hämodynamische Parameter in einer normalen Schwangerschaft: der periphere Widerstand und der Blutdruck sinken, das Herzzeitvolumen steigt. Eine Präeklampsie führt zu einer weitreichenden Vasokonstriktion, Widerstandserhöhung und Senkung des Herzzeitvolumens [58]. Die Daten unzähliger Studien zeigen, dass eine generalisierte Endotheldysfunktion die Ursache für die klinischen Symptome einer Präeklampsie ist. Seren von Frauen mit einer Präeklampsie zeigen erhöhte Spiegel von Markern des Endothelzellunterganges wie Fibronectin, Faktor-VIII-Antigen und Thrombomodulin. Deshalb wird die Präeklampsie häufig als Erkrankung des Endothels verstanden [3].

Am Anfang dieser verhängnisvollen pathophysiologischen Reaktion steht wahrscheinlich eine Störung in der Balance der endothelialen Vasodilatoren und –konstriktoren. Zusätzlich verstärkt wird die Vasokonstriktion in diesen Fällen durch eine Überaktivität des sympathischen Nervensystems [59], die wiederum zu einer veränderten Expression und Sekretion vasoaktiver Substanzen im Endothel führt [60].

Während die Ansprechbarkeit des mütterlichen Gefäßsystems auf vasokontraktile Stimuli in einer normalen Schwangerschaft sinkt, zeichnet sich eine Präeklampsie durch eine erhöhte Ansprechbarkeit für Norepinephrin und Angiotensin II aus und weist eine verminderte endothelvermittelte Vasorelaxation auf [58].

Stickstoffmonoxid (NO)

Das Stickstoffmonoxid stellt einen wichtigen Vasodilatator dar. Das Molekül wird gleichzeitig als wichtigster Antagonist der Vasonkonstriktoren angesehen. Es gilt als sicher, dass das NO-System beim Menschen in der normalen Schwangerschaft entscheidend zur peripheren Vasodilatation und zur Zunahme der Nierenperfusion beiträgt und NO in einer Schwangerschaft vermehrt produziert wird [61, 62]. Da die Präeklampsie durch eine Umkehr dieser physiologischen hämodynamischen Veränderungen gekennzeichnet ist, stellte sich die Frage, ob diese Veränderungen durch einen Mangel an endothelial verfügbarem NO entstehen.

Tatsächlich ließ sich zeigen, dass die Verabreichung von Inhibitoren der NO-Synthase (NOS) im Tierversuch eine der Präeklampsie ähnliche Symptomatik hervorruft [63, 64]. Ein Mangel an NO könnte demnach zur Vasokonstriktion und Präeklampsie beitragen. Der in vivo-Nachweis einer verminderten NO-Produktion bei Patientinnen mit Präeklampsie ist aber bisher nicht gelungen. Es gibt im Gegenteil sogar Hinweise darauf, dass das NO-System (zumindest in der Plazenta) bei der Präeklampsie aktiviert ist und damit gegenregulatorisch zu den andersartig pathologisch veränderten hämodynamischen Veränderungen wirken könnte [61]. Somit scheint nicht unbedingt die Produktion dieser Faktoren bei einer Präeklampsie beeinträchtigt, sondern die Abschwächung ihrer Wirkung von Bedeutung zu sein. Ein solcher funktioneller Antagonismus könnte beispielsweise durch Komponenten des Endothelin-Systems verursacht werden.

Endothelin

Endothelin ist ein hochwirksamer Vasokonstriktor. Es gibt mindestens drei bekannte Varianten des Endothelins, wobei das ET1 die wichtigste Bedeutung für das Herz-Kreislaufsystem beinhaltet [65]. In den meisten Untersuchungen bei der Präeklampsie ist eine Erhöhung der ET1-Spiegel im Plasma [66, 67] nachweisbar. Außerdem besitzt ET1 insbesondere eine vasokonstriktorische Potenz für das uterine und renale Gefäßbett, zwei Systeme, die bei der Präeklampsie vor allem von Veränderungen betroffen sind. Endothelin vermittelt seine Effekte über Rezeptoren, von denen zwei Subtypen bekannt sind. Beide sind auf dem menschlichen Endothel nachweisbar. Ein Subtyp vermittelt die klassische Vasokonstriktion, der andere führt, auch über die Freisetzung von NO, zu einer Vasodilatation [65].

Prostazyklin (PGI₂) und Thromboxan (TxA₂)

Aus der Arachidonsäure wird über die Cyclooxygenase Prostazyklin (oder Prostaglandin, PGI₂) gebildet. Prostazyklin führt ebenfalls zu einer Relaxation von glatten Gefäßmuskelzellen [68]. Prostazyklin hat ein ähnliches Wirkungsspektrum auf den Gefäßtonus wie NO. Die Ausscheidung von 6-Keto-Prostaglandin F1- α , dem stabilen Metaboliten des PGI₂, nimmt bei der Präeklampsie ab [69]; gleichzeitig wird verstärkt Thromboxan A₂ freigesetzt [70]. Thromboxan ist ein Prostanoid, welches ebenfalls über die Cyclooxygenase gebildet wird. Thromboxan ist der wichtigste Gegenspieler des Prostazyklins und bewirkt eine Thrombozytenaggregation, aber auch eine starke Vasokonstriktion [71]. Im Rahmen einer Präeklampsie besteht also eine erhebliche Imbalance dieser so gegensätzlich wirkenden Prostanoiden. Dies wird gespiegelt durch eine niedrigere Prostazyklin/Thromboxan-Ratio zugunsten der Vasokonstriktion [72].

Alle diese Marker sind im Verlauf der Erkrankung früh in ihren einzelnen Veränderungen und noch vor dem Auftreten klinischer Symptome nachweisbar, was impliziert, dass die Endothelzelldysfunktion nicht eine Folge sondern eine Ursache der klinischen Symptome einer Präeklampsie darstellt.

1.3. Ein Tiermodell für die Präeklampsie

Um die Entstehung einer Erkrankung zu verstehen ist es zweifellos wichtig, die genauen pathophysiologischen Vorgänge detailliert zu untersuchen, um im Idealfall Rückschlüsse auf eine mögliche Therapie zu ziehen und diese zu testen. Unumstritten erhält dabei die Evaluation eines Tiermodells eine bedeutende Rolle.

Ein Tiermodell für die Präeklampsie zu entwickeln hat sich in den letzten Jahrzehnten als schwierig erwiesen, insbesondere da die Erkrankung nur Menschen und höhere Primatenarten betrifft. Nichtsdestotrotz entstanden in jüngerer Zeit viele Ansätze für ein Tiermodell, von denen einige nun folgend erwähnt werden sollen.

1.3.1. Das RUPP-Modell

Das RUPP-Modell (reduced uterine perfusion pressure) gehört sicherlich zu den am besten untersuchten Tiermodellen zur Erforschung der Präeklampsie.

1939 testeten Odgen et al. die Hypothese, dass eine uteroplazentare Ischämie einen Hypertonus bei schwangeren Tieren verursachen kann [73]. Durch eine chirurgische Intervention platzierten sie bei schwangeren Hunden Klammern um die abdominelle Aorta, distal der Abgänge der Nierenarterien und oberhalb der Aortenbifurkation, und erreichten somit eine 50%ige Reduktion des uteroplazentaren Blutflusses. Innerhalb weniger Minuten stieg daraufhin der systemische Blutdruck der Tiere an, was sich nach Entfernung der Klammern wieder normalisierte. Woods und Brooks konnten durch ihre Arbeit zeigen, dass die Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase den Blutdruckanstieg nahezu komplett blockieren konnte und postulierten erstmals die Rolle des Arachidonsäurestoffwechsels und insbesondere des Thromboxans in einem Tiermodell zur Präeklampsie [74, 75]. Nachfolgend gelang mit dieser Methode der Nachweis eines erhöhten systemischen Blutdruckes, Proteinurie, glomerulären Endotheliose, intrakapillären Fibrinablagerungen, Plazentanekrosen und intrauterinen Wachstumsretardierung bei einer Vielzahl verschiedener Tierarten [76]. Und auch der Nachweis einer endothelialen Dysfunktion gelang (vermehrtes Ansprechen auf α -adrenerge Stimuli, verminderte endothelbedingte Vasorelaxation [77]). Die Feten dieser Mütter zeigen eine intrauterine Wachstumsretardierung [78]. Die Inkubation von Widerstandgefäßen normal schwangerer Ratten mit dem Serum von „RUPP-Tieren“ erbrachte ebenfalls eine gesteigerte Vasonkonstriktion und verminderte Vasorelaxation, woraus geschlossen werden konnte, dass es auch im RUPP-Modell zur Produktion zirkulierender Faktoren kommt [79]. Und schließlich gelang der Nachweis erhöhter sFlt-1- und erniedrigter VEGF- und PlGF-Spiegel in diesem Tiermodell [80]. RUPP-Ratten

entwickelten außerdem Antikörper gegen den Angiotensin-Rezeptor 1, was ebenfalls eine Verbindung zwischen reduzierter placentarer Perfusion und einem gestörten RAS zulässt [81]. Das RUPP-Modell geht in seiner Gesamtheit davon aus, dass eine reduzierte uteroplazentare Perfusion zu einer Hypoxie/Ischämie der Plazenta führt, die wiederum die weiteren pathophysiologischen Prozesse in Gang bringt. Studien haben gezeigt, dass eine Reduktion der uteroplazentaren Durchblutung aber nicht in dem Ausmaß zu einer Störung der Trophoblasteninvasion führt, wie man es hätte annehmen können [82]. Die Frage, ob eine gestörte Trophoblasteninvasion und inadäquates Remodeling der Gefäße also allein durch eine Hypoxie bedingt sind, oder die Hypoxie eine Folge der pathologischen Plazentation ist, ist schwer zu beantworten [34].

1.3.2. Das sFlt-1-Modell

Wie schon an vorangegangener Stelle beschrieben, konnten Karumanchi und seine Mitarbeiter in den Seren präeklampsieerkrankter Patientinnen erhöhte Spiegel an sFlt-1 und erniedrigte VEGF-Spiegel nachweisen. In folgenden Studien gelang es ihnen, die Bedeutung einer gestörten Angiogenese für die Entstehung einer Präeklampsie weiter zu erforschen und ihr Erkenntnisse auch auf ein Tiermodell zu übertragen.

Zunächst setzten sie Endothelzellkulturen dem Serum präeklampsischer Frauen aus. Dadurch kam es zu einer völlig gestörten Endothelzellentwicklung. Gab man das Serum normaler Schwangerer zu den Kulturen entwickelten sich normale Endothelstrukturen. Gab man wiederum sFlt1 hinzu, kam es zu einer Zerstörung des normalen Endothelwachstums [83].

Um dieses Phänomen auch auf ein Tiermodell zu übertragen, wurde sFlt-1 schwangeren Ratten im letzten Trimenon der Schwangerschaft infundiert, was zu Hypertonus, Proteinurie und pathologischen Nierenveränderungen führte [84]. Da aber sFlt-1 allein nicht alle Veränderungen erklären konnten (vor allem Störungen in der Blutgerinnung, Thrombozytenfunktion und Leberschädigung), forschten Karumanchi et al weiter und fanden ein weiteres Protein, das Endoglin [85]. Beide Substanzen zusammen konnten im Tierversuch das Vollbild einer schweren Präeklampsie mit Symptomen des HELLP-Syndroms auslösen. Auch konnte durch einen Vektor (Adenovirus) die Information für humanes sFlt-1 in das Genom schwangerer Ratten eingebracht werden, was ebenso zu einem Präeklampsie-typischen Phänotyp führte [38]. Abschließend konnten Li et al. 2007 zeigen, dass die Symptome, die durch eine sFlt-1-Überexpression entstanden, durch die Therapie mit rekombiniertem VEGF aufgehoben werden konnten [86].

1.3.3. Weitere Tiermodelle zur Präeklampsie

Um noch ein weiteres Beispiel aus der Vielfalt tierexperimenteller Versuchsreihen zu zeigen, demonstrierten Davis et al. die Rolle immunologischer Prozesse in der Entstehung der Präeklampsie. Sie testeten die Hypothese, dass eine plazentare Ischämie zu einer Ausschüttung von Zytokinen wie z.B. dem Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) führt, welches zu einem erhöhten vaskulären Widerstand führen könnte. Sie infundierten schwangeren Ratten über fünf Tage TNF- α und konnten nachweisen, dass diese Tiere an Hypertonus und Proteinurie litten. Des Weiteren zeigte sich in der Untersuchung entnommener Gefäße eine verstärkte Ansprechbarkeit auf vasokonstriktive Stimuli sowie eine herabgesetzte endothelvermittelte Vasorelaxation [87].

Da TNF- α zu einer Erhöhung von IL-6 im Serum dieser Ratten führte, wurde durch eine weitere Arbeit belegt, dass die Gabe von IL-6 bei schwangeren Ratten selbst im Vergleich zu nicht behandelten schwangeren Tieren diese Ergebnisse erbrachte [88]. Der genaue Mechanismus, wodurch die Behandlung von TNF- α und IL-6 zu den präeklampsietypischen Symptomen führt, blieb letztlich aber ungeklärt.

1.3.4. TGR: transgenes Rattenmodell für Präeklampsie

Nagetiere und Menschen zeigen ähnliche Strukturen und Ausbildung ihrer Plazenten [89]. Das RAS von Nagetieren und Menschen ist ebenfalls ähnlich. Bei der Maus gibt es zwei Isoformen des AT1-Rezeptors – AT1a und AT1b, während es beim Menschen nur eine Isoform gibt. Trotz der Unterschiede zwischen Plazenten des Menschen und der Nagetiere bieten sich Mäuse und Ratten dank eines großen Verständnisses ihrer Schwangerschaften und deren RAS als Grundlage eines Tiermodells an.

Takimoto et al beschrieben einen schwangerschaftsinduzierten Hypertonus, hervorgerufen durch plazentar produziertes Renin und maternales Angiotensinogen. Dabei wurden Mäuse gezüchtet, die zum einen transgen für das humane Renin-Gen, zum anderen transgen für das humane Angiotensinogen-Gen waren. Da das RAS der Mäuse nicht mit dem humanen RAS interagiert, konnten Rückschlüsse auf humane Vorgänge gezogen werden. Die Feten dieser Kreuzungen entwickelten einen schweren Hypertonus mit multiplen Organmanifestationen und verstarben innerhalb von sieben Wochen nach der Geburt. Die schwangeren Tiere aus einer bestimmten Verpaarung, nämlich weiblich humanes Angiotensinogen-Gen und männlich humanes Renin-Gen entwickelten im dritten Trimenon der Schwangerschaft einen Hypertonus. Es konnte gezeigt werden, dass plazentar produziertes humanes Renin mit dem von der Mutter produziertem humanen Angiotensinogen reagierte und Angiotensin II vermehrt gebildet wurde [90].

Es wurde vermutet, dass diese Beobachtungen zu einem Modell „genetisch induzierter Präeklampsie“ führen könnten.

Bohlender et al. adaptierten das von Takimoto et al. publizierte Modell und konnten die oben genannten Ergebnisse auch bei Ratten reproduzieren [91].

Dechend et al. konnten im Folgenden die von Bohlender et al. gewonnenen Erkenntnisse fortführen [50]. Blutdruckmessungen zeigten, dass in der Gruppe der so genannten „präeklampsischen Kreuzung“ (PM) ein Blutdruckanstieg nach dem 13. Embryonaltag vorliegt, der bis zur Geburt am 21. Tag der Schwangerschaft voranschreitet und nach der Geburt auf normale Werte abfällt. Des Weiteren konnte bei diesen Tieren eine Albuminurie festgestellt werden. Die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen der Nieren der erkrankten Mütter ergaben Ablagerungen von Fibrin und IgG, bevorzugt in den Glomerula, sowie eine Endothelzellschwellung und Einwanderung von Immunzellen und Ablagerungen von Komplementfaktoren, Zeichen wie sie im Rahmen einer Endotheliose auch charakteristisch für eine Präeklampsieerkrankung sind.

Innerhalb dieses Tiermodells wurden auch die Trophoblasteninvasion und das Remodeling der uterinen Arterien untersucht. Es zeigte sich jedoch, dass sowohl in der präeklampsischen wie auch in der umgekehrten, asymptomatischen Kreuzung Remodeling und tiefe Trophoblasteninvasion gefunden werden konnte. Jedoch zeigten einige der Arterien fokale Wandnekrosen und Einwanderung von Entzündungszellen, Charakteristika, wie sie für einen erhöhten oxidativen Stress und Atherosose typisch und auch charakteristisch für Präeklampsie sind [50]. In dem vorliegenden Modell produzieren die Ratten der PM den zuvor beschriebenen agonistischen Antikörper gegen den Rezeptor von Angiotensin II, welcher im Serum am 18. Tag der Schwangerschaft nachgewiesen werden konnte.

Da ein Autoantikörper auch bei humanen Schwangeren im Falle einer Präeklampsie nachgewiesen werden kann und eine wichtige Rolle im Verlauf der Kaskade zu spielen scheint, könnte dieses Tiermodell zu weiteren Erforschung pathophysiologischer Prozesse von großem Nutzen sein.

Zur weiteren Evaluierung dieses Tiermodells stellt sich nun die Frage, ob im vorliegenden Tiermodell die Eckpunkte des klinischen Erkrankungsbildes: endotheliale Dysfunktion und intrauterine Wachstumsretardierung, nachvollzogen werden können.

2. Herleitung der Fragestellung

Hypothesen und Fragestellungen:

Im Rahmen der Evaluation des transgenen Tiermodells zur Präeklampsie wurden in der vorliegenden Arbeit drei Schwerpunkte untersucht:

1. Ist in diesem Tiermodell anhand gefäßmyographischer Untersuchungen eine endotheliale Dysfunktion nachweisbar, wie sie auch bei der humanen Erkrankung auftritt?
2. Sind biochemische Veränderungen vorhanden, wie sie auch bei Präeklampsiepatientinnen zu beobachten sind?
3. Ultraschalluntersuchungen zur Verfolgung der Gefäßwiderstände und des embryonalen Wachstums sind für das Screening und den Verlauf unerlässlich. Wie stellen sich die Parameter im vorliegenden Tiermodell dar und gibt es Parallelen?

Teilhypothesen:

Zu 1.:

- Wie verhält sich die Kontraktilität uteriner Arterien zwischen der erkrankten Gruppe und der schwangeren und nicht schwangeren Gruppe? Erhoben werden sollen dabei Daten zu einer einmaligen Gabe eines kontraktiven Agonisten und Daten zu dessen Dosis-Wirkungskurve.
- Gibt es bei den erkrankten Tieren eine charakteristische Endotheldysfunktion in Form einer verminderten Ansprechbarkeit auf einen endothelabhängigen Vasorelaxator nach einmaliger Dosierung und Dosis-Wirkungskurve?
- Sind, wenn Dysfunktionen auftreten, diese interventionell zu beeinflussen?

Zu 2.:

- Ist eine gestörte Balance zwischen kontraktiven Agonisten und Vasorelaxantien im Blut der erkrankten Tiere messbar?

Zu 3.:

- Gibt es im vorliegenden Tiermodell eine intrauterine Wachstumsretardierung?
- Wie verlaufen gefäßdynamisch erhobene Parameter in einer normalen Schwangerschaft von Ratten und wie sind sie mit der humanen Situation vergleichbar?
- Gibt es im Falle einer pathologisch veränderten Gefäßdynamik Parallelen zum humanen Erkrankungsbild?

3. Material und Methoden

3.1. Versuchstiere

Es wurden drei verschiedene Gruppen weiblicher Ratten untersucht (Gewicht der nicht schwangeren Ratten 200 – 300 g, der schwangeren 250 – 430 g, Alter ca. 8 – 16 Wochen). Das Hauptaugenmerk lag auf einer Gruppe transgener Ratten: weibliche Ratten transgen für das humane Angiotensin-Gen [TGR(hAogen)L1623] die verpaart wurden mit männlichen Ratten, transgen für das humane Renin-Gen [TGR(hRenin)L10J]. Wie zuvor beschrieben, entwickeln diese Tiere im Verlauf der zweiten Hälfte der Schwangerschaft Bluthochdruck und Proteinurie. Aus diesem Grund wird die Gruppe mit präeklampsischen Phänotyp im weiteren Verlauf als „präeklampsische Kreuzung“ bezeichnet (= preeclamptic mate = PM). Als Kontrollgruppe dienten schwangere Sprague-Dawley-Ratten (in Zukunft abgekürzt SD-P), aber auch nicht schwangerer Sprague-Dawley-Weibchen (SD-NP). Die Haltung der Versuchstiere entsprach im MDC-Tierhaus mit einer Raumtemperatur von $24 \pm 2^\circ\text{C}$, relativer Luftfeuchtigkeit von 40-50%, 12-stündigem Tag-Nacht-Rhythmus, Pressfutternahrung (Nummer C-1000; Altromin) und freiem Zugang zu Wasser, Standardlaborbedingungen.

Alle Versuche wurden entsprechend den deutschen Tierschutzbedingungen durchgeführt. Alle für das Forschungsvorhaben notwendigen Genehmigungen der Tierversuchskommission wurden eingeholt und sind vorliegend.

3.2. Isometrische Kontraktionsmessungen an der uterinen Arterie

3.2.1. Präparation der Untersuchungsgefäße

Die Versuchstiere wurden am 18. Tag der Schwangerschaft nach einer kurzen Inhalationsnarkose mit Diethylether durch einen Dekapitator (TSE, Bad Homburg) getötet und mit Pinzette und Schere abdominal eröffnet. Der Uterus mitsamt aller Embryonen wurde dargestellt und zurückgeschlagen. Der Übersichtlichkeit halber wurde das Kolon sigmoideum abgesetzt. Im Anschluss wurden die Hauptäste der Aa. uterinae beidseits im Verlauf von der A. iliaca interna bis hin zur weiteren Aufteilung dargestellt, vorsichtig mobilisiert und abgetrennt. Die Gefäßpräparate wurden danach schnell in eine Petrischale mit eisgekühlter (4°C), begaster (95% O_2 , 5% CO_2) PSS-Lösung (in mM: 119 Natriumchlorid, 4.7 Kaliumchlorid, 1.2 Kaliumdihydrogenphosphat, 25 Natriumhydrogenkarbonat, 1.2 Magnesiumsulfat, 11.1 Glukose, 1.6 Kalziumchlorid) transferiert und sofort zur Myographie vorbereitet. Dazu wurden die Arterien unter einem Mikroskop (Nikon SMZ 645) in 1 bis 2 Millimeter lange Abschnitte zerteilt. Noch verbliebenes periadventitielles Fettgewebe wurde vorsichtig entfernt.

3.2.2. Das Prinzip der isometrischen Kontraktionsmessung

Blutgefäße werden in ihrer Funktion zur Erhaltung des Kreislaufs unter Druck mit Blut durchströmt. Um Gefäße *in vitro* unter annähernd physiologischen Bedingungen zu untersuchen, gehört der von Mulvany entwickelte Myograph seit mehr als 20 Jahren zu den Standardmethoden. Er beruht auf dem Prinzip, isolierte Gefäße durch unterschiedliche Substanzen isometrisch zu kontrahieren oder relaxieren und die vom Gefäß erzeugte Wandspannung zu bestimmen [92].

Die Messungen in der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe eines Gefäßmyographen der Firma Danish Myo Technologies (Vessel Myograph, Firma Danish Myo Technologies, DMT Multimyograph Model 610M, Aarhus, Dänemark) durchgeführt (siehe untere Abbildung). Zu dessen Vorbereitung wurden die Organkammern mehrfach mit PSS ausgespült, danach das Badvolumen von 5ml aufgefüllt und unter kontinuierlicher Begasung (95% O₂, 5% CO₂) mit Hilfe einer Heizung auf 37°C erwärmt. Diese Bedingungen blieben auch während der Experimente aufrechterhalten und gewährleisteten so die möglichst physiologischen Bedingungen und einen stabilen pH-Wert von 7,4.

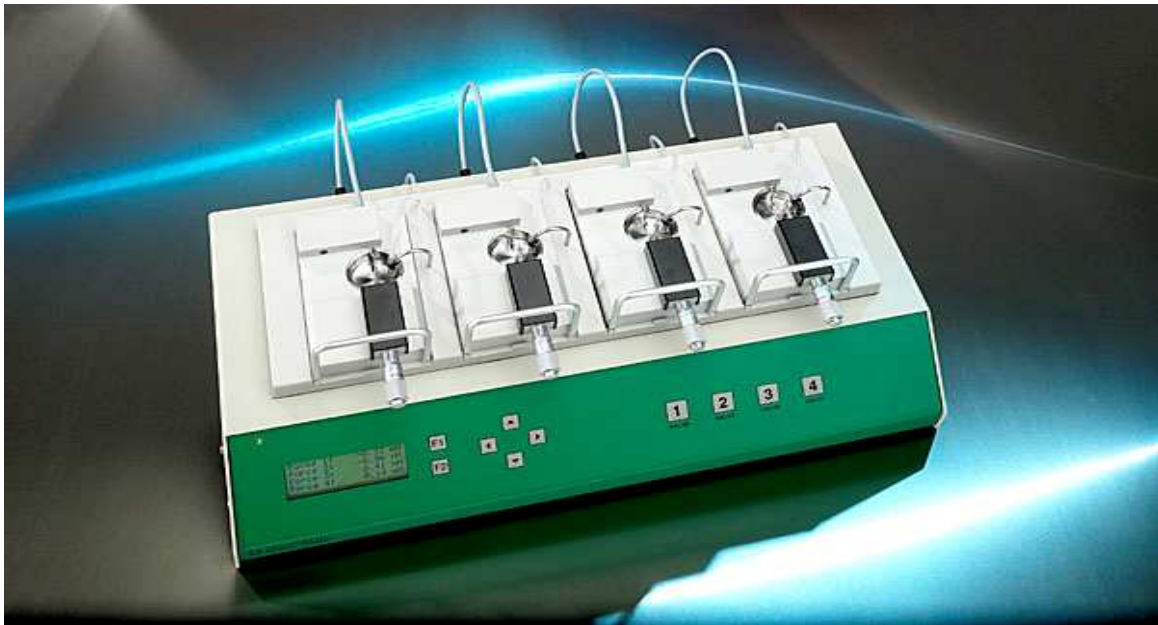


Abbildung 2.1.: Der Myograph DMT-610M der Firma Danish Myo Technologies, (Quelle: <http://www.dmt.dk>); Erläuterungen im Text

Die präparierten Gefäßabschnitte wurden aus der eisgekühlten PSS-Lösung in die vorbereiteten Organkammern des Myographen transferiert. Unter mikroskopischer Sicht wurden unter größter Vorsicht in das Lumen eines jeden Gefäßringes zwei Stahldrähte der Stärke 0,0394 mm, Belastbarkeit bis 0,022 kg eingebracht und an den beiden Halterungen des Myographen befestigt

(siehe untere Abbildung). Die obere Halterung ist mit einem Kraftaufnehmer verbunden, die untere mit einer Mikrometerschraube, über die der Abstand beider Drähte verändert werden kann.

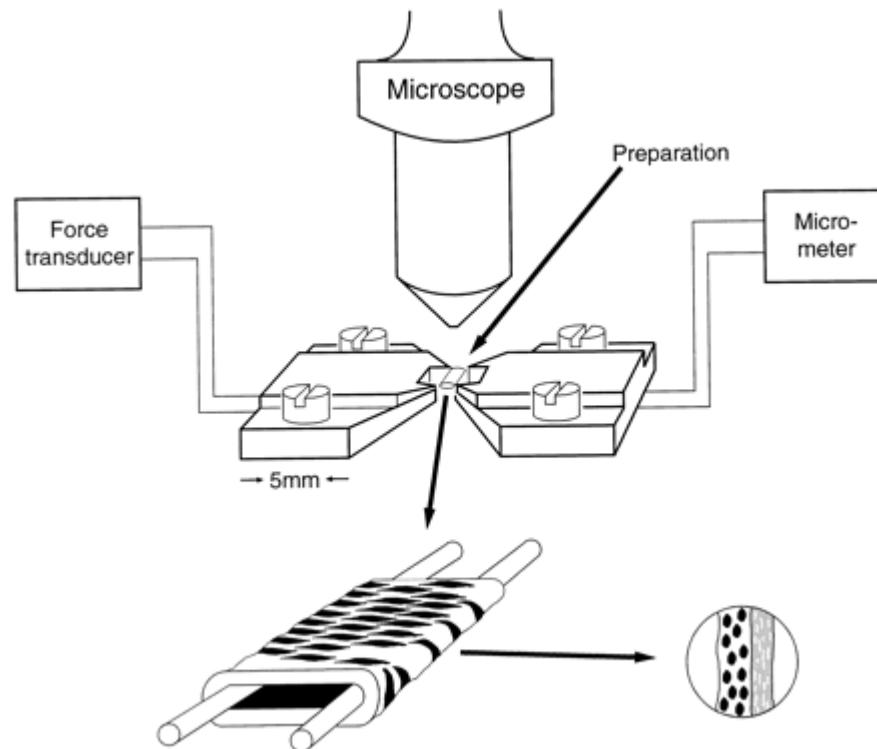


Abbildung 2.2: Gefäß mit eingespannten Drähten

(Quelle: <http://www.dmt.dk>); Erläuterungen im Text

Durch die schrittweise Vergrößerung des Abstandes wird das Gefäß durch Zug gedehnt. Das Ausmaß der Dehnung wird dabei vom Kraftaufnehmer registriert (in mN), das Ausmaß des Abstandes wird über die Eingabe der Werte auf Mikrometerschraube ermittelt. Beide Parameter sowie die Länge des Gefäßabschnittes ermöglichen die Berechnung einer Dehnungskurve als auch die Kontrolle der Wandspannung und des inneren Durchmessers [92]. Die Vergrößerung des Abstandes beider Drähte wird so lange fortgeführt, bis auf das Gefäß einer der Dehnung äquivalenter Druck von 100 mmHg erreicht ist. Nun wird berechnet, welcher Abstand der Drähte eine Dehnung des Gefäßes bewirkt, die 90% der erreichten 100 mmHg entspricht [93]. Auf der Basis dieser passiven Längen-Kraft-Relation, wird so der innere Gefäßdurchmesser berechnet, bei dem die maximale Wandkraftaktivität gemessen werden kann, die Gefäße also unter optimalen, physiologischen Kreislaufbedingungen agieren [94].

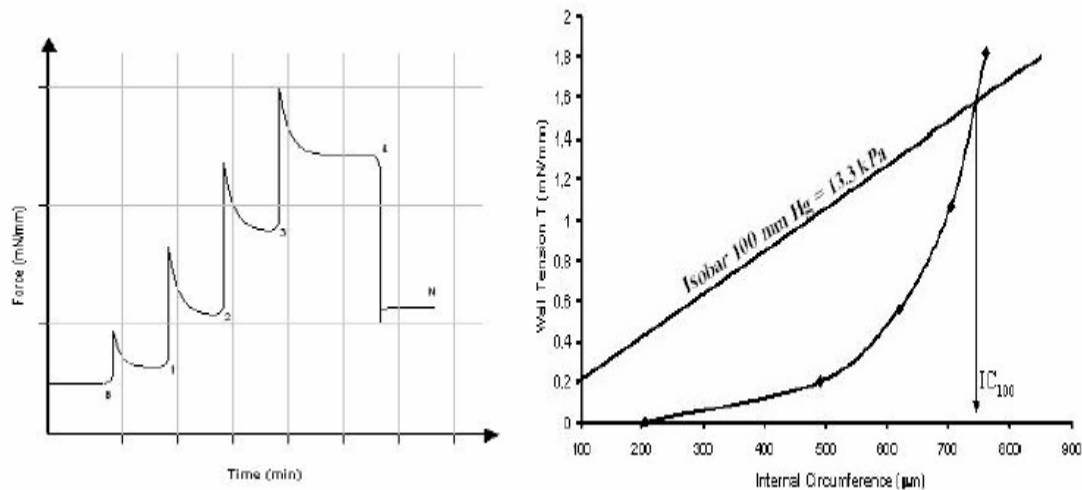


Abbildung 2.3: Normalisierungsprozedur und Ruhe-Dehnungs-Kurve

(Quelle: user manual Version 2.04, DMT); Erläuterungen im Text

3.2.3. Versuchsprotokolle

Nach der Vorspannungsprozedur und anschließender 30minütiger Äquilibrationsphase wurde in die Organkammern eine 60 mM KCl-Lösung geleitet. Infolge der erhöhten extrazellulären Kaliumkonzentration entstand eine Depolarisation der Gefäßmuskelzellen, woraus ein spannungsabhängiger Einstrom von Ca^{2+} -Ionen resultierte [95]. Somit reagierten die stimulierten Gefäße auf die K-Depolarisation mit einer isometrischen Kontraktion [92]. Auf anschließendes Auswaschen mit PSS und Erreichen des stabilen Ausgangsniveaus erfolgte eine erneute Ruhephase der Gefäße über ca. 30 Minuten, bevor mit den weiteren Versuchen begonnen werden konnte.

Protokoll 1: Dosis-Wirkungskurven

Zur Untersuchung der Kontraktilität wurden die Gefäße aller Gruppen schrittweise kontrahiert. Voruntersuchungen zeigten, dass eine stabile Kontraktion der Gefäßabschnitte am besten mit Hilfe von Phenylephrin (in den Dosierungen 10 nM – 30 – 100 – 300 – 1 μM – 3 – 10) erreicht werden konnte, wobei die nächst höhere Dosierungsstufe erst nach Erreichen eines stabilen Kontraktionsplateaus appliziert wurde. Phenylephrin ist ein α -Agonist, der direkt auf die Muskulatur der Gefäße wirkt.

Nach maximaler Kontraktion erfolgte die Relaxation des Gefäßes mit Acetylcholin (in den Dosierungen 10 nM – 30 – 100 – 300 – 1 μM – 3 – 10). Acetylcholin führt, abhängig von einem intakten Endothel, zu einer Freisetzung des relaxierenden NOs.

Dieses Protokoll erfolgte bei den Gefäßen aller Gruppen, um Unterschiede innerhalb dieser sowohl in der Kontraktilität, als auch im Relaxationsverhalten aufzutun.

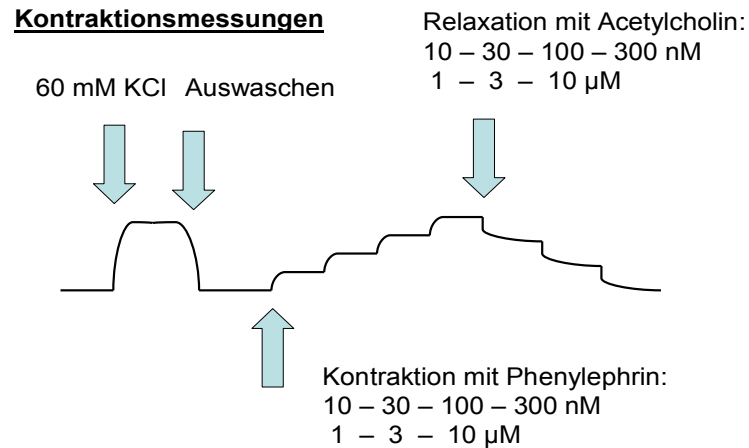


Abbildung 2.4: Versuchsprotokoll 1, Erläuterungen im Text

Protokoll 2: Inkubationsversuche

Nach initialer Kontraktion mit Kalium erfolgte ebenfalls die Durchführung einer Dosis-Wirkungs-Kurve mit Phenylephrin und Acetylcholin. Dem angeschlossen wurde je nach bearbeitetem Protokoll ein Wirkstoff zur Inkubation appliziert und nach einer definierten Zeit eine erneute Dosis-Wirkungskurve erstellt, um einen direkten vergleichenden Nachweis der Wirkung einer Intervention aufzuzeigen

Alle Inkubationsversuche wurden jeweils in der Gruppe der präeklampthischen Kreuzung und schwangeren Kontrollgruppe durchgeführt.

Wirkstoff	Dosis	Inkubationszeit
L-NAME	100 µM	30 min
Indomethacin	5 µM	30 min
SQ 29,548	1 µM	30 min

Tabelle 2.1.:Protokolle zur Inkubationsmessung

3.2.4. Datenerfassung und -analyse

Die Änderungen im Tonus der Gefäße wurden vom Kraftaufnehmer des Myographen in mN registriert, an ein MacLab 4S-System (AD-Instruments, Colorado Springs, USA) übertragen und vom Computerprogramm Chart 5 for Windows gegen die Zeit aufgenommen und graphisch dargestellt. Zur späteren Auswertung wurde der Messwert der initialen K-Kontraktion für die

Berechnungen zur Kontraktilität als Bezugspunkt auf 100% gesetzt. Das Ausmaß einer Relaxation wurde in Prozent der vorangegangenen Maximalkontraktion berechnet.

3.3. Bestimmung der Prostaglandin/Thromboxan-Ratio

Sofort nach der Dekapitation wurde das Blut der Ratten aufgefangen und zehn Minuten bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert.

Die Bestimmung der Prostaglandin/Thromboxan-Ratio erfolgte mittels der Bestimmung von Thromboxan B₂ und dem Prostaglandinabbauprodukt 6-keto-PGF₁α.

Um die zu bestimmenden Proteine aus dem Serum der mütterlichen Ratten zu isolieren, wurde die Methode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) angewendet (Agilent 1200 System, Säule Zobrax Eclipse Plus-C18 4,6 x 150 mm x 1,8 μm bei 40 °C), deren Prinzip auf der Trennung von Proteinen nach molekularer Masse durch eine Flüssigkeit mit Gradienten besteht. Der dazu verwendete Puffer bestand aus Acetonitril/Ammoniumacetat (0,1 mol/l, pH 7,0, Gradient von 15 bis 90 % Acetonitril in 10 min, 0,6 ml/min).

Zur quantitativen Bestimmung der isolierten Proteine diente die Massenspektrometrie (Triple Quadrupole MS/MS Agilent 6410) im ESI-Verfahren (= electrospray ionisation). Dabei werden kleinste geladene Tröpfchen der Probenflüssigkeit in einem hohen elektrischen Feld erzeugt und danach das Lösungsmittel durch heißes Stickstoffgas (350 °C, 12 l/min) verdampft (unter einem Druck von 40 psi, kapilläre Spannung 4500). Die geladenen Proteinmoleküle gelangen dann in den Massenspektrometer, wo sie mit Hilfe eines Vakuums beschleunigt werden. Da die Flugbahn der Proteine charakteristisch ist, kann mithilfe elektrischer Quadrupole die Masse der zu bestimmenden Proteine analysiert werden. Die Detektion von TXB₂ war oberhalb von 0,1 ng/ml, die von 6-keto-PGF₁α oberhalb von 0,5 ng/ml möglich. Anschließend erfolgte die Berechnung der Ratio.

3.4. Ultraschalluntersuchungen und biometrische Daten

Wie einleitend beschrieben ist die Sonographie eine Methode zum Nachweis und zur Kontrolle einer intakten Schwangerschaft sowie zur Detektion verschiedener Pathologien. Durch die Kombination der Ultraschall-B-Bild- und Doppler-Technik gelingt eine nichtinvasive Blutflussmessung. Die vom Ultraschallsender ausgesandten Frequenzen werden von den sich bewegenden Erythrozyten mit einer Frequenzänderung reflektiert (Doppler-Effekt). Da sich die Erythrozyten in verschiedener Geschwindigkeit bewegen, gibt es eine große Zahl unterschiedlicher Frequenzänderungen. Diese werden mit Hilfe eines Frequenzanalysators zu einem bestimmten Zeitpunkt über einem Gefäßquerschnitt dargestellt. Infolge der pulsatilen

Strömung in den Arterien wandert die Blutsäule schubweise voran. Verschiedene Faktoren beeinflussen diese Bewegung, wie zum Beispiel die Viskosität des Blutes, die Elastizität der Gefäßwand, der Durchmesser des Gefäßes und die Kontraktionskraft des Herzens. In der vorliegenden Untersuchung jedoch am wichtigsten war der Faktor, dass die Strömung des Blutes auch durch den Widerstand des nachgeschalteten Gefäßbettes beeinflusst wird. Das Flussspektrum während der Systole und Diastole ermöglicht Rückschlüsse auf die materno-fetale Hämodynamik. Wichtige Punkte dabei sind die maximale Geschwindigkeit während der Systole (PSV) und die minimale Geschwindigkeit während der Diastole (EDV). Durch die Formel $(PSV - EDV) / PSV$ lässt sich der Widerstand (resistance index = RI) des nachgeschalteten Gefäßbettes bestimmen [96]. Die untere Abbildung zeigt typische Dopplerkurven, wie sie in der Studie erhoben wurden.



Abbildung 2.5.: Dopplerkurven der mütterlichen A.uterina

Neben der Bestimmung des materno-fetalen Blutflusses kann mittels der transkutanen Sonographie auch das Wachstum der Embryonen verfolgt werden. Die Ultraschalluntersuchungen wurden dabei in der schwangeren Kontrollgruppe (SD-P) und der präeklampsischen Kreuzung (PM) an folgenden Tagen der Schwangerschaft durchgeführt: Embryonaltag (E) 9.5, 12.5, 18.5, 21.5. Dazu wurden die Tiere durch eine Gesichtsmaske während der gesamten Untersuchung mit Isofluran (1,5%) anästhesiert. Die mütterliche Herzfrequenz und rektale Temperatur wurde kontinuierlich gemessen (Modell THM100, Indus Instruments, Houston, Texas, USA) und durch Wärmelampe auf einem konstanten Niveau auf 36 bis 38 °C gehalten. Das Fell wurde im Bereich des unteren Abdomens mittels Rasur und

chemischen Haarentferners beseitigt. Für die Ultraschalluntersuchung wurde angewärmtes Gel verwendet. Die Zeit der Anästhesie wurde auf eine Stunde begrenzt.

Die transkutane Ultraschallmessung erfolgte unter Nutzung eines Ultraschall-Bio-Mikroskops und einem 30 MHz- bzw. 40 MHz-Wandlers mit 30 Bildern/s (Modell Vevo 660, VisualSonics Inc., Toronto, Kanada). Für die Doppler-Technik wurde ein Filter bei 6 Hz und einer Pulsationsfrequenz zwischen 4 und 48 kHz verwendet, um sowohl hohe als auch geringe Strömungen darstellen zu können. Der Winkel zwischen Schallkopf und Gefäßquerschnitt betrug weniger als 30 %.

Dopplerkurven wurden vom proximalen Anteil der uterinen Arterie, nahe der Arteria iliaca, von der Arteria arcuata, nahe der ersten Aufteilung des Hauptstammes zwischen zwei Embryonen und von der embryonalen Nabelarterie erstellt und zur späteren Analyse gespeichert. Die untere Abbildung zeigt beispielhaft ein Ultraschallbild.

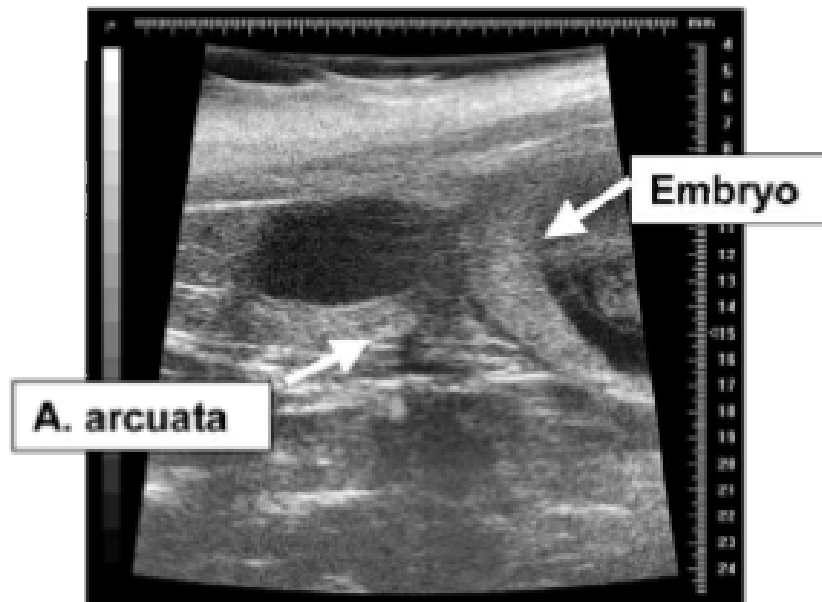


Abbildung 2.6.: Ultraschallbild mit Darstellung der A. arcuata und eines Embryos

Zur Analyse erfolgte die Bestimmung der maximalen systolischen Geschwindigkeit (PSV) und der enddiastolischen Strömung (EDV), um darauf folgend den Widerstands-Index (RI) zu berechnen.

Zur Untersuchung des embryonalen Wachstums erfolgte die Messung des transversalen und longitudinalen Durchmessers von Abdomen und Köpfen der Embryonen woraus die Berechnung der jeweiligen Umfänge erfolgen konnte. Diese biometrischen Daten wurden am E15.5, 18.5 und 21.5 erhoben. Postmortal erfolgten das Wiegen der Feten sowie die Bestimmung des Gehirn- und Lebendgewichtes zur Kalkulation der Gehirn/Leber-Ratio.

3.5. Datenanalyse und statistische Auswertung

Die Messdaten wurden gespeichert und zur weiteren Bearbeitung in das Programm Excel übertragen, wo erste statistische Berechnungen vorgenommen wurden.

Alle in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse wurden als arithmetische Mittelwerte berechnet, wobei als Maß der Streuung der Standardfehler des Mittelwertes (SEM) diente. Alle Messwerte wurden als Mittelwert \pm SEM dargestellt. Die statistische Signifikanz der Daten wurde mit der ANOVA und dem STUDENT's t-Test für ungepaarte Daten berechnet, wobei „n“ die Anzahl der gemessenen Gefäßringe bzw. die Anzahl der Einzelwerte angibt. Irrtumswahrscheinlichkeiten sind in „p“ angegeben, wobei wenn $p < 0,05$ eine statistische Signifikanz angenommen wird. Für die Ergebnisse der Inkubationsversuche wurde der STUDENT's t-Test für gepaarte Dateien angewendet.

Die graphische Auswertung und Darstellung der Messergebnisse erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms SigmaPlot7 (Version 2001, SPSS, Inc.).

Zur endgültigen Datenanalyse und statistischen Auswertung sowie graphischen Aufarbeitung wurde das Programm GraphPad Prism 4 (für Windows, GraphPad Software, Inc.) verwendet.

3.6. Reagenzien und Chemikalien

Im Folgenden sind die verwendeten Reagenzien und Chemikalien aufgelistet:

Acetylcholin	Sigma-Aldrich, Steinheim
Diethylether	Roth, Karlsruhe
Glukose	Roth, Karlsruhe
Indomethacin	Roth, Karlsruhe
Isofluran	Roth, Karlsruhe
Kaliumchlorid	Roth, Karlsruhe
Kaliumdihydrogenphosphat	Roth, Karlsruhe
Kalziumchlorid	Roth, Karlsruhe
Karbogen	Linde Gas AG, Höllriegelskreuth
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	Roth, Karlsruhe
N _ω -Nitro-L-Arginin-Methylester-Hydrochlorid	Sigma-Aldrich, Steinheim
Natriumchlorid	Roth, Karlsruhe
Natriumhydrogenkarbonat	Roth, Karlsruhe
Phenylephrin	Sigma-Aldrich, Steinheim
SQ 29,548	Cayman, Ann Arbor, USA

4. Ergebnisse

4.1. Isometrische Kontraktionsmessung

4.1.1. Kontraktion mit Phenylephrin

Um zu untersuchen, ob die Gefäße der PM über eine erhöhte Ansprechbarkeit auf vasokonstringierende Stimuli verfügen, wurde die Reaktion auf einen kontraktiven Agonisten getestet.

In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass Phenylephrin (Phe), ein auf die Gefäßmuskulatur wirkender α -Agonist, durchgängig stabile und reproduzierbare Kontraktionen der Arterien provoziert.

Zunächst wurden die Gefäße mit einer 60 mM KCl-Lösung kontrahiert. Dies diente zum einen dazu, den Zustand der Gefäße zu beurteilen. Bei einer stabilen und ausreichenden Kontraktion konnte davon ausgegangen werden, dass das Gefäß durch die vorangegangenen Manipulationen nicht zu stark beschädigt wurde. Zum anderen diente der Wert der stabilen Kalium-Kontraktion als Bezugspunkt für die weiteren Berechnungen der Kontraktilität. Die Kalium-Kontraktion wurde dabei auf 100% gesetzt, der Wert der folgenden Phenylephrin-Kontraktion orientierte sich an diesen 100%. In allen Gruppen setzen sich die Ergebnisse aus 23 bis 25 Einzelwerten (Gefäßringe) zusammen.

Initial wurde allen Organbädern eine Konzentration von 10 μ M Phe hinzugegeben. Die dadurch ausgelöste maximale Kontraktion ist in der unteren Abbildung dargestellt.

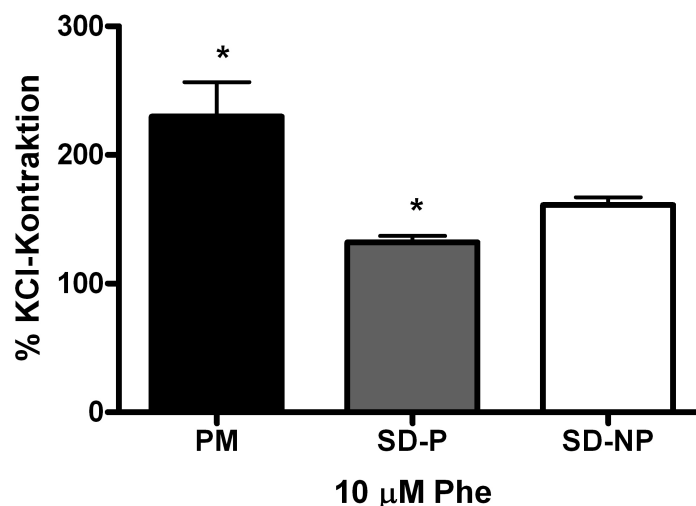


Abbildung 4.1: Kontraktion mit 10 μ M Phenylephrin (Phe) nach initialer Stimulation mit Kaliumchloridlösung (KCl), die als Bezugspunkt auf 100% gesetzt wurde. Mittelwerte von n = 23-25/Gruppe \pm SEM. * = p<0,05. Die Signifikanzen beziehen sich auf die Ergebnisse der PM im Vergleich zu SD-NP sowie der SD-P im Vergleich zu SD-NP.

Zu erkennen ist mit 230 ± 27 Prozent der Kalium-Kontraktion eine signifikant gesteigerte maximale Ansprechbarkeit in der Gruppe der PM, über das Maß der SD-NP ($161 \% \pm 6$) hinaus. Die Gefäße der SD-P kontrahierten mit $132 \% \pm 5$ weniger stark, als die der nicht schwangeren Ratten.

Zur weiteren Spezifizierung des Kontraktionsverhaltens wurden Dosis-Wirkungskurven erstellt. Als niedrigste Dosierung wurde dabei 10 nM Phe gewählt, und in den Schritten 30, 100, 300 nM, 1, 3, 10 μM Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}) gesteigert.

Zunächst erfolgt der Vergleich der PM mit der SD-P.

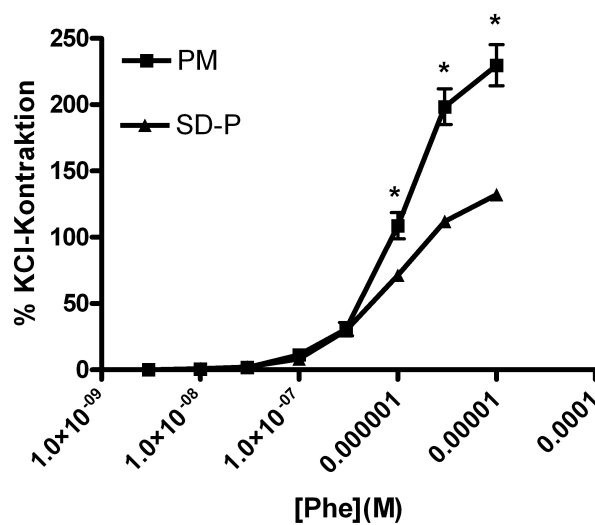


Abbildung 4.2: Dosis-Wirkungskurve mit Phenylephrin (Phe) vergleichend PM mit SD-P, nach initialer Kontraktion mit Kaliumchlorid, Zugabe steigender Phenylephrinkonzentrationen in sieben Einzelschritten von 10 nM bis 10 μM . Einzelwerte PM in allen Stufen $n=23/\text{Gruppe}$, SD-P in allen Stufen $n=19$. Mittelwerte \pm SEM, * = $p < 0,05$.

In den ersten vier Kontraktionsschritten reagierten die Gefäße beider Gruppen äquivalent. Ab einer Konzentration von 300 nM Phe ist eine signifikant erhöhte Ansprechbarkeit der PM zu verzeichnen, die auch in einer gesteigerten maximalen Endkontraktion, wie bereits beschrieben, resultiert.

Zur Einschätzung der Aussagekraft der gewonnenen Ergebnisse wurde der gleiche Versuchsablauf auch für die SD-NP durchgeführt und mit den Daten SD-P verglichen.

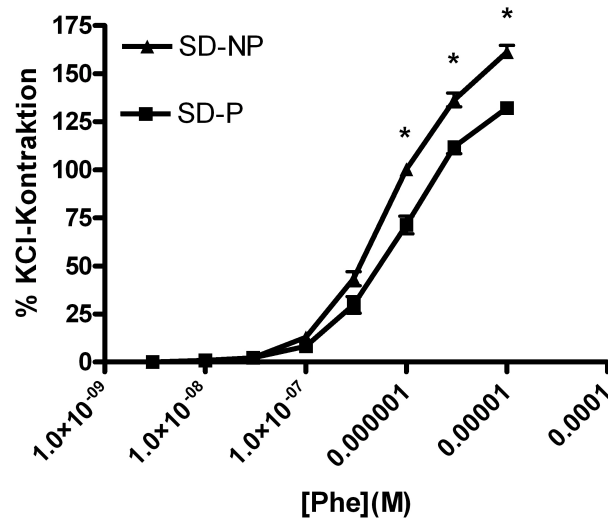


Abbildung 4.3: Dosis-Wirkungskurve mit Phenylephrin (Phe) vergleichend SD-P mit SD-NP. Nach initialer Kontraktion mit Kaliumchlorid, Zugabe steigender Phenylephrinkonzentrationen von 10 nM bis 10 μ M. Einzelwerte SD-P in allen Stufen n=19, der SD-NP in allen Stufen n=19. Mittelwerte \pm SEM. * = p<0,05.

Der direkte Vergleich der beiden Kontrollgruppen zeigt im Bereich mittlerer Konzentrationen eine Rechtsverschiebung der Dosis-Wirkungs-Kurve der SD-P. Ab einer Konzentration von 1 μ M ergab sich eine signifikant herabgesetzte Wirkung des Phe auf die Gefäße der schwangeren Tiere, fortlaufend in einer niedrigeren Maximalkontraktion bei 10 μ M.

4.1.2. Relaxation mit Acetylcholin (ACh)

Nach Erreichen einer stabilen Maximalkontraktion mit 10 μ M Phe erfolgte zur Untersuchung des Relaxationsvermögens die Zugabe einer einmaligen Dosierung von 10 μ M ACh. Auch hierbei setzen sich die Mittelwerte aus n = 19 bis 23 zusammen. Die Werte sind dabei angegeben in Prozent der noch verbliebenen Restkontraktion durch die vorhergehende Phe-Kontraktion.

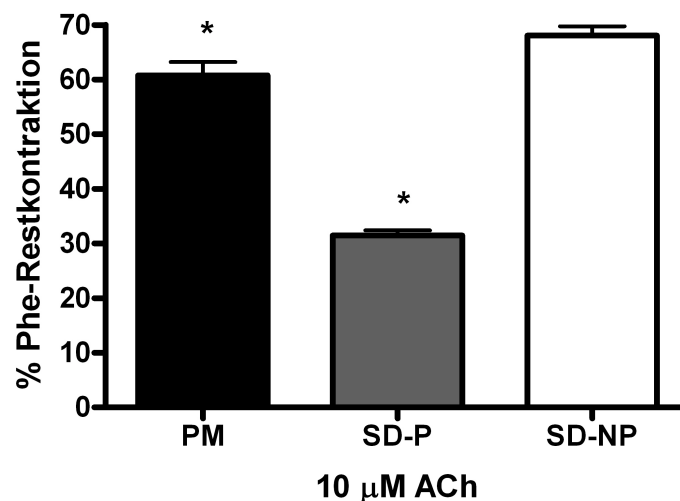


Abbildung 4.4: Relaxation mit 10µm Acetylcholin (ACh) aller drei Untersuchungsgruppen, angegeben als verbliebene Restkontraktion in Prozent aus der vorangegangenen Stimulation mit Phenylephrin. PM aus n = 23, SD-P aus n = 22 und SD-NP aus n = 19. Mittelwerte +/- SEM. Die Signifikanzen beziehen sich auf die Ergebnisse PM im Vergleich SD-NP sowie SD-P im Vergleich zu SD-NP. * = p<0,05.

Die Gefäße der SD-P relaxieren mit 31 % ± 2 Restkontraktion stärker als die Gruppe SD-NP (68 % ± 2). Außerdem relaxieren die PM-Gefäße signifikant geringer (61 % ± 4), als die der SD-P und eher auf dem Niveau der SD-NP.

Um auch hierbei den Hergang des Relaxationsverhaltens genauer zu untersuchen, wurden Dosis-Wirkungskurven mit ACh in ebenfalls sieben Einzelschritten erstellt (Dosierungen von 1×10^{-8} bis 1×10^{-5}), wobei die Zugabe der folgenden höheren Dosierung ebenfalls erst nach Erreichen eines stabilen Gefäßtonus erfolgte.

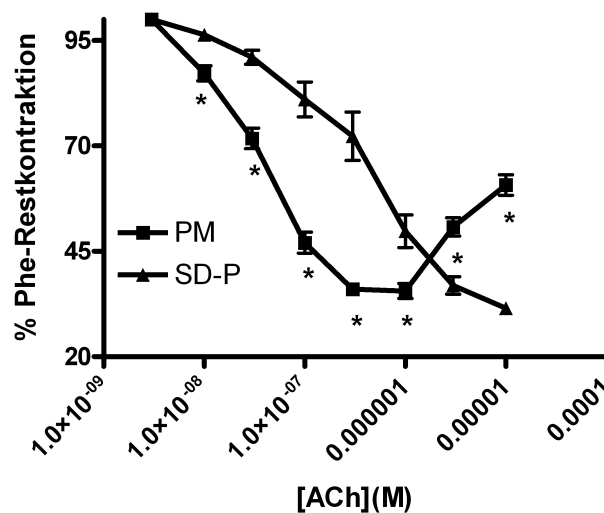


Abbildung 4.5: Dosis-Wirkungskurve mit Acetylcholin (ACh) vergleichend SD-P in sieben Stufen von 10 nM bis 10 µM ACh (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Darstellung als verbliebene Restkontraktion in Prozent aus der vorangegangenen Stimulation mit Phenylephrin. PM aus n = 23 und SD-P aus n = 22 in allen Einzelschritten. Mittelwerte +/- SEM. * = p<0,05.

Auffallend hierbei ist zwar eine vergleichsweise verminderte Relaxation der PM bei 10 µM ACh und damit eine höhere Restkontraktion, jedoch auch ein deutlich abweichender Kurvenverlauf im Vergleich zu SD-P. Die Gefäße der SD-P zeigen in geringen Dosierungen nur ein geringes Ansprechen auf ACh, im mittleren Bereich eine variablere, aber ansteigende Reaktion und bei maximaler ACh-Wirkung die niedrigste Restkontraktion von 31 % ± 2.

Die Gefäße der PM hingegen reagieren schon bei geringen ACh-Dosen signifikant stärker als die Kontrollgruppe, bis hin zu einer maximalen Relaxation von 36 % ± 3 Restkontraktion.

Ab einer Dosierung von 1 μM ACh kommt es jedoch wieder zu einem Anstieg der Kontraktion und der damit, bereits vorher beschriebenen, implizierten Relaxationsverminderung in der PM bei 10 μM ACh.

In gleicher Weise erfolgte der Vergleich der Dosis-Wirkungskurven zwischen der schwangeren und nicht schwangeren Kontrollgruppe.

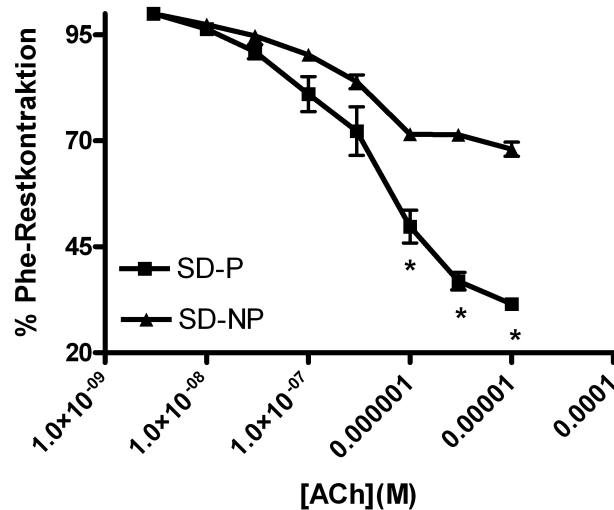


Abbildung 4.6: Dosis-Wirkungskurve mit Acetylcholin (ACh) vergleichend SD-P und SD-NP 10 nM bis 10 μM ACh (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Darstellung als verbliebene Restkontraktion in Prozent aus der vorangegangenen Stimulation mit Phenylephrin. SD-P aus $n = 22$ und SD-NP aus $n = 19$ in allen Einzelschritten. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Der Vergleich der beiden Kontrollgruppen zeigt eine verminderte Relaxation der SD-NP und eine nahezu unveränderte Restkontraktion ab einer ACh-Dosierung von 1 μM , während vor allem in hohen Dosierungen die Relaxation der Arterien der SD-P zunimmt.

4.1.3. Inkubation mit L-NAME

Zur weiteren Charakterisierung des Endothels und der gewonnen Erkenntnisse erfolgte nach Durchführung einer Dosis-Wirkungskurve mit Phenylephrin und anschließend Acetylcholin die Inkubation mit 100 μM L-NAME über 30 Minuten. L-NAME blockiert das Enzym NO-Synthetase und schaltet damit NO-abhängigen Vorgänge im Rahmen der Gefäßregulation aus. Nach der Inkubation wurden die Gefäße erneut mit Phenylephrin kontrahiert und anschließend die Relaxation mit Hilfe von Acetylcholin gemessen. Mittelwerte jeweils $n = 7$ bis 9 .

Zuerst soll dargestellt werden, ob L-NAME das Kontraktionsvermögen der Gefäße im Vergleich der PM zur SD-P beeinflusst.

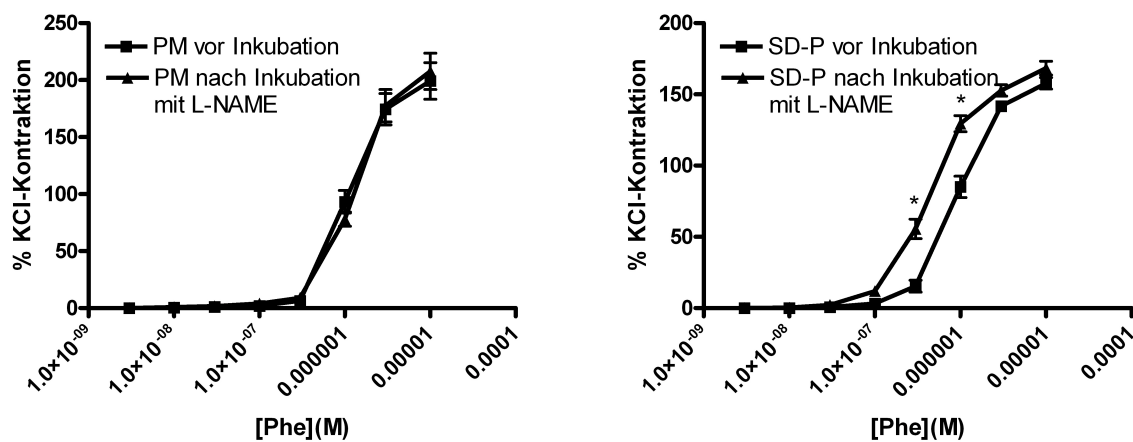


Abbildung 4.7: Kontraktionsverhalten vor und nach Inkubation mit 100 μM L-NAME. Darstellung nach initialer Kontraktion mit Kaliumchlorid in Prozent. Zugabe steigender Phenylephrinkonzentrationen von 10 nM bis 10 μM Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, $n = 7$. rechte Abbildung SD-P, $n = 8$. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Die Inkubation zeigte in der PM keine Beeinflussung des Kontraktionsverhaltens. Am Ende der Dosis-Wirkungskurve waren die Gefäße vor der Inkubation zu $199 \% \pm 28$, nach der Inkubation zu $207 \% \pm 28$ kontrahiert. Es zeigten sich hier keine Unterschiede im Kurvenverlauf beider Gruppen.

Nach der Inkubation mit L-NAME zeigte sich in der SD-P eine signifikante Kontraktionssteigerung im Bereich von 300 nM ($15 \% \pm 7$ gegenüber $56 \% \pm 12$) und 1 μM Phe ($85 \% \pm 13$ gegenüber $129 \% \pm 10$) sowie eine leichte, aber nicht signifikante Kontraktionssteigerung in den beiden höchsten Phenylephrindosierungen.

Nachfolgend ist die Wirkung des L-NAME auf die Relaxation der Gefäße abgebildet.

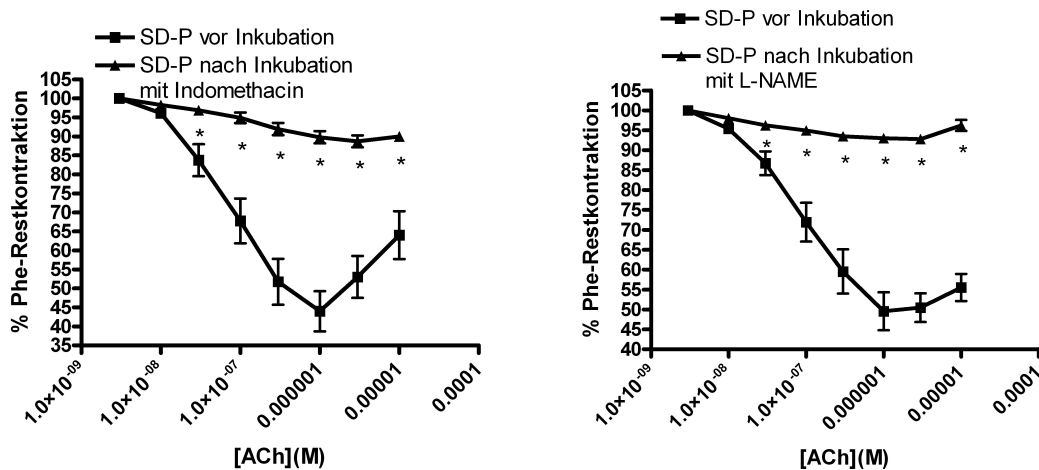


Abbildung 4.8: Relaxation vor und nach Inkubation mit 100 μ M L-NAME. Darstellung als Restkontraktion nach Stimulation mit Phenylephrin in Prozent. Zugabe steigender Acetylcholin-Konzentrationen von 10 nM bis 10 μ M Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, n = 7. rechte Abbildung SD-P, n = 10. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Auch bei der Untersuchung der Relaxation konnte in der PM eine zunehmende Relaxation der Gefäße bis zur Dosierung von 1 μ M ACh (Maximum von $44 \% \pm 9$ Restkontraktion) und danach ein paradoxer Wiederanstieg bei höherer ACh-Dosierung bis zu $64 \% \pm 11$ dargestellt werden. Nach der Inkubation mit L-NAME zeigte sich eine nahezu aufgehobene Relaxation der Gefäße, wobei eine geringe verbleibende Relaxation von ca. 10 % gesehen werden konnte.

Die Untersuchungen der Gefäße der SD-P konnten ebenfalls eine nahezu vollständige Aufhebung der Acetylcholin-vermittelten Gefäßrelaxation zeigen. Ein leichter Abfall der Kontraktion wurde auch hier verzeichnet (um $7 \% \pm 3$).

Allgemein betrachtet fällt auf, dass die Relaxation bei diesen Gefäßen anders imponiert, als zuvor in der Gruppe der schwangeren Kontrollgruppe beschrieben. Man kann einen schnellen Wirkungseintritt auch bei geringerer Dosierung erkennen und eine Stagnierung im Bereich von 1 bis 10 μ M. Insgesamt sind die Unterschiede jedoch nicht signifikant.

4.1.4. Inkubation mit Indomethacin

Wie in Kapitel 4.1.2 beschrieben, zeigte sich eine paradoxe kontraktile Antwort der Gefäßringe der PM auf hohe Dosen ACh. Zur weiteren Untersuchung der Ätiologie dieses Phänomens wurden die Gefäße der PM und der SD-P mit 5 μM Indomethacin über 30 min behandelt. Vor und nach der Inkubation erfolgten jeweils Dosis-Wirkungskurven zu Phenylephrin und Acetylcholin. Indomethacin bewirkt eine unspezifische Blockade des Enzyms Cyclooxygenase 1, welches für die Bildung vasokonstriktiver Substanzen wie Prostacyclin und Thromboxan verantwortlich ist.

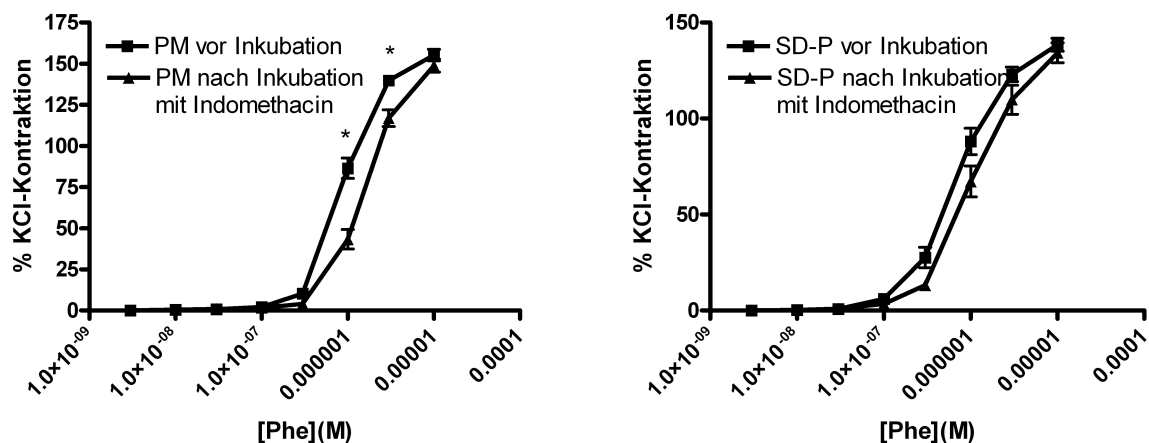


Abbildung 4.9: Kontraktionsverhalten vor und nach Inkubation mit 5 μM Indomethacin. Darstellung nach initialer Kontraktion mit Kaliumchlorid in Prozent. Zugabe steigender Phenylephrinkonzentrationen von 10 nM bis 10 μM Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, n = 9. rechte Abbildung SD-P, n = 8. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Die Darstellung der Kontraktion vor und nach der Behandlung zeigt in beiden Gruppen ein unbeeinflusstes Verhalten in Dosierungen bis 300 nM Phe. In Folge höherer Dosierungen ist bei der PM eine Verschiebung erkennbar. Bei 1 μM Phe ist dieser Unterschied $86 \% \pm 11$ gegenüber $43 \% \pm 10$, bei 3 μM $140 \% \pm 5$ gegenüber 117 ± 9 . Es erfolgt in diesem Bereich also eine Rechtsverschiebung der Kurve nach Inkubation. Die maximale Kontraktion bei 10 μM hingegen ergibt keine signifikanten Unterschiede. Allerdings liegt die Maximalkontraktion mit $155 \% \pm 6$ niedriger als in den initialen Kontraktionsuntersuchungen dieser Arbeit, jedoch nach wie vor signifikant über der Kontraktion der SD-P.

Bei der Inkubation mit Indomethacin konnten in der SD-P-Gruppe bis auf eine nicht signifikante Rechtsverschiebung keine bedeutenden Unterschiede gezeigt werden.

Vor der Inkubation konnte bezüglich der Relaxation der PM erneut der beschriebene Kontraktionsanstieg gezeigt werden, den es weiter zu untersuchen galt.

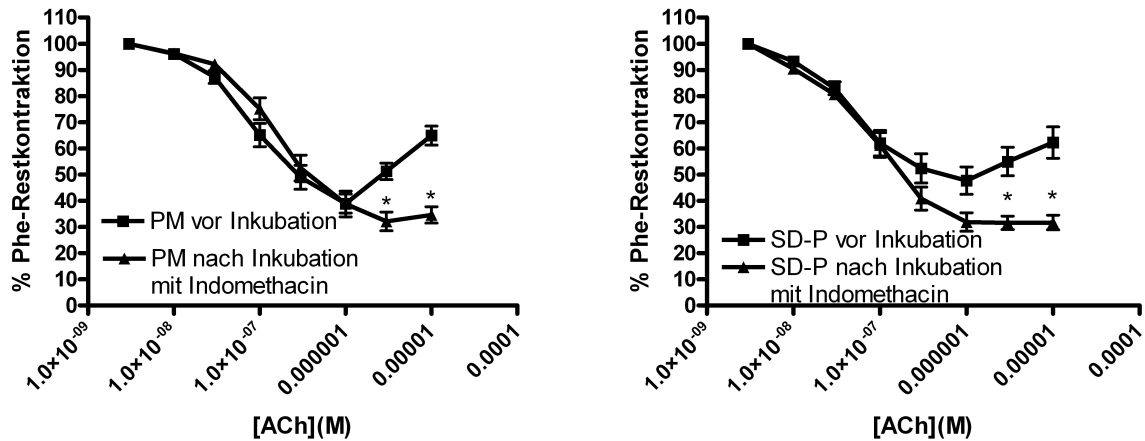


Abbildung 4.10: Relaxation vor und nach Inkubation mit 5 μM Indomethacin. Darstellung als Restkontraktion nach Stimulation mit Phenylephrin in Prozent. Zugabe steigender AcetylcholinKonzentrationen von 10 nM bis μM Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, n = 11. Rechte Abbildung SD-P, n = 7. Mittelwerte +/- SEM. * = p < 0,05.

Nach der Behandlung wird deutlich, dass diese paradoxe Kontraktion signifikant aufgehoben ist (bei 3 μM ACh 64 % \pm 6 gegenüber 34 % \pm 5).

Auch bei den Gefäßen der SD-P ist ein Effekt durch Indomethacin erkennbar. Während bei den Gefäßen dieses Studienteils auch in dieser Gruppe ein nicht signifikanter Wiederanstieg der Kontraktion nachweisbar ist, ist die Relaxation nach der Inkubation deutlich stabilisiert und ein der angedeutete Wiederanstieg aufgehoben (bei 10 μM ACh 62 % \pm 10 gegenüber 31 % \pm 5).

4.1.5. Inkubation mit SQ 29,548

SQ 29, 548 ist ein spezifischer Antagonist des Thromboxanrezeptors. Ebenfalls zur genaueren Spezifizierung der paradoxen Acetylcholinwirkung erfolgte die Inkubation mit $1\ \mu\text{M}$ über 30 Minuten. Das restliche Prozedere ist identisch mit dem der anderen Inkubationsversuche. Die Anzahl der Einzelwerte beträgt ebenfalls $n = 8$.

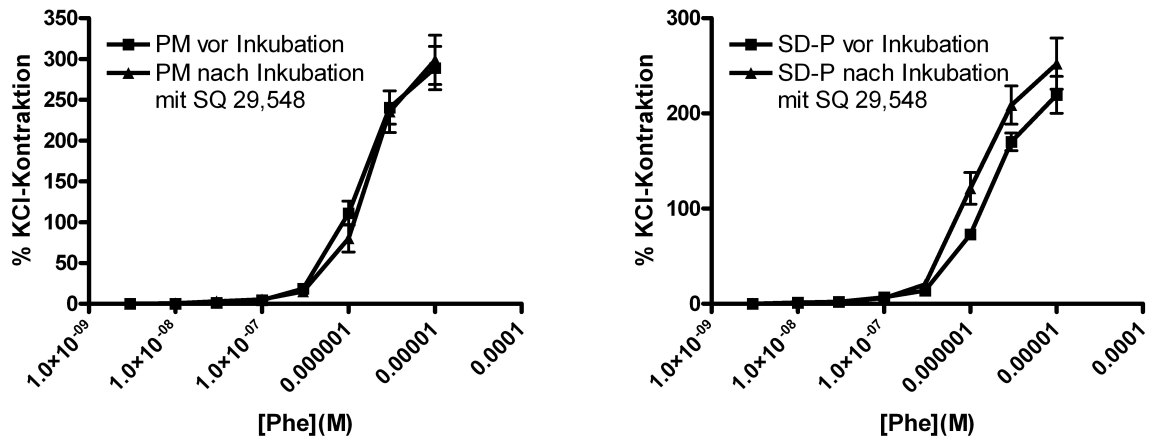


Abbildung 4.11: Kontraktionsverhalten vor und nach Inkubation mit $1\ \mu\text{M}$ SQ-29548. Darstellung nach initialer Kontraktion mit Kaliumchlorid in Prozent. Zugabe steigender Phenylephrinkonzentrationen von $10\ \text{nM}$ bis $10\ \mu\text{M}$ Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, $n = 5$. Rechte Abbildung SD-P, $n = 5$. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Der Vergleich der Kontraktilität zeigt in der Gruppe der PM keine signifikanten Unterschiede. Bei den Gefäßringen der SD-P ist zwar eine leichte Linksverlagerung der Kurve bei Dosierungen oberhalb von $300\ \text{nM}$ Phe erkennbar, diese ist jedoch ebenfalls statistisch nicht signifikant.

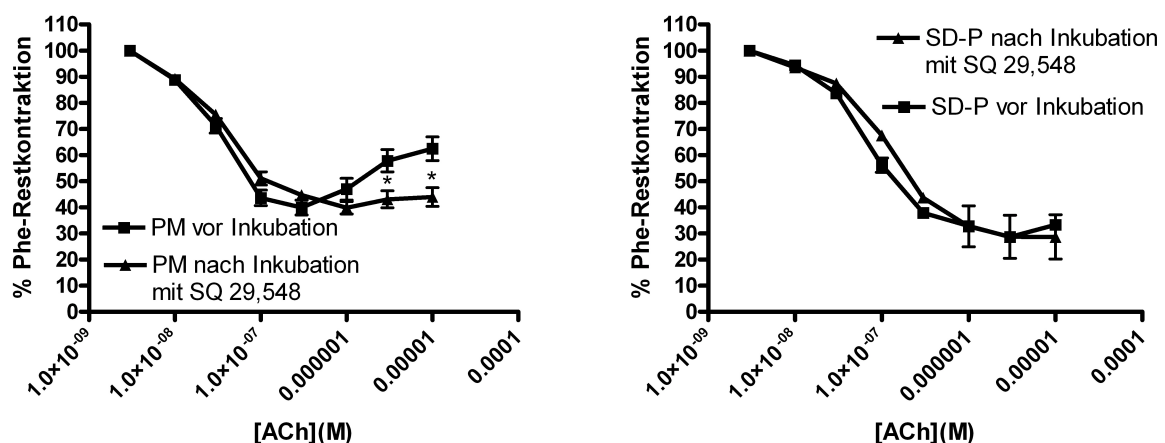


Abbildung 4.12: Relaxation vor und nach Inkubation mit $1\ \mu\text{M}$ SQ 29,549. Darstellung als Restkontraktion nach Stimulation mit Phenylephrin in Prozent. Zugabe steigender $10\ \text{nM}$ bis μM Phe (1×10^{-8} bis 1×10^{-5}). Linke Abbildung: PM, $n = 7$. Rechte Abbildung SD-P, $n = 5$. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Nachdem der paradoxe Kontraktionseffekt des Acetylcholins schon zuvor mit Indomethacin inhibiert werden konnte, wurde auch durch die Inkubation mit SQ 29,548 der Wiederanstieg so gemindert, dass der Unterschied bei 10 μ M ACh statistisch signifikant ist ($62 \% \pm 8$ gegenüber $44 \% \pm 6$).

Die GefäÙe der schwangeren SD-Weibchen hingegen zeigen keine signifikanten Unterschiede nach der Behandlung.

4.2. PGF1 α /TxB2-Ratio

Zur Prüfung der Teilhypothese, ob biochemische Veränderungen im Blut der Untersuchungstiere messbar sind, wurden HPLC/MS/MS-Analysen des mütterlichen Blutes durchgeführt.

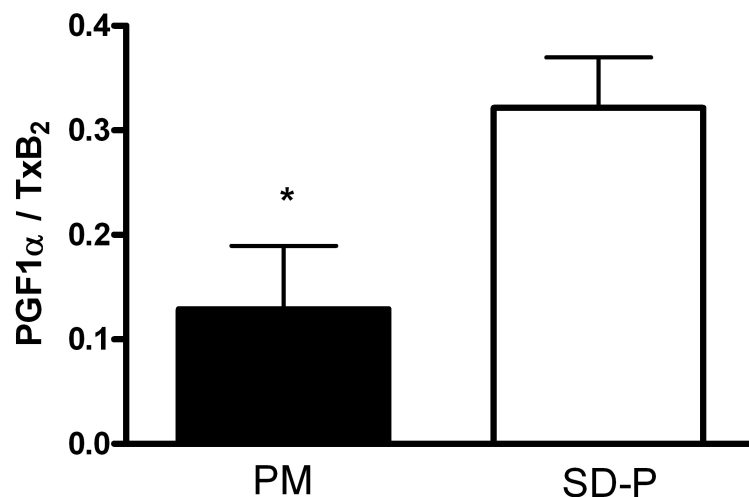


Abbildung 4.13: PGF1 α /TxB2-Ratio PM im Vergleich mit SD-P. Berechnung der Ratio aus den Konzentrationen von PGF1 α und TxB₂, je in ng/ml im Serum. PM n = 6, SD-P n = 5. Mittelwerte \pm SEM. * = p < 0,05.

Dabei zeigt sich eine signifikant verringerte PGF1 α /TxB2-Ratio in der Gruppe der PM im Vergleich zur SD-P.

4.3. Ultraschalluntersuchungen und biometrische Daten

Ein weiterer Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit waren sonographische und dopplersonographische Untersuchungen an den Versuchstieren im Verlauf der Schwangerschaft. Ziel dieser Untersuchungen war es zu prüfen, ob Wachstumsparameter erhoben werden können, wie sie in einer normalen humanen Schwangerschaft vergleichbar vorzufinden sind. Des Weiteren, ob es bei den Feten der präeklampsischen Kreuzung zu einer intrauterinen Wachstumsretardierung kommt und ob Ergebnisse in dopplersonographischen Untersuchungen in Hinblick auf eine gestörte fetale Blutversorgung gefunden werden können.

4.3.1. Ultraschalluntersuchungen

Zur Erfassung des fetalen Wachstums wurden folgende Parameter erfasst und gegeneinander verglichen: die Abdomen- und Kopfumfänge der Feten, das Geburtsgewicht der Feten und die Gewichte der Leber und Gehirne der Feten unmittelbar nach der Geburt.

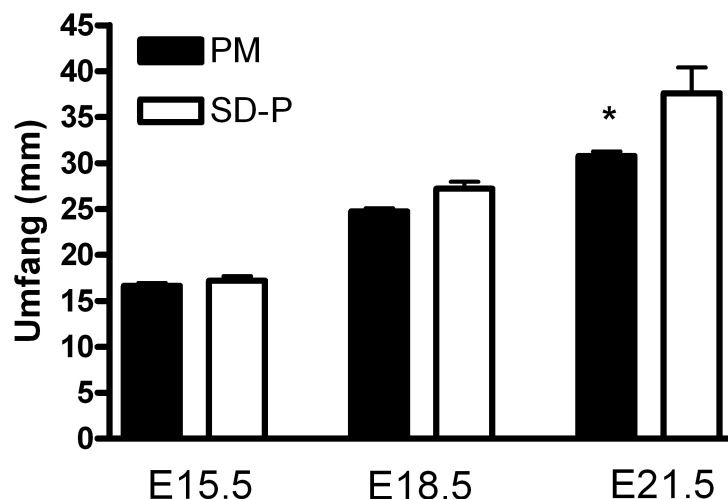


Abbildung 4.14: Abdomenumfänge in mm im Vergleich zwischen PM und SD-P. Die Messungen erfolgte an der Embryonaltagen E15.5, E18.5 und E21.5. n = 20 in beiden Gruppen an allen Untersuchungstagen. Mittelwerte +/- SEM. * = p<0,05.

Die Messungen des embryonalen Abdomenumfangs zeigen im Verlauf der Schwangerschaft eine progressive Verminderung bei der PM im Vergleich zu den Kontrolltieren. Während zu Beginn der Schwangerschaft noch kein signifikanter Unterschied erkennbar ist, besteht eine signifikante Dissonanz am Embryonaltag E21.5.

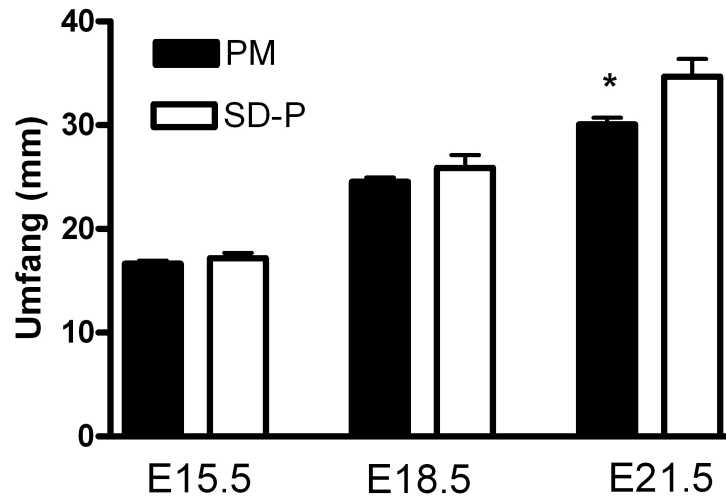


Abbildung 4.15: Kopfumfänge in mm im Vergleich zwischen PM und SD-P. Die Messungen erfolgte an der Embryonaltagen E15.5, E18.5 und E21.5. $n = 18$ in beiden Gruppen an allen Untersuchungstagen. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Der Vergleich der Kopfumfänge zeigt in der symptomatischen Gruppe an den Tagen E 15.5 und E18.5 keine Unterschiede, jedoch zeigten die Messungen am E21.5 ebenfalls einen signifikant verringerten Kopfumfang ($n=18$) bei den Feten der PM.

4.3.2. Gewichtsmessungen

Die Untersuchung der Geburtsgewichte zeigte, dass die Feten der Mütter der symptomatischen Gruppe zum Zeitpunkt der Geburt signifikant leichter waren.

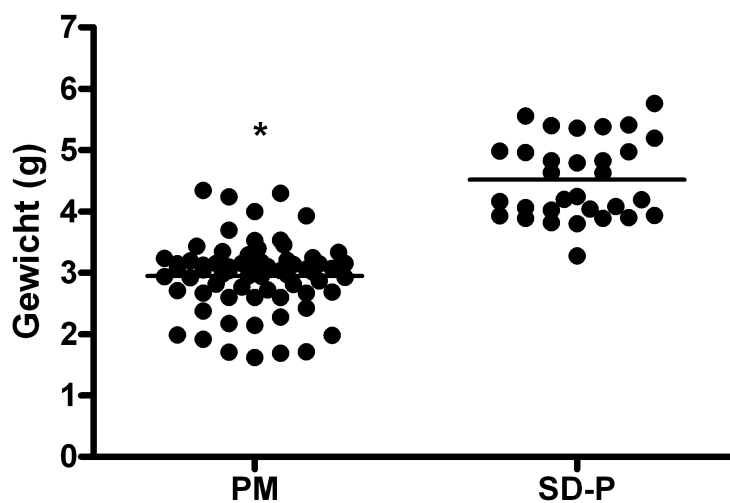


Abbildung 4.16: Geburtsgewichte in g im Vergleich zwischen PM und SD-P. Die Messungen erfolgte unmittelbar nach der Geburt, $n = 30$ /Gruppe. Mittelwerte \pm SEM. * = $p < 0,05$.

Weiterhin hatten die Embryonen signifikant verringerte Leber- und Gehirngewichte, wobei die Minderung der Lebergewichte deutlicher war (n=30). Die aus den Gewichten ermittelte Gehirn-Leber-Ratio zeigt sich im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

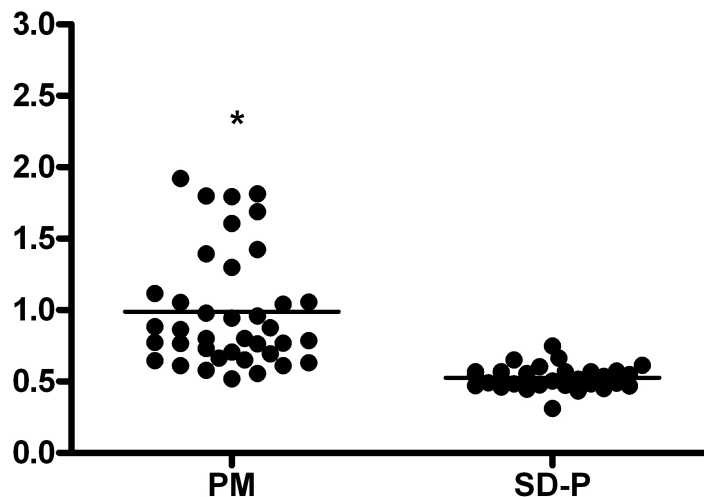


Abbildung 4.17: Gehirn/Leber-Ratio im Vergleich zwischen PM und SD-P. Die Messungen erfolgten unmittelbar nach der Geburt, n = 30/Gruppe. Mittelwerte +/- SEM. * = p<0,05.

4.3.3. Dopplerultraschalluntersuchungen

Durch Ultraschall in der B-Mode-Technik über der uterinen Arterie und der A. arcuata wurden typische Dopplerkurven ermittelt. Die diastolische Spitzengeschwindigkeit und die enddiastolische Geschwindigkeit wurden ermittelt, der RI daraus berechnet.

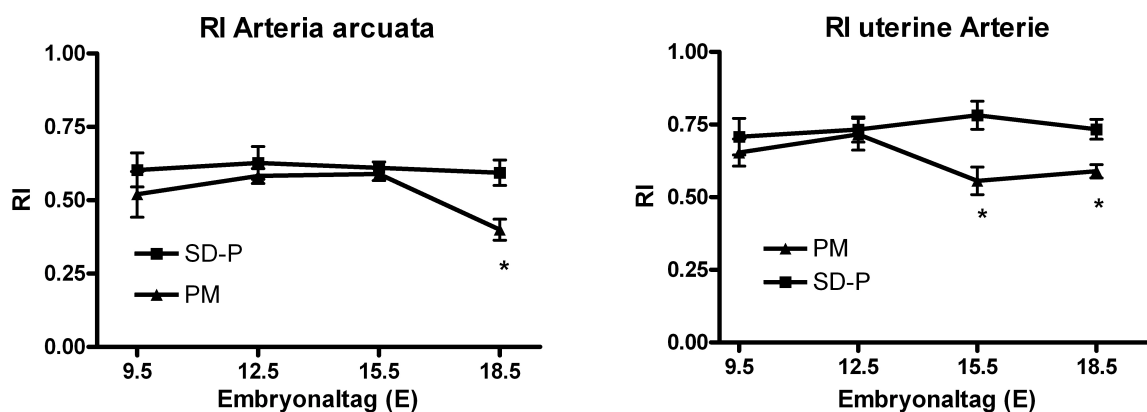


Abbildung 4.18: Resistance-Index (RI) einer Arteria arcuata (oben) und der A. uterina (unten) im Verlauf der Schwangerschaft im Vergleich zwischen PM und SD-P. Die Messungen erfolgten an den Embryonaltagen E9.5, 12.5, 15.5 und 18.5, je n = 7, Berechnung des RI aus den Werten des PSV und des EDV (nach der Formel $(PSV - EDV) / PSV$). Mittelwerte +/- SEM. * = p<0,05.

Die PM zeigte über den uterinen Arterien (rechts) im Verlauf der Schwangerschaft an E15.5 und E18.5 einen verminderten RI, während der RI in der Gruppe der SD-P zwischen den Tagen E12.5 bis E18.5 stabil blieb. Die Auswertung der Ergebnisse der A. arcuata, die näher an den Embryonen lokalisiert ist und damit näher am plazentaren Abschnitt liegt, zeigte in beiden Gruppen insgesamt niedrigere Widerstände als in den Aa. uterinae. In der PM-Gruppe wurden an E18.5 signifikant niedrigere RIs festgestellt.

Ebenso erhoben wurden Dopplerdaten von den Umbilikalarterien einiger Embryonen. Die diastolischen Spitzengeschwindigkeiten wurden an den Tagen E12.5, E15.5 und E18.5 gemessen, während der enddiastolische Strom nicht immer messbar war. Es zeigten sich in beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (n=20, Daten nicht abgebildet).

5. Diskussion

5.1. Isometrische Kontraktionsmessungen

5.1.1. Kontraktion mit Phenylephrin

Zur Charakterisierung der Funktion des Endothels innerhalb des vorliegenden Tiermodells wurden uterine Arterien ausgewählt.

Erster Schritt in der Evaluierung war die Untersuchung der Ansprechbarkeit auf α -adrenerge Stimuli. Es wurde dabei der Hypothese nachgegangen, dass dies in der Gruppe der PM im Vergleich zur SD-P deutlich vermehrt zu finden sein müsste. Außerdem wurde erwartet, dass die Gefäße schwangerer Ratten eine verringerte Ansprechbarkeit im Vergleich zu nicht schwangeren Tieren zeigen müssten.

In der Tat zeigten die Gefäße der SD-P eine signifikant verminderte kontraktile Antwort auf Phenylephrin im Vergleich zu SD-NP. Und auch bestätigte sich die erste Hypothese, in dem die Gefäße des präeklampsischen Phänotyps hochsignifikant stärker kontrahierten als beide Vergleichsgruppen.

Die Ansprechbarkeit auf Vasokonstriktoren wurde bereits bei schwangeren Ratten im Vergleich zu nicht schwangeren exploriert und analog zur humanen Situation nachweislich als erniedrigt angesehen [97, 98].

Außerdem decken sich die Beobachtungen mit vielen Studien an Gefäßen Präeklampsie-erkrankter Patientinnen und Forschungen an anderen Tiermodellen zu diesem Thema. In omentalen Arterien von präeklampsischen Frauen konnte durch die Arbeit von Pascoal et al. eine erhöhte Ansprechbarkeit gegenüber Arginin-Vasopressin gefunden werden [99]. Im RUPP-Tiermodell wurde eine signifikant gesteigerte Kontraktilität in der Aorta, wie auch in der A. mesenterica und A. uterina im Vergleich zu unbehandelten Tieren beschrieben [77, 99].

Somit konnte die Hypothese in Bezug auf die Vergleichbarkeit zur humanen Präeklampsie-Situation bestätigt werden.

5.1.2. Relaxation mit Acetylcholin

Im nächsten Schritt sollte untersucht werden, ob die Gefäße der PM durch eine verminderte Vasorelaxation charakterisiert werden können. Dazu wurde den Gefäßen der PM, SD-P und SD-NP eine einmalige Dosis von 10 μ M Acetylcholin hinzugefügt. Acetylcholin ist dabei im Stande, durch die Freisetzung von NO eine Vasorelaxation auszulösen.

Die Ergebnisse erbrachten, dass die Gefäße der SD-P darauf am ausgeprägtesten mit einer Vasorelaxation reagierten. Die Gefäße der PM zeichneten sich durch eine deutlich verminderte

Relaxation aus, die nur unsignifikant schwächer war, als die Reaktion der nicht schwangeren Kontrollgruppe.

Eine verstärkte Vasorelaxation der Gefäße gesunder schwangerer Ratten konnte bereits in vielen Studien reproduziert werden.

Die Relaxation glatter Gefäßmuskelzellen ist durch mehrere endothelial wirksame Substanzen beeinflusst, die in Gesamtheit EDRFs (=endothelium-derived relaxing factors) genannt werden. Dazu zählen NO, Prostazyklin (PGI₂) und der endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). Ebenso besteht eine Beeinflussung durch Substanzen aus dem periadventitiellen Fettgewebe, wie adventitium-derived relaxing factor (ADRF) [68].

Die ersten Studien zur Bedeutung des NOs kamen durch Untersuchungen des cGMP, einem wichtigen second messenger des NOs. Plasmakonzentration, Ausscheidung im Urin und Produktion von cGMP sind in einer Schwangerschaft bei Ratten erhöht. Auch NO-Metabolite sind im Plasma schwangerer Ratten erhöht [100]. Diese Daten ließen vermuten, dass die endogene NO-Produktion bei normal schwangeren Ratten erhöht ist, was letztlich auch in einer verstärkten Relaxation von Gefäßen gesunder schwangerer Ratten nachgewiesen werden konnte. Die verminderte Ansprechbarkeit auf Vasopressoren während einer normalen Schwangerschaft wurde teilweise ebenfalls in Verbindung mit einer vermehrten Synthese von NO und vielleicht anderen EDHFs und Prostazyklin gebracht [98].

Diese Erkenntnisse decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, in der die Gefäße der SD-P eine signifikant stärkere NO-abhängige Relaxation zeigten, als die Gefäße der SD-NP.

Vergleichsweise zeigten die Studien isolierter Gefäßbette zur Evaluation von Modellen zur Präeklampsie, in Abhängigkeit vom untersuchten Gefäßbett und der Art der untersuchten Tiere, unterschiedliche Resultate.

Passend zu den vorliegenden Ergebnissen zeigte sich im RUPP-Tiermodell eine verminderte ACh-Vasorelaxation in uterinen Arterien und der A. mesenterica präeklampsischer Tiere [101]. Auch hier vermuteten die Untersucher, dass die verminderte Vasorelaxation durch einen Mangel an NO verursacht wird [102]. Eine Studie von Viridis et al. belegte, dass mesenteriale Widerstandsgefäße von Mäusen, denen über einen längeren Zeitraum Angiotensin II infundiert wurde, eine verminderte endothelabhängige Vasorelaxation zeigten [103]. Sie begründeten dies damit, dass Angiotensin II über das Enzym NADPH-Oxidase zu einer vermehrten Bildung von Sauerstoffradikalen (ROS) führt, und somit zu einer verminderten Verfügbarkeit von NO.

Das eine verminderte NO-abhängige Vasorelaxation, wie sie auch in diesem Tiermodell gefunden werden kann, mit der humanen Situation vergleichbar ist, zeigen unter anderem die Studien von Pascoal et al. Hier zeigten isolierte omentale Mikrogefäße präeklaptischer Patientinnen eine nahezu vollständige Aufhebung der Vasodilatation, die durch ACh vermittelt wurde [99]. Ashworth et al. zeigten, dass myometralen Widerstandsgefäße von präeklaptischen Patientinnen ebenfalls eine signifikant verringerte endothel-abhängige Vasorelaxation durch Bradykinin zeigen, als bei gesunden Patientinnen [32].

Letztlich ist bei der Komplexität der Mechanismen nicht zu erwarten, dass eine gestörte Vasorelaxation allein durch eine verminderte NO-Produktion oder -wirkung zu erklären ist. Die große Datenlage zu diesem Teilgebiet zeigt doch aber zumindest eine zentrale Bedeutung des NO-Stoffwechsels bei der Entstehung der endothelialen Dysfunktion im Rahmen der Präeklampsie.

5.1.3. Paradoxe ACh-Wirkung

Zur weiteren Differenzierung der ACh-Wirkung auf die Gefäße des präeklaptischen Phänotyps wurden Dosis-Wirkungskurven erstellt. Dabei wurde ein unerwartetes Relaxationsverhalten gefunden. Bei initialen geringen Dosierungen von ACh konnte eine gesteigerte Relaxation gegenüber der SD-P gefunden werden, während die Kontraktion bei hohen Dosierungen wieder anstieg. Und dies über das Maß der gesunden Kontrollen hinaus, wodurch der schon beschriebenen Eindruck entstand, dass die PM-Gefäße weniger relaxieren, als die SD-P.

Die Beobachtung dieser paradoxen kontraktiven Wirkung von ACh wurde bereits in früheren Studien gemacht.

Traupe et al. studierten Gefäße an Mäusen innerhalb eines Modells zu Adipositas, Arteriosklerose und Bluthochdruck. Sie entdeckten, dass ab einer ACh-Konzentration von 10 μM die Relaxation durch eine kontraktile Komponente antagonisiert wurde [104].

Entsprechende Ergebnisse erbrachte auch eine Studie von Zhou et al., die in ähnlicher Weise vasokonstriktive Effekte von Acetylcholin an Gefäßen von Mäusen erzielen konnten, die durch Hypertonus oder Diabetes vorgeschädigt waren. Die ACh-vermittelte Vasokonstriktion war nicht mehr nach mechanischer Entfernung des Endothels nachweisbar, was beweist, dass die Effekte durch einen endothelabhängigen Vorgang zu erklären sind, und nicht durch Effekte an glatten Muskelzellen [105].

Der Vergleich der Untersuchungsergebnisse lässt also die Vermutung zu, dass endothelabhängige Prozesse zu einem partiellen Antagonismus von ACh führen, der auch an Gefäßen gefunden

werden kann, die beispielsweise durch Bluthochdruck, Arteriosklerose oder Diabetes vorgeschädigt sind.

5.1.4. Inkubation mit L-NAME.

Um die Hypothese zu untermauern, dass die paradoxe Wirkung des AChs durch einen endothelabhängigen Prozess vermittelt wird, wurden die Gefäße der PM und der SD-P nach der Durchführung von Dosis-Wirkungskurven zu Phe und ACh über 30 Minuten mit L-NAME inkubiert, um danach erneut Dosis-Wirkungskurven zu testen. L-NAME blockiert das Enzym NO-Synthase und hemmt damit alle endothel-abhängigen Prozesse, die über NO vermittelt werden.

Der kontraktile Effekt von Phenylephrin wurde in der präeklampsischen Kreuzung durch L-NAME nicht beeinflusst, dafür war in der Kontrollgruppe schwangerer Weibchen vor allem im Bereich mittlerer Dosierungen ein verstärktes Ansprechen auf Phenylephrin zu verzeichnen.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Arbeiten von Crews et al., die ebenfalls zeigen konnten, dass die vaskuläre Ansprechbarkeit auf Phenylephrin in der Gegenwart von L-NAME bei schwangeren Ratten erhöht ist, jedoch nicht bei den Gefäßen der RUPP-Ratten [77]. Diese Resultate implizieren, dass weitere endothelabhängige Prozesse in einer normalen Schwangerschaft involviert sind, die bei RUPP-Tieren blockiert sind oder nicht mehr greifen. Dies könnte im vorliegenden Tiermodell ebenfalls der Fall sein, da selbst die Kontraktionssteigerung durch L-NAME nicht in dem Maß zu einer vermehrten Kontraktion führt, wie es bei den Gefäßen der präeklampsischen Kreuzung zu beobachten ist.

Im Relaxationsverhalten konnte gezeigt werden, dass die Behandlung in beiden Gruppen zu einer signifikanten Aufhebung der Vasorelaxation führt.

Und auch in den bereits zitierten Arbeiten von Zhou et al. und Traupe et al. zeigte die Behandlung von Gefäßen mit L-NAME die fast vollständige Aufhebung der Vasorelaxation auf einen ACh-Stimulus [104, 105]. In den Studien zum RUPP-Modell zeigte die Vorbehandlung von Gefäßen normal schwangerer Ratten mit L-NAME ebenfalls eine signifikante Hemmung der Relaxation, während der Effekt bei den Gefäßen der RUPP-Tiere kaum zu beobachten war [77].

In der vorliegenden Arbeit konnte die Relaxation durch ACh mit L-NAME zwar fast vollständig inhibiert werden, jedoch verblieb eine Restrelaxation im Bereich von 10%. In der oben genannten RUPP-Studie konnte auch beschrieben werden, dass L-NAME die Vasorelaxation bei „erkrankten Tieren“ nicht vollständig aufhebt [77]. Es ist also anzunehmen, dass in diesem Fall

andere Mechanismen an der Vasorelaxation beteiligt sind, die durch L-NAME nicht inhibiert werden. Daran sind möglicherweise EDHFs (endothelium-derived hyperpolarizing factor) beteiligt. Es konnte gezeigt werden, dass die Bedeutung von EDHFs an der Vasorelaxation zunimmt, je kleiner der Durchmesser der Gefäße eines Gefäßbettes ist (also die Widerstandsgefäße betreffend) [106]. EDHFs entfalten ihre Wirkung durch Hyperpolarisation glatter Gefäßmuskelzellen durch die Öffnung von K-Kanälen [107]. EDHFs scheinen eine wichtige Rolle in der erhöhten ACh-induzierten Relaxation kleiner mesenterialer Arterien schwangerer Ratten zu spielen [108]. Und auch Studien am uterinen Gefäßbett schwangerer Ratten lassen eine vermehrte EDHF-Aktivität via spannungsabhängiger K-Kanäle vermuten [109]. Ob die EDHF-Abgabe aus Endothelzellen während einer normalen Schwangerschaft und einer Präeklampsie verändert ist, muss jedoch noch weiter untersucht werden [98].

Zusammenfassend konnte durch die Untersuchungen mit L-NAME in dieser Arbeit gezeigt werden, dass der partielle kontraktile Antagonismus des AChs von endothel-vermittelten Mechanismen abhängig ist, da dieser Effekt nach Blockierung der NO-vermittelten ACh-Wirkung nicht mehr zu beobachten war. Zum anderen konnte gezeigt werden, dass es zu einer verstärkten kontraktilen Antwort auf Phenylephrin an Gefäßen schwangerer gesunder Ratten kommt, jedoch nicht an den Gefäßen des präeklampsischen Phänotyps. Außerdem konnte L-NAME die Vasorelaxation zwar fast vollständig inhibieren, jedoch verblieb eine kleine Vasorelaxation, die nicht durch NO vermittelt wird. Dies spricht dafür, dass unabhängig vom NO weitere Faktoren eine Rolle spielen, die sowohl andere kontraktile als auch andere relaxierende Faktoren einschließen, wie zum Beispiel EDHFs oder Endothelin und Thromboxan [98].

5.1.5. Inkubation mit Indomethacin

Des Weiteren konzentrierte sich die vorliegende Arbeit auf die Ursachen, die zu einer partiellen kontraktilen ACh-Wirkung führen. Es wurde die Hypothese getestet, dass dieser Effekt durch einen prostanoidvermittelten Prozess zu Stande kommt, der durch eine Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase aufgehoben werden kann [110]. Dazu wurden die Gefäße nach Durchführung der Dosis-Wirkungskurven zu Phe und ACh mit Indomethacin, einem unspezifischen COX-Inhibitor, inkubiert und dann erneut mit Phe und ACh stimuliert.

Es konnte gezeigt werden, dass in der PM nach Indomethacintherapie eine etwas verringerte Ansprechbarkeit auf vasokonstriktive Stimuli, vor allem im Bereich mittlerer Dosierungen vorliegt.

Zlatnik et al. untersuchten in einem Tiermodell zur Präeklampsie die Wirkung einer Therapie mit Indomethacin. Dieses Tiermodell erforscht die Folgen eines chronischen NO-Mangels, in dem Ratten über einen längeren Zeitraum L-NAME infundiert wird, was zu Präeklampsie-typischen Symptomen führt. In der Vorstellung, dass die pathologischen Prozesse innerhalb des Modells durch die Aktivität der COX beeinflusst werden, gaben sie einer Gruppe von Tiere zusätzlich zu L-NAME auch Indomethacin. In dieser Studie konnte jedoch nicht gezeigt werden, dass eine Indomethacintherapie einen positiven Einfluss auf die Entwicklung eines Hypertonus ausübt [111].

Dennoch konnte in dieser Arbeit ein signifikant geringeres Ansprechen der PM auf vasokontraktile Stimuli im Bereich mittlerer Dosierungen gefunden werden. Dies impliziert, dass durch die Hemmung der COX pathologische Prozesse verhindert werden, die an den Gefäßen des präeklampischen Phänotyps eine endothelvermittelte Vasokonstriktion (mit)verursachen.

Viel eindrücklicher waren jedoch die Ergebnisse in Bezug auf die Vasorelaxation. Hier konnte gezeigt werden, dass die beschriebenen kontraktile Effekte durch hohe ACh-Dosierungen fast vollständig aufgehoben werden konnten.

Wie bereits zuvor diskutiert, konnten auch in einem Tiermodell zu Adipositas und Bluthochdruck durch Traupe et al. ein kontraktiler Effekt von ACh beschrieben werden. Hier wurden im Folgenden die Gefäße ebenfalls mit Indomethacin therapiert, was wie im vorliegenden Experiment zu einer Verminderung der Kontraktion durch ACh führte [104].

Da Indomethacin zu einer unspezifischen Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase führt, was für die Bildung vasoreaktiver Prostanoiden wie Prostaglandin H₂ (PGH₂) und Thromboxan A₂ (TxA₂) verantwortlich ist, kann den Prostanoiden eine wichtige Rolle in der Vermittlung der ACh-Kontraktion zugesprochen werden.

Da das Enzym Cyclooxygenase in zwei Isoformen vorliegt, der COX-1 und COX-2, untersuchten Traupe et al. welcher Isoform die Effekte zugeordnet werden konnten. Dazu verwendeten sie den selektiven COX-2-Inhibitor NS-398 und konnten zeigen, dass dieser den kontraktile Effekt von ACh nicht verhindern konnte. Somit wurde nachgewiesen, dass der Effekt durch die Isoform COX-1 bedingt ist [104].

5.1.6. Inkubation mit SQ 29,549

Zur weiteren Untermauerung der Hypothese wurden die Gefäße auch mit dem Thromboxan-Rezeptor-Antagonisten SQ 29,548 inkubiert, wobei ebenfalls beobachtet werden konnte, dass die ACh-induzierte Vasorelaxation verbessert werden konnte und der paradoxe kontraktile Effekt des AChs in hohen Dosierungen verschwand.

Auch Traupe et al. gingen diesem Effekt nach. Die Therapie mit SQ 29,548 konnte auch in ihrem Fall die kontrahierenden Acetylcholin-Effekte aufheben. In dieser Studie wurde in diesem Zusammenhang zusätzlich die gesteigerte Expression von Thromboxanrezeptoren auf molekularer Ebene gezeigt. Zusammenfassend zeigte diese Arbeit, dass Acetylcholin in hohen Dosierungen an durch Bluthochdruck und Adipositas vorgeschädigten Gefäßen zu einer paradoxen Vasokonstriktion führt. Diese wird durch Mediatoren verursacht, die durch das Enzym COX-1 produziert werden. Da im selben Fall auch die Expression von Thromboxanrezeptoren auf genetischer Ebene erhöht zu sein scheint, sollte in erster Linie Thromboxan die Rolle als Verursacher des kontraktilen Antagonismus zukommen [104].

Im transgenen Tiermodell wurde ein agonistisch wirkender Angiotensinrezeptor-Antikörper nachgewiesen. Möglicherweise spielt dieser eine Rolle bei der Entstehung der endothelialen Dysfunktion. Diese Hypothese wird durch die Arbeit von Viridis et al. unterstützt. In diesem Modell entwickeln Mäuse, denen über einen Zeitraum Ang II infundiert wurde, eine endotheliale Dysfunktion, die durch Prostaglandine vermittelt ist [103]. Sie zeigten, dass an diesen Mäusen ebenfalls eine gestörte Vasorelaxation zu finden ist. SC-560, ein selektiver COX-1-Inhibitor, konnte die ACh-vermittelte Relaxation verbessern. Damit zeigten auch sie, dass die enzymatische Wirkung der COX-1 mit der Ang II-induzierten Endotheldysfunktion in Verbindung steht. Sie beobachteten weiterhin, dass die genetische Expression der COX-1 bei Angiotensin II-infundierten Mäusen erhöht ist. Andere Studien zeigten, dass Ang-II-Effekte sogar ganz aufgehoben sein können, wenn Mäuse keine COX-1 exprimieren [112]. Aus weiteren Ergebnissen schlossen die Untersucher, dass es in Ang II-infundierten Mäusen vermehrt zu einer Aktivierung der NADPH-Oxidase kommt, deren Sauerstoffradikale zu einer verminderten Verfügbarkeit von NO und zu einer COX-Stimulation führen [103]. Dadurch kommt es zu einer Vermehrung von COX-Produkten, welche dann die Thromboxanrezeptoren glatter Gefäßmuskulzellen aktivieren. Unter physiologischen Bedingungen führt eine verstärkte COX-1-Aktivität zur Produktion des vasodilatierenden Prostaglandins. Viridis et al. spekulierten, dass dies unter pathologischen Bedingungen nicht der Fall ist, und die COX-1 vermehrt kontraktile Prostaglandine produziert. Um die Rolle des Thromboxanrezeptors zu untersuchen, wendeten sie

ebenfalls SQ 29,548 und den Thromboxan-Synthese-Inhibitor Ozagrel an. Hier konnte eine Verbesserung der Vasorelaxation in Ang II-infundierten Mäusen durch die Blockade des Thromboxanrezeptors gefunden werden. Die Vasorelaxation konnte aber nicht durch Inhibierung der Thromboxansynthese selbst verbessert werden. Sie schlossen daraus, dass Ang II zur Produktion eines COX-1-Metaboliten führt, der als Agonist am Thromboxanrezeptor wirkt, aber nicht Thromboxan selbst ist.

Francois et al. nutzten Knock-out-Mäuse und konnten zeigen, dass in Mäusen, die keinen Thromboxanrezeptor exprimieren, die Entwicklung von Angiotensin II-induziertem Hochdruck vermindert werden konnte. Die Infusion von Ang II führte bei gesunden Mäusen zu einem Hypertonus und zu einer Herzhypertrophie, während dies bei den Knock-out-Mäusen nicht zu finden war. Die Daten dieser Arbeit sprechen einer Thromboxanrezeptoraktivierung ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Entstehung eines Ang II-induzierten Hypertonus zu [113].

Die diskutierten Studien demonstrierten wichtige Interaktionen von Ang II mit der Cyclooxygenase und Thromboxanrezeptoren. Auch wenn im vorliegenden Tiermodell eines agonistischen Angiotensinrezeptor-Autoantikörpers keine Untersuchungen zu COX-Aktivität und Thromboxanrezeptoraktivierung durchgeführt wurden, so kann doch über vergleichbare Pathomechanismen spekuliert werden.

5.2. PGF1 α /TxB2-Ratio

Eine verminderte Prostaglandin/Thromboxan-Ratio ist möglicherweise mit einer Präeklampsie assoziiert [114, 115]. Außerdem konnte dokumentiert werden, dass die Ausscheidung der Metabolite im Urin von Präeklampsiepatientinnen verändert ist, noch bevor es zum Auftreten klinischer Symptome kommt [72].

Die vorliegende Arbeit überprüfte deshalb die Hypothese, dass im vorliegenden Tiermodell ebenfalls eine verminderte PGF1 α /TxB2-Ratio gefunden wird und untersuchte das Serum der schwangeren Ratten am 18. Tag der Schwangerschaft. Beide Prostanoiden haben nur eine kurze Halbwertszeit, weshalb es praktikabler ist, deren Metabolite zu bestimmen [116]. Deshalb wurden die Werte der stabilen Metaboliten PGF1 α und TxB2 herangezogen.

Die Ergebnisse bestätigten die Hypothese und erbrachten eine signifikant erniedrigte PGF1 α /TxB2-Ratio im Serum der PM im Vergleich zur SD-P, wobei PGF1 α deutlich reduziert war, während TxB2 keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen zeigte.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den Arbeiten von Chavarría et al.[117]. Sie untersuchten das Serum von 500 Frauen in vierwöchentlichen Abständen ab der neunten bis zwölften Schwangerschaftswoche, davon 26 Frauen mit Präeklampsie, 52 normotensive Schwangere und zusätzlich 30 gesunde nicht schwangere Frauen. Die Ergebnisse im ersten Trimenon der Schwangerschaft erbrachten 3,4-fach erhöhte Prostazyklinwerte im Falle einer Schwangerschaft, unabhängig von der späteren Entwicklung einer Präeklampsie. Im Verlauf der Schwangerschaft sanken die Werte für Prostazyklin. In einer normalen Schwangerschaft sanken die Werte bis zum Ende der ersten Schwangerschaftshälfte und blieben dann konstant. Bei Präeklampsiepatientinnen sanken die Werte stärker und waren in der zweiten Schwangerschaftshälfte signifikant niedriger als in einer normalen Schwangerschaft.

Im Gegensatz dazu waren die Werte für Thromboxan zu jedem Zeitpunkt im Falle einer Präeklampsie zur gesunden Kontrollgruppe erhöht. Dementsprechend zeigte sich die PGF1 α /TxB2-Ratio zu jedem Zeitpunkt einer präeklampsischen Schwangerschaft erniedrigt, und das schon vor Auftreten klinischer Symptome.

Eine wichtige Erkenntnis der Studie von Chavarría et al. ist demnach, dass zu jedem Zeitpunkt einer Schwangerschaft, die durch eine Präeklampsie kompliziert wird, erhöhte Thromboxanlevel gefunden werden können. Zwar zeigten die Ergebnisse im vorliegenden Tiermodell ebenfalls eine verminderte PGF1 α /TxB2-Ratio, jedoch zeigten die Absolutwerte der Thromboxanspiegel keine Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen. Dennoch weisen die Ergebnisse erneut auf eine gestörte Balance vasodilatierender und vasokonstriktiver Prostanoiden hin.

5.3. Ultraschalluntersuchung und biometrische Daten

Ein normales intrauterines Wachstum ist das Endresultat vieler, gut aufeinander abgestimmter Vorgänge, die sowohl von endogenen als auch von exogenen Faktoren beeinflusst werden. Wie einleitend beschrieben, ist dabei eine intakte Funktion der Plazenta von zentraler Bedeutung, wobei dies auch eine normale Entwicklung der uteroplazentaren und der fetoplazentaren Gefäßgebiete voraussetzt.

5.3.1. Ultraschalluntersuchungen

Zur Prüfung der Hypothese, ob im vorliegenden Tiermodell eine intrauterine Wachstumsretardierung vorliegt, wurden Ultraschallmessungen der intrauterinen Feten an den Embryonaltagen 15.5, 18.5 und 21.5 durchgeführt. Dabei wurden aus den Daten der Abdomen- und Kopfdurchmesser deren Umfänge bestimmt.

Die Ergebnisse erbrachten bezüglich der Abdomenumfänge keine signifikanten Unterschiede im zweiten Trimenon der Schwangerschaft zwischen SD-P und PM. Zum letzten Untersuchungszeitpunkt (E21.5) zeigten sich dann signifikant niedrigere Abdomenumfänge der Feten in der PM. Mit den Kopfumfängen verhielt es sich ähnlich. Auch hier konnten im letzten Trimenon der Schwangerschaft signifikant verminderte Kopfumfänge der Feten präeklaptischer Mütter gefunden werden.

Ultraschalluntersuchungen während der Schwangerschaft von Mäusen und Ratten waren lange Zeit keine Selbstverständlichkeit. Die meisten Untersuchungen zum fetalen Wachstum beschränken sich deshalb auf ex-vivo- Methoden. Die Bestimmung des Geburtsgewichtes ist der gebräuchlichste Parameter, um das fetale Wachstum zu quantifizieren, jedoch gibt er keine Auskunft über die Proportionierung des Wachstums. Ultraschalluntersuchungen hingegen werden in humanen Schwangerschaften extensiv genutzt [118]. Die meisten Untersuchungen an humanen Feten schließen die Bestimmung folgender Parameter ein: Größe der Fruchtblase, Scheitel-Steißlänge, Abdomenumfang, biparietaler Kopfdurchmesser und Femurlänge [119, 120]. Eine aktuelle Arbeit von Mu et al. zeigte, dass diese Parameter auch in utero bei Mäusen bestimmt werden können [118]. Grundvoraussetzung dazu war die Weiterentwicklung der Ultraschalltechnologie zur Darstellung besonders kleiner Tiere. Dem wurde mit der Entwicklung des Mikroultraschalls Rechnung getragen [121]. Mit Hilfe von 40 MHz war damit eine laterale Auflösung von 40 μM möglich, was einer 10fachen Verbesserung im Vergleich zu konventionellen 15 MHz-Ultraschallgeräten entsprach. Mit dieser neuen Technologie verfolgten Mu et al. das Wachstum von 211 Embryonen schwangerer Mäuse und stellten Wachstumskurven zu den oben genannten Parametern auf. Sie überprüften ihre Ergebnisse durch postpartale Gewichts-, Längen- und Umfangsmessungen und zeigten gute, reproduzierbare Ergebnisse mit geringer Fehlerquote und dies zu einem früheren Zeitpunkt in der Schwangerschaft, als es bis dahin möglich war. Sie zeigten, dass die intrauterine Bestimmung insbesondere der Schädel-Steißlänge und der Abdomenumfänge leicht durchzuführen sind und eine gute Prädiktion des fetalen Gewichtes ermöglichen [118].

Die Datenlage zu Untersuchungen an Ratten ist noch geringer. Ypsilantis et al. diskutierten die Möglichkeit der früheren und sicheren Feststellung einer bestehenden Schwangerschaft an Ratten mittels 12 MHz-Ultraschall [122]. Kobayashi et al. untersuchten die Möglichkeit, fetale Atembewegungen mittels Ultraschall an schwangeren Ratten zu untersuchen [123].

In der vorliegenden Arbeit wurde also erstmals das intrauterine Wachstum fetaler Ratten unter physiologischen Bedingungen und vor dem Hintergrund einer Präeklampsie untersucht. Es konnte eine intrauterine Wachstumsretardierung gezeigt werden, die im besonderen Maß die Abdomenumfänge der Feten, aber auch die Kopfumfänge betrifft. Dies bietet die Möglichkeit, Veränderungen im Verlauf der Schwangerschaft von Ratten zukünftig weiter zu beobachten, aber vor allem auch pharmakologische, chirurgische und andere Interventionen zu bewerten.

5.3.2. Gewichtsmessungen

Postmortal erfolgten des Weiteren das Wiegen der Feten, sowie die Bestimmung der Gehirn/Leber-Ratio an Hand der Organgewichte.

Insgesamt waren die Feten präeklampsischer Mütter zum Zeitpunkt der Geburt signifikant leichter. Am deutlichsten erkennbar waren die Unterschiede jedoch in der berechneten Ratio aus Gehirn- und Lebergewicht. Dabei wurde eine signifikante Erhöhung der Ratio in der erkrankten Gruppe gefunden.

Einleitend beschrieben wurde die Differenzierung zwischen einer symmetrischen und einer asymmetrischen Wachstumsretardierung, wobei einer Präeklampsie typischerweise eine asymmetrische Wachstumsretardierung zugesprochen wird. Eine Vielzahl verschiedener Ultraschallindizes wurden konstruiert, um zum einen eine intrauterine Wachstumsretardierung aufzudecken, zum anderen mehr noch um eine symmetrische von einer asymmetrischen abzugrenzen [124]. Die Bestimmung der fetalen Gehirn/Leber-Relation ist einer dieser Werte. Das fetale Gehirn ist normalerweise drei Mal schwerer als eine fetale Leber. Diese Relation zeigte sich unabhängig vom Gestationsalter und dem Körpergewicht [124]. Mitchell et al. untersuchten insgesamt 231 Totgeburten und ordneten sie an Hand anamnestischer Daten zur Mutter und zum Schwangerschaftsverlauf drei Gruppen zu: 1. Feten mit Verdacht auf eine asymmetrische Wachstumsretardierung, 2. Feten mit Verdacht auf eine symmetrische Wachstumsretardierung und 3. Feten ohne Anzeichen einer Wachstumsretardierung [125]. Sie bestimmten die Gehirn/Leber-Ratio und sahen diese ab einem Wert von drei als erhöht an. Die Ergebnisse erbrachten, dass die Ratio, im Falle eine Wachstumsretardierung, mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit gegenüber einem normal großen Feten erhöht ist. Die Differenzierung bezüglich einer symmetrischen oder asymmetrischen Wachstumsform gestaltete sich schwieriger. In beiden Gruppen waren signifikante Erhöhungen der Ratio zu finden. Der prädiktive Wert, aus einem SGA-Kollektiv eine asymmetrische Wachstumsretardierung mittels Gehirn/Leber-Ratio abzugrenzen, zeigte eine Sensitivität von 55% und eine Spezifität von 63%

(bei einem Cutoff von Ratio = 3). Je höher der Cutoff gewählt wurde, desto spezifischer wurde die Aussagekraft des Wertes. Ebenso, wenn die Ratio nach einem Gestationsalter von 19 Wochen bestimmt wurde [125].

Die Bestimmung der Gehirn/Leber-Ratio zeigt also Schwächen, was die Unterscheidung zwischen symmetrischer und asymmetrischer Wachstumsretardierung betrifft, jedoch ist sie unabhängig davon ein deutliches Indiz für eine Wachstumsminde- rung an sich. Soweit die Datenlage überblickt werden kann, gibt es keine Studien, die eine Leber/Gehirn-Ratio in Ratten an Tiermodellen zur intrauterinen Wachstumsretardierung untersucht. Deshalb können nur vorsichtige Parallelen zur humanen Situation gezogen werden. In der vorliegenden Arbeit können die Absolutwerte der Ratio sicher nicht mit der humanen Situation verglichen werden, jedoch zeigt der Vergleich zur Kontrollgruppe im Tiermodell eine signifikante Erhöhung der Ratio, was die These einer intrauterinen Wachstumsretardierung bekräftigt.

Eine fetale Wachstumsretardierung konnte schon in einigen Tiermodellen beschrieben werden. Beispielsweise sind die Feten von Ratten, die einer RUPP-Prozedur unterzogen wurden signifikant leichter zum Zeitpunkt der Geburt. Mehr noch kann sogar an den Gefäßen der retardierten Feten eine Endotheldysfunktion nachgewiesen werden, die den Müttern ähnlich ist. So konnte ein vermehrtes Ansprechen auf einen kontraktilen Stimulus (Phe) und eine verminderte endothelvermittelte Relaxation gezeigt werden [78].

Noch weiter gehen die Untersuchungen von Irani et al. [126]. Sie untersuchten die intrauterine Wachstumsretardierung an Mäusen, denen AT1-AA injiziert wurden. Sie isolierten den AT1-AA aus dem Serum präeklampsischer Frauen und injizierten ihn in schwangere Mäuse am Tag 13 oder 14 der Schwangerschaft. Die weiteren Untersuchungen folgten fünf Tage später. Sie konnten nachweisen, dass der Autoantikörper nicht nur im Nabelschnurblut, sondern auch im fetalen Kreislauf zu finden war. Sie isolierten die „fetalen Antikörper“ und konnten nachweisen, dass dieser nach wie vor in der Lage war, den entsprechenden Angiotensinrezeptor zu stimulieren. Nachfolgend untersuchten sie Nieren der Feten und konnten eine Verschmälerung der renalen Wachstumszone und eine verminderte Anzahl an Glomerula finden. Um zu untersuchen, ob auch die kindliche Leber in ihrer Entwicklung gestört ist, versuchten sie Megakaryozyten im Blut des Feten nachzuweisen. Während der Organogenese findet bei fetalen Mäusen, ähnlich wie beim Menschen, die Blutbildung in der Leber statt. Dementsprechend sind Vorstufen der Blutzellen im Kreislauf nachweisbar. Mit zunehmender Blutbildung im Knochenmark verringert sich die Bildung in der Leber und Megakaryozyten verschwinden aus

dem fetalen Kreislauf. Im Kreislauf der Feten AT1-AA-injizierter Mäuse waren die Vorstufen länger als üblich nachweisbar, was ebenfalls pathologische Veränderungen in der Entwicklung der Leber bzw. des blutbildenden Systems impliziert.

Wie zu erwarten, waren die Feten kleiner und leichter als die Tiere der Kontrollgruppe.

Und auch die Plazenten präeklampsieerkrankter Mütter waren kleiner und leichter. Irani et al. konnten weiterhin zeigen, dass die Retardierung der Plazenten durch eine vermehrte Apoptose von Trophoblasten bedingt ist. Sie konnten zeigen, dass die AT1-AA die Angiotensin-Rezeptoren der Trophoblasten aktivierten. Um dies zu untermauern, behandelten sie humane Trophoblastenzellproben aus Plazenten und Trophoblastenzelllinien mit dem AT1-AA und konnten auch in den anderen beiden Fällen eine vermehrte Apoptose der Trophoblasten nachweisen.

Fast folgerichtig konnten alle beschriebenen Prozesse durch die gleichzeitige Gabe des Angiotensinrezeptorantagonisten Losartan verhindert werden.

Diese Studie demonstrierte eindrücklich die Rolle des AT1-AA an der Entstehung einer intrauterinen Wachstumsretardierung und Schädigung der Plazentaentwicklung.

Zusammenfassend kann in der vorliegenden Untersuchung eine intrauterine Wachstumsretardierung im Rahmen eines Tiermodells zu Präeklampsie gefunden werden. Verminderte Abdomen- und Kopfumfänge, ein verringertes Geburtsgewicht und eine erhöhte Gehirn/Leber-Ratio repräsentieren dies. Des Weiteren kann spekuliert werden, dass es sich dabei um eine asymmetrische Wachstumsretardierung handelt, auch wenn die vergleichenden Studien eine kontroverse Diskussion zulassen. Wichtige Parallelen erbrachten die Studien an einem Modell AT1-AA-injizierter Mäuse, die eine Verbindung zwischen der IUGR bei einer Präeklampsie und der Präsenz des AT1-AA zeigten.

5.3.3. Dopplerschalluntersuchungen

Um die Hypothese zu prüfen, dass neben einer intrauterinen Wachstumsretardierung auch eine gestörte uteroplazentare und/oder fetoplazentare Durchblutung vorliegt, wurden Dopplerultraschallmessungen der Aa. uterinae und Aa. arcuatae an den Tagen E9.5, 12.5, 15.5, 18.5 durchgeführt und der Resistenzindex (RI) berechnet.

Die Ergebnisse zeigten, dass der uterine Gefäßwiderstand ab E15.5, der Widerstand der Arcuatagefäße am E18.5 signifikant bei präeklampsischen Tieren vergleichsweise erniedrigt war. Während der systemische Blutdruck um den 12. Tag der Schwangerschaft anstieg, sanken die Gefäßwiderstände also.

Die erhobenen (nicht graphisch dargestellten) Daten zur Durchblutung in den Umbilicalarterien zeigten zwischen der präeklampsischen Gruppe und schwangeren Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede.

Obwohl es viele Tiermodelle zur Präeklampsie gibt, gibt es wenige Methoden, den Progress der Erkrankung zu überwachen [127]. Dabei gibt es eine deutliche Korrelation zwischen abnormaler uteroplazentarer/fetoplazentarer Hämodynamik und dem Auftreten von Plazentapathologie, Präeklampsie und intrauteriner Wachstumsretardierung [128]. Deshalb ist es wichtig, Methoden zu etablieren, durch die hämodynamische Parameter auch in Tiermodellen überwacht werden können. Die Arbeitsgruppe um Mu und Adamson tat hierzu einen wichtigen ersten Schritt. Mit Hilfe hochauflösendem Ultraschall und Dopplerultraschall untersuchten sie die uteroplazentaren und fetoplazentaren Gefäßgebiete an schwangeren und nicht schwangeren Mäusen. Sie bestimmten PSV, EDV und berechneten daraus den RI. Die Dopplerkurven der A. uterina bei nicht schwangeren und früh schwangeren Mäusen zeichneten sich durch eine niedrige enddiastolische Geschwindigkeit und einen frühsystolischen Notch aus, der ab E14.5 nicht mehr nachzuweisen war. Im weiteren Verlauf der Schwangerschaft nahmen PSV und EDV deutlich zu, was in einer signifikanten Verringerung des RIs resultierte. Die kleinen Arterien in der Nähe der Plazenten zeichneten sich in der frühen Schwangerschaft durch einen niedrigen PSV und einen hohen EDV aus, wobei mit Voranschreiten der Schwangerschaft der PSV deutlich anstieg. Auch in Umbilicalarterien konnte, mit zunehmendem Verlauf der Gravidität, ein steigender PSV und sinkender RI verzeichnet werden. Die EDVs der Umbilicalarterien war zu Beginn nahe Null und stiegen im Verlauf deutlich an [127]. Die gezeigten Charakteristika der einzelnen Gefäßabschnitte sind denen des Menschen sehr ähnlich. Die Untersucher spekulierten, dass die Ähnlichkeiten vermuten lassen, dass eine abnormale Hämodynamik, wie sie zum Beispiel im Falle einer Präeklampsie erkennbar ist, auch in Tiermodellen zu Präeklampsie aufzufinden sein könnte. Diese Studie war die erste ihrer Art und sollte eine Basis für zukünftige Studien in pathologischen Situationen darstellen.

In der vorliegenden Studie wurden Daten erhoben, die die aufgestellte Hypothese nicht bestätigen konnten. Es konnte gezeigt werden, dass trotz nachgewiesener intrauteriner Wachstumsretardierung keine typischen hämodynamischen Veränderungen zu finden sind. Im Gegenteil, die plazentare Durchblutungssituation scheint sich sogar nach Auftreten der Symptome zu verbessern. Andererseits unterliegen die Parameter der schwangeren Kontrollgruppe auch nicht den Veränderungen, wie sie in einer normalen Schwangerschaft des Menschen auftreten und in den Arbeiten von Anderson et al. auch für Mäuse beschrieben

wurden. Ein wichtiger Grund dafür könnte sein, dass es trotz vieler Ähnlichkeiten eben doch auch wichtige Unterschiede in der Plazentation von Menschen, Mäusen und Ratten gibt. In den Plazenten von Ratten lässt sich in einer normalen Schwangerschaft, sowohl tief in der Dezidua, als auch im so genannten mesometrischen Triangel, eine Trophoblasteninvasion nachweisen. Diese Trophoblasteninvasion erreicht deutlich tiefere Gewebeschichten, als dies in einer Mausplazenta vorzufinden ist [129]. Durch der vorliegenden Arbeit folgende Untersuchungen der Arbeitsgruppe Dechend et al. konnte gezeigt werden, dass im vorliegenden Tiermodell die Trophoblasteninvasion erkrankter Tiere sogar tiefer reicht, als dies in der gesunden Kontrollgruppe der Fall ist. Entsprechend dieser histomorphologischen Unterschiede konnten auch erniedrigte RIs in der PM gefunden werden [130]. Dieser Umstand sollte retrospektiv in die Bewertung der gewonnenen Ultraschalldaten einbezogen werden.

Der Vergleich beider Tiermodelle, Ratte und Maus, könnte in der weiteren Erforschung der Beziehung zwischen Trophoblasteninvasion, vaskulärem Remodeling und der Auswirkung auf die utero- und fetoplazentare Durchblutung von Nutzen sein.

5.4. Klinischer Bezug

Die Entwicklung eines Tiermodells zur Präeklampsie hat sich in der Vergangenheit als schwierig erwiesen. Durch die Arbeiten von Takimoto et al. konnte ein Modell „genetisch induzierter“ Hypertonie an Mäusen evaluiert werden [90].

Bohlender et al. konstruierten ein transgenes Tiermodell für Ratten. Für das humane Angiotensinogen-Gen transgene Ratten [TGR(hAogen)L1623] wurden dabei mit Ratten, die das humane Renin-Gen tragen [TGR(hRenin)L10J] verpaart. Beide Gruppen für sich allein zeigten eine hohe Expression für das jeweilige humane Gen, welche die Expression der tiereigenen Variante um ein Vielfaches überstieg. Da das RAS der Ratten nicht mit dem humanen interagiert, zeigten die Tiere keine Anzeichen präeklampsietypischer Symptome. Nach der Verpaarung von [TGR(hAogen)L1623]-Weibchen mit [TGR(hRenin)L10J]-Männchen ergab die Messung der Blutdrücke einen sprunghaften Anstieg etwa 10 Tage vor der Geburt. Der Hypertonus hielt bis kurz vor der Geburt um den 23. Tag der Schwangerschaft an. Des Weiteren war auch eine milde Steigerung der Herzfrequenz zu verzeichnen, die ebenfalls bis kurz vor der Geburt anhielt. Die umgekehrte Verpaarung der transgenen Ratten, ebenso wie eine schwangere Kontrollgruppe zeigten keine Zeichen eines Hypertonus. Die Nachkommen der präeklampsischen Kreuzung erlitten schwere Organschäden und verstarben innerhalb von sieben bis acht Wochen nach der Geburt. Die Experimente zeigten, dass das plazentare Gewebe,

mütterlicher oder fetaler Herkunft, in der Lage war, aktives humanes Renin zu produzieren und zu sezernieren. Die Serumanalysen der erkrankten Tiere erbrachten hohe Werte für Renin und Angiotensinogen sowie eine hohe Plasmareninaktivität. In der enzymatischen Umsetzung von Angiotensinogen zu Angiotensin I ist die Konzentration von Renin der geschwindigkeitsbestimmende Faktor. Die Halbwertszeit von Renin wird dabei von der Angiotensinogenkonzentration beeinflusst. Die exzessive Erhöhung von Angiotensinogen in erkrankten Tieren führt somit zu einer vielfach gesteigerten Reninaktivität und damit zu entsprechend erhöhten Angiotensin II-Spiegeln [91].

Durch die weiteren Arbeiten von Dechend et al. konnten im vorliegenden Tiermodell weitere präeklampsietypische Symptome nachgewiesen werden. So zeigten die schwangeren Weibchen der PM eine Albuminurie, in den Nieren eine typische glomeruläre Endotheliose und die Expression eines agonistischen AT1-AA. Die Untersuchung der Trophoblasteninvasion ergab im Tiermodell zwar eine Invasion auch in tiefe plazentare Ebenen, jedoch zeigten sich präeklampsietypische Veränderungen in Form von akuter Atheromatose und Trophoblastenzelluntergang [50].

Zur weiteren Evaluierung dieses Tiermodells stellte sich nun die Frage, ob im vorliegenden Tiermodell die Eckpunkte des klinischen Erkrankungsbildes, endotheliale Dysfunktion und intrauterine Wachstumsretardierung, nachvollzogen werden können. Dies war Ziel der vorliegenden Arbeit.

Die Charakterisierung der Endothelfunktion ergab eine deutlich erhöhte Ansprechbarkeit auf α -adrenerge Stimuli in der Gruppe der präeklampsischen Kreuzung. Dies ist auch wichtiges Merkmal des humanen Krankheitsbildes [99] und führt zu einer generalisierten Vasokonstriktion und Anstieg des systemischen Blutdruckes [58].

Des Weiteren ist eine verminderte endothel-abhängige Vasorelaxation im humanen Krankheitsbild typisch [58]. Dies konnte auch im vorliegenden Tiermodell nachgewiesen werden. Es wurde vermutet, dass dies mit einem gestörten Metabolismus von NO und seinem second messenger cGMP zusammenhängt [131-134].

Mehr noch konnte nachgewiesen werden, dass es bei den Tieren der präeklampsischen Kreuzung nicht nur zu einer gestörten Vasorelaxation kommt, sondern dass ein paradoxer kontraktiler Effekt des Acetylcholins in höheren Dosierungen auftritt. Dies konnte auch in Tiermodellen gezeigt werden, die sich mit einer endothelialen Schädigung im Rahmen von Adipositas,

Bluthochdruck und Diabetes mellitus befassen [104, 105]. Es scheint also, dass im Rahmen einer Präeklampsie Pathomechanismen ablaufen, die denen kardiovaskulärer Erkrankungen ähneln. Und in der Tat konnten Langzeitstudien zeigen, dass Patientinnen mit einer Präeklampsie im späteren Leben ein erhöhtes Risiko für kardiale Erkrankungen haben [135, 136].

Durch Inkubationsversuche konnte in dieser Arbeit deutlich gemacht werden, dass die paradoxe Wirkung des Acetylcholin ein endothelvermittelter Prozess ist. Es wurde bewiesen und durch andere Studien unterstützt, dass diese Wirkung durch Metabolite des Enzyms COX vermittelt werden, die mit dem Thromboxanrezeptor interagieren. Die Hemmung der COX und Blockierung der Thromboxanrezeptoren verbesserten das Relaxationsvermögen erkrankter Tiere [103, 104]. Die diskutierten Arbeiten zeigten weiterhin, dass die Expression der COX in Tiermodellen zur Präeklampsie erhöht ist und dass dies durch eine Minderung des NOs getriggert wird.

Eine gestörte Balance zwischen den so unterschiedlichen Prostanoiden, Thromboxan und Prostazyklin, zu Gunsten der kontraktiven Effekte des Thromboxans konnte im Fall des humanen Krankheitsbildes auch nachgewiesen werden. Während es im Erkrankungsfall zu einer kontinuierlichen Überproduktion von Thromboxan kommt, sinkt die Produktion des vasodilatierenden Prostazyklins schneller ab, als in einer normalen Schwangerschaft. Dies spiegelt sich in einer erniedrigten Prostaglandin/Thromboxan-Ratio wider [117]. Und dies konnte auch in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden. Aus ähnlichen Erkenntnissen entstand deshalb die Theorie, dass Aspirin als COX-Hemmer in geringen Dosierungen zur Prävention der Präeklampsie eingesetzt werden könnte [137]. Dazu würde passen, dass bei einigen Patientinnen die Inhibition der COX mit Aspirin die Renitenz gegenüber Angiotensin II wieder herstellen und die Produktion von Thromboxan vermindern konnte [110, 138]. Klinische Untersuchungen zeigten jedoch, dass es unter der Prophylaxe mit Aspirin nur zu einer geringen Senkung der Präeklampsie-Inzidenz und zu keiner Senkung der perinatalen Morbidität kommt [139].

Zusammenfassend konnten in dieser Arbeit also wesentliche Merkmale der Endotheldysfunktion gezeigt werden, wie sie auch beim Menschen zu finden sind. Das Tiermodell kann somit für Interventionsstudien genutzt werden. Es kann beispielsweise eine pharmakologische Beeinflussung einzelner pathophysiologischer Entitäten der Präeklampsie vorgenommen werden und die Auswirkung auf das Krankheitsbild und dessen Ausprägung beobachtet werden. So kann beispielsweise eine mögliche Besserung der endothelialen Dysfunktion als Gradmesser für die Wirksamkeit einer experimentellen „Therapie“ herangezogen werden. Hierdurch lassen sich wichtige Erkenntnisse für das menschliche Krankheitsbild der Präeklampsie gewinnen.

Der zweite wichtige Punkt in der Evaluierung des Tiermodells lag im Nachweis einer intrauterinen Wachstumsretardierung. Es konnte gezeigt werden, dass die Feten des präeklampsischen Phänotyps leichter waren und Hinweise für eine asymmetrische Retardierung lieferten (Vergleich der Abdomen- und Kopfumfänge, Bestimmung der Gehirn/Leber-Ratio).

Das Auftreten einer IUGR in Kombination mit einer Präeklampsie ist beim Menschen bekannt [23, 24]. Oft wird sie in Zusammenhang mit einer asymmetrischen Retardierung gebracht, wobei dies kontrovers diskutiert wird [125] und nach Ansicht mancher Autoren abhängig vom Zeitpunkt der Schädigung in der Trophoblastenentwicklung ist [140].

Nach Vorarbeiten der Arbeitsgruppe um Adamson [118] war es in dieser Arbeit erstmals möglich, das fetale Wachstum von Ratten mittels Ultraschall zu dokumentieren und vor dem Hintergrund einer Präeklampsie zu erforschen.

Eine IUGR entsteht nach Ansicht der Forschung durch eine gestörte Trophoblasteninvasion, die zu einer plazentaren Hypoxie und Plazentainsuffizienz führt. Obwohl die ursächlichen Stimuli für eine gestörte Trophoblastenentwicklung wenig genau bekannt sind, führen sie zu einer verminderten Invasion in die Gebärmutter und zu einem verminderten Remodeling der Spiralarterien, was zu einer verminderten uteroplazentaren Durchblutung führt [20, 141, 142]. Obwohl im vorliegenden Tiermodell tiefe Trophoblasteninvasionen und Gefäßremodeling nachgewiesen wurden [50], konnten andere pathologische Charakteristika der Trophoblastenentwicklung gefunden werden.

Dem Verständnis der Erkrankung nach, führt die gestörte Entwicklung der Plazenta zu pathologischen Veränderungen in der Hämodynamik uteroplazentarer und fetoplazentarer Gefäßgebiete, und dies lange vor dem Auftreten klinischer Symptome [25, 143-145]. Folgerichtig entstand die Hypothese, dass eine pathologische Hämodynamik auch im vorliegenden Tiermodell zu finden sein müsste, besonders nachdem, zumindest an Mäusen, ähnliche hämodynamische Veränderungen gefunden wurden. Jedoch konnten die Ergebnisse im Gegensatz zu humanen Charakteristika keine typischen Veränderungen zeigen, sondern eher noch eine Verbesserung der Durchblutungssituation nach Auftreten klinischer Symptome.

In einer normalen Schwangerschaft von Menschen und Schafen konnte eine erhöhte Produktion von NO und PGI₂ nachgewiesen werden. Infusionen von Ang II führten zu einer verbesserten uteroplazentaren Durchblutung [146]. Ang II wurde deshalb mit einem Anstieg des plazentaren Blutflusses assoziiert. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt durch den COX-Inhibitor Indomethacin aufgehoben wurde, also durch PGI₂ vermittelt wird [147]. Eine solche Reaktion tritt nur im Rahmen einer Schwangerschaft auf, da eine PGI₂-Produktion in uterinen Gefäßen

nicht im nicht schwangeren Zustand zu finden [148] und einzigartig für die uterinen Arterien ist. Denn Ang II erhöht nicht die Produktion von PGI_2 in omentalen Arterien, weder bei schwangeren, noch bei nicht schwangeren Schafen [149]. Die vasokonstriktorischen Effekte bei hohen Ang II-Spiegeln könnten wiederum durch eine vermehrte NO- und PGI_2 -Produktion vermindert sein. Ang II hat also einen steigernden Effekt auf die endotheliale Produktion von Vasodilatoren im uterinen Gefäßbett und könnte dadurch den uterinen Blutfluss verbessern. Dennoch verursacht ein erhöhter Ang II-Spiegel an den übrigen mütterlichen Gefäßen primär eine Vasokonstriktion. In einer Präeklampsie ist die Ansprechbarkeit der Gefäße auf Ang II signifikant erhöht [150]. Die schwangerschaftsinduzierte Produktion von PGI_2 [149] und die reduzierte Ansprechbarkeit auf Ang II ist gestört. Hinzukommend ist die Expression des AT1-R in präeklampsischen Frauen erhöht [151]. Die verbesserte uteroplazentare Durchblutung im vorliegenden Tiermodell könnte also durch die beschriebenen Effekte des hohen Ang II-Spiegels zustande kommen, wobei dies allerdings im mütterlichen Kreislauf leider zu den diskutierten nachteiligen Effekten führt.

Das vorliegende Tiermodell ist geprägt durch die Wirkung einer vermehrten Angiotensin II-Produktion während einer Schwangerschaft. Alle bisherigen Tiermodelle konnten ein humanes Erkrankungsbild nur teilweise imitieren. In dieser Arbeit konnte die Nützlichkeit des vorliegenden Tiermodells gezeigt werden. Die präeklampsietypische endotheliale Dysfunktion und intrauterine Wachstumsretardierung konnte in Verbindung mit einer erhöhten Angiotensinwirkung und einem gestörten Prostanoidstoffwechsel gebracht werden. Das Tiermodell bietet Ansatzpunkte zur weiteren Erforschung der pathophysiologischen Zusammenhänge des humanen Erkrankungsbildes, obwohl nicht alle Aspekte der humanen Situation nachvollzogen werden können. Zum Beispiel könnte zukünftig weiter untersucht werden, wie das uteroplazentare RAS die Plazentation, Trophoblasteninvasion und vaskuläres Remodeling, vergleichend in einer normalen Schwangerschaft und einer Präeklampsie, beeinflusst.

6. Zusammenfassung

Die Präeklampsie stellt eine der weltweit führenden Ursachen mütterlicher und fetaler Morbidität und Mortalität dar, wobei sie ca. 5 % aller Schwangerschaften der westlichen Welt betrifft und die Komplikationen an führender Stelle mütterlicher Todesursachen stehen. Sie ist eine Multiorganerkrankung und in Krankheitsbild und -verlauf sehr variabel. Neben dem Bluthochdruck stehen pathologische Veränderungen an den Nieren, der Leber, dem Gehirn und der Blutgerinnung im Vordergrund. Im Vordergrund der fetalen Beeinträchtigung stehen Frühgeburtlichkeit und eine intrauterine Wachstumsretardierung.

Ein Tiermodell für die Präeklampsie zu konstruieren hat, sich in der Vergangenheit als schwierig erwiesen. Nach Vorarbeiten von Takimoto et al. an Mäusen, konnte durch Bohlender et al. ein Tiermodell an Ratten zu einem „genetisch induzierten Schwangerschaftshypertonus“ entwickelt werden. Weibliche Ratten, transgen für das humane Angiotensinogen-Gen, entwickeln nach der Verpaarung mit männlichen Ratten, transgen für das humane Renin-Gen, im Laufe des letzten Schwangerschaftsdrittels Symptome, wie sie typisch für eine Präeklampsie sind. Plazentar produziertes humanes Renin interagiert dabei mit mütterlichem humanen Angiotensinogen, was zu einer exzessiven Erhöhung von Angiotensin II-Spiegeln führt.

Im Rahmen der Evaluation dieses Tiermodells wurde die Funktion der uterinen Gefäße in Hinblick auf eine Endotheldysfunktion untersucht. Dazu wurden isometrische Kontraktionsmessungen bezüglich des Ansprechens auf vasonkonstriktive Stimuli, das Relaxationsverhalten und verschiedene Interventionsmöglichkeiten durchgeführt. Des Weiteren wurden die Serumspiegel von Thromboxan und Prostazyklin bestimmt und deren Relation berechnet.

Folgende Ergebnisse konnten erzielt werden:

1. Die Gefäße der präeklampsischen Kreuzung zeigten ein signifikant stärkeres Ansprechen auf α -adrenerge Stimuli.
2. Des Weiteren war eine gestörte ACh-vermittelte Vasorelaxation messbar.
3. Mehr noch zeigte sich ein partieller kontraktiler Antagonismus des AChs, wie er in Tiermodellen zu Bluthochdruck, Adipositas und Diabetes mellitus beschrieben werden konnte.
4. Durch Inkubation mit L-NAME konnte nachgewiesen werden, dass dieser Effekt durch das Endothel vermittelt wird.
5. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine gestörte Balance von Prostanoiden dafür verantwortlich ist, da die Relaxation durch Inkubation mit

Indomethacin zur Inhibierung der COX und SQ 29,548 zur Blockierung des Thromboxanrezeptors verbessert werden konnte.

6. Eine Beteiligung durch Arachidonsäuremetabolite an der Endotheldysfunktion konnte auch in einer erniedrigten $\text{PGF1}\alpha/\text{TxB2}$ -Ratio gezeigt werden.

Alle hier gewonnenen Ergebnisse decken sich mit Beobachtungen, die im Rahmen einer Endotheldysfunktion bei präeklampsieerkrankten Patientinnen gemacht werden können.

Zur Evaluierung einer möglichen intrauterinen Wachstumsretardierung im vorliegenden Tiermodell wurden Ultraschalluntersuchungen der Feten durchgeführt, um deren Wachstum zu dokumentieren und um pathologische Veränderungen am präeklampsischen Phänotyp nachzuweisen. Ergänzend wurden Gewichtsbestimmungen der postpartalen Feten und derer Organe durchgeführt. Durch dopplersonographische Messungen an uteroplazentaren Gefäßgebieten wurde nach pathologischen Durchblutungsmustern geforscht.

1. Die Ergebnisse der biometrischen Untersuchung ergaben eine fetale Wachstumsretardierung mit verminderten Abdomen- und Kopfumfängen, erniedrigtem Geburtsgewicht und erhöhter Gehirn/Leber-Ratio. Diese Erkenntnisse decken sich ebenfalls mit denen der humanen Pathologie.
2. Die Dopplerschalluntersuchungen in diesem Tiermodell ließen erhöhte Gefäßwiderstände als Zeichen einer verminderten uteroplazentaren Blutversorgung vermuten. Jedoch zeigte sich, dass sich die Durchblutungssituation nach Auftreten der klinischen Symptome eher zu verbessern schien, was wiederum durch eine verstärkte Ang II-Wirkung begründet werden kann.

Das vorliegende Tiermodell ist geprägt durch die Wirkung einer vermehrten Angiotensin II-Produktion während einer Schwangerschaft. Alle bisherigen Tiermodelle konnten ein humanes Erkrankungsbild nur teilweise imitieren. In dieser Arbeit konnte die Nützlichkeit des vorliegenden Tiermodells gezeigt werden. Die präeklampsietypische endotheliale Dysfunktion und intrauterine Wachstumsretardierung konnte in Verbindung mit einer erhöhten Angiotensinwirkung und einem gestörten Prostanoidstoffwechsel gebracht werden. Das Tiermodell bietet Ansatzpunkte zur weiteren Erforschung der pathophysiologischen Zusammenhänge des humanen Erkrankungsbildes, obwohl nicht alle Aspekte der humanen Situation nachvollzogen werden können. Zum Beispiel könnte folgend weiter untersucht werden, wie das uteroplazentare RAS die Plazentation, Trophoblasteninvasion und vaskuläres Remodeling, vergleichend in einer normalen Schwangerschaft und einer Präeklampsie, beeinflusst.

7. Literaturverzeichnis

1. Roberts, J., *Endothelial dysfunction in preeclampsia*. Sem Reproduct Endocrinol, 1998. **16**(1): p. 5-15.
2. Dürig, P., *Schwere Komplikationen der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen. Eklampsie, HELLP-Syndrom, akute Fettleber*. Gynäkologie, 1997. **30**: p. 702-711.
3. Roberts, J., et al., *Preeclampsia: an endothelial cell disorder*. Am J Obstet Gynecol, 1989. **161**: p. 1200.
4. *Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**(2): p. 522-523.
5. Zhang, J., M. Klebanoff, and J. Roberts, *Prediction of adverse outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy*. Obstet Gynecol, 2001. **97**(7): p. 261-267.
6. Sibai, B., G. Dekker, and M. Kupferminc, *Pre-eclampsia*. Lancet, 2005. **365**(9461): p. 785-99.
7. Widmer, M., et al., *Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review*. Obstet Gynecol, 2007. **109**(1): p. 168-80.
8. Campbell, D., I. Macgillivray, and R. Carr-Hill, *Pre-eclampsia in second pregnancy*. Br J Obstet Gynaecol, 1985. **92**: p. 131-40.
9. Welsch, H. and H. Krone, *Mütterliche Mortalität bei HELLP-Syndrom in Bayern 1983-1992*. Zentralbl Gynäkol, 1994. **116**: p. 202-206.
10. Vigil-De Garcia, P., *Maternal mortality in Panama City, 1992-1996*. Int J Gynecol Obstet, 1998. **61**: p. 202-206.
11. Davison, J.M., et al., *New aspects in the pathophysiology of preeclampsia*. J Am Soc Nephrol, 2004. **15**(9): p. 2440-8.
12. AWMF, *Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Schwangerschaftshochdruck/Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. (DGGG)*. www.awmf.de, 2007.
13. Lam, C., K.H. Lim, and S.A. Karumanchi, *Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia*. Hypertension, 2005. **46**(5): p. 1077-85.
14. Schneider, H., P. Husslein, and K.-T.M. Schneider, *Die Geburtshilfe*. 3. Auflage ed. 2006: Springer.
15. Kaufmann, P., S. Black, and B. Huppertz, *Endovascular Trophoblast Invasion: Implications for the Pathogenesis of Intrauterine Growth Retardation and Preeclampsia*. Biol Reprod, 2003. **69**: p. 1-7.
16. Granger, J.P., et al., *Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction*. Microcirculation, 2002. **9**(3): p. 147-60.
17. Robertson, W., I. Brosens, and H. Dixon, *The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy*. J Pathol Bacteriol, 1967. **93**(2): p. 851-892.
18. Zhou, Y., et al., *Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion?* J Clin Invest, 1997. **99**(9): p. 2139-2151.
19. Reister, F., et al., *Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women*. Lab Invest, 2001. **81**: p. 1143-1152.
20. Naicker, T., et al., *Quantitative analysis of trophoblast invasion in preeclampsia*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2003. **82**(8): p. 722-729.
21. Brosens, I.A., W. Roberston, and H. Dixon, *The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia*. Obstet Gynecol Ann, 1972. **1**: p. 177-191.
22. Goldenberg, R. and S. Cliver, *Small for gestational age and intrauterine growth restriction: definitions and standards*. Clin Obstet Gynaecol, 1997. **40**: p. 704-714.

23. Wollmann, H., *Intrauterine Wachstumsretardierung*. Monatszeitschrift Kinderheilkunde, 1998. **146**: p. 714-726.
24. Clark, S., *Patterns of intrauterine growth retardation: case examples*. Clin Obstet Gynecol, 1992. **35**: p. 194-201.
25. Merz, E., *Sonographische Diagnostik in Gynäkologie und Geburtshilfe: Lehrbuch und Atlas, Bd 2 Geburtshilfe*. 2 ed. 2002, Stuttgart, New York: Thieme.
26. Trudinger, B., W. Giles, and C. Cook, *Flow velocity waveforms in the maternal uteroplacental and fetal umbilical placental circulations*. Am J Obstet Gynaecol, 1985. **152**: p. 15.
27. Schaffer, H., et al., *Aussagewert qualitativer Doppler-Untersuchungen in der Schwangerschaft*. Ultraschall Klin Prax, 1989. **4**: p. 8-15.
28. Heyna, C., *Verlauf und Prognose von Schwangerschaften mit pränatal diagnostiziertem pathologischen Doppler in der Arteria umbilicalis*. Diss. 2004, Berlin: Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin.
29. Giles, W., B. Trudinger, and C. Cook, *Fetal umbilical artery velocity waveforms*. Ultrasound Med, 1982. **1**: p. 98.
30. Steiner, H. and K. Schneider, *Dopplersonographie in Geburtshilfe und Gynäkologie: Leitfaden für die Praxis*. Berlin, Heidelberg, New York. 2000: Springer Verlag.
31. Pirani, B. and I. Macgillivray, *The effect of plasma transfusion in the blood pressure in pregnancy*. Am J Obstet Gynaecol, 1975. **121**: p. 211-226.
32. Ashworth, J.R., et al., *Loss of endothelium-dependent relaxation in myometrial resistance arteries in pre-eclampsia*. Br J Obstet Gynaecol, 1997. **104**(10): p. 1152-8.
33. Leung, D., et al., *Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen*. Science, 1989. **246**: p. 1306-1309.
34. Wang, A., S. Rana, and S.A. Karumanchi, *Preeclampsia: The Role of Angiogenic Factors in Its Pathogenesis*. Physiology, 2009. **24**: p. 147-158.
35. Kendall, R. and K. Thomas, *Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor*. Proc Natl Acad Sci USA, 1993. **90**: p. 10705–10709.
36. Mutter, W.P. and S.A. Karumanchi, *Molecular Mechanisms of Preeclampsia*. Microvasc Res, 2008. **75**(1): p. 1-8.
37. Zhou, Y., et al., *Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome*. Am J Pathol, 2002. **160**: p. 1405–1423.
38. Maynard, S.E., et al., *Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia*. J Clin Invest, 2003. **111**(5): p. 649-58.
39. Levine, R., et al., *Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia*. N Engl J Med, 2004. **350**(7): p. 672-683.
40. Grishko, V., et al., *Apoptotic cascade initiated by angiotensin II in neonatal cardiomyocytes: role of DNA damage*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003. **285**(6): p. H2364–H2372.
41. Hagemann, A., A. Nielsen, and K. Poulsen, *The uteroplacental renin-angiotensin system: a review*. Exp Clin Endocrinol, 1994. **102**(3): p. 252–261.
42. Poisner, A., *The human placental renin-angiotensin system*. Front Neuroendocrinol, 1998. **19**(3): p. 232–252.
43. Hsueh, W., et al., *Changes in active and inactive renin throughout pregnancy*. J Clin Endocrinol Metab, 1982. **54**(5): p. 1010-1016.
44. Brown, M., et al., *Sodium excretion in normal and hypertensive pregnancy: a prospective study*. Am J Obstet Gynecol, 1988. **159**(2): p. 297-307.

45. AbdAlla, S., et al., *Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness*. Nat Med, 2001. **7**(9): p. 1003-1009.
46. Merrill, D., et al., *Angiotensin-(1-7) in normal and preeclamptic pregnancy*. Endocrine, 2002. **18**(3): p. 239-245.
47. Gant, N., et al., *Control of vascular responsiveness during human pregnancy*. Kidney Int, 1980. **18**(2): p. 253-258.
48. AbdAlla, S., et al., *Mesangial AT1/B2 receptor heterodimers contribute to angiotensin II hyperresponsiveness in experimental hypertension*. J Mol Neurosci, 2005. **26**(2-3): p. 185-192.
49. Wallukat, G., et al., *Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor*. J Clin Invest, 1999. **103**: p. 945-952.
50. Dechend, R., et al., *Agonistic autoantibodies to the AT1 receptor in a transgenic rat model of preeclampsia*. Hypertension, 2005. **45**(4): p. 742-6.
51. Homuth, V., et al., *Charakterisierung von agonistisch wirksamen Autoantikörpern gegen den Angiotensin AT1-Rezeptor bei Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom*. Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe, 2000. **18**(3): p. 6-14.
52. Karumanchi, S.A. and F.H. Epstein, *Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia?* Kidney Int, 2007. **71**(10): p. 959-961.
53. Zhou, C., et al., *Autoantibody From Women With Preeclampsia Induces Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 Production via Angiotensin Type 1 Receptor and Calcineurin/Nuclear Factor of Activated T-Cells Signaling*. Hypertension, 2008.
54. Burton, G., J. Hempstock, and E. Jauniaux, *Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies*. Reprod Biomed Online, 2003. **6**(1): p. 84-96.
55. van Tuyl, M., et al., *Role of oxygen and vascular development in epithelial branching morphogenesis of the developing mouse lung*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005. **288**(1): p. L167-L178.
56. Hubel, C., *Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia*. Proc Soc Exp Biol Med, 1999. **222**(3): p. 222-235.
57. Dechend, R., et al., *AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate NADPH oxidase*. Circulation, 2003. **107**(12): p. 1632-9.
58. Khan, F., et al., *Changes in endothelial function precede the clinical disease in women in whom preeclampsia develops*. Hypertension, 2005. **46**: p. 1123-1128.
59. Schobel, H., et al., *Preeclampsia - a state of sympathetic overactivity*. N Engl J Med, 1996: p. 335: 1480.
60. Ralevic, V. and G. Burnstock, *Interactions between perivascular nerves and endothelial cells in control of local vascular tone*. In: *Nervous control of blood vessels*. Harwood Academic publishers, 1996. **135**.
61. Baylis, C., et al., *Recent insights into the roles of nitric oxide and renin-angiotensin in the pathophysiology of preeclamptic pregnancy*. Semin-Nephrol, 1998. **18**(2): p. 208-230.
62. Sladek, S., R. Magness, and K. Conrad, *Nitric oxide and pregnancy*. Am J Physiol, 1997. **272 (Regulatory Integrative Comp Physiol 41)**: p. R441.
63. Molnar, M., et al., *Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia and intrauterine growth retardation*. Am J Obstet Gynecol, 1994. **170**: p. 1458.
64. Yallampalli, C. and R. Garfield, *Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 1993. **169**: p. 1316.
65. Barton, M. and M. Yanagisawa, *Endothelin: 20 years from discovery to therapy*. Can J Physiol Pharmacol, 2008. **86**(8): p. 485-498.

66. Kamoi, K., et al., *Plasma endothelin-1 levels in patients with pregnancy-induced hypertension*. N Engl J Med, 1990. **323**: p. 1486.
67. Rath, W. and J. Schrader, *Endothelin – mögliche Bedeutung für Schwangerschaft und Schwangerschaftshypertonie*. Zentralblatt Gynäkologie, 1993. **115**: p. 388.
68. Verlohren, S., et al., *Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries*. Hypertension, 2004. **44**(3): p. 271-6.
69. Fitzgerald, D., et al., *Decreased prostacyclin biosynthesis preceding the clinical manifestation of pregnancy-induced hypertension*. Circulation, 1987. **75**: p. 956.
70. Fitzgerald, D., et al., *Thromboxane A2 synthesis in pregnancy-induced hypertension*. Lancet, 1990. **335**: p. 751.
71. Simmons, D. and e. al., *Cyclooxygenase Isoenzymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition*. Pharmacol Rev, 2004. **56**: p. 387-437.
72. Mills, J., et al., *Prostacyclin and thromboxane changes predating clinical onset of preeclampsia: a multicenter prospective study*. JAMA, 1999. **282**: p. 356–362.
73. Ogden, E., G. Hildebrand, and E. Page, *Rise in blood pressure during ischemia of the gravid uterus*. Proc Soc Exp Biol Med, 1940. **43**: p. 49–51.
74. Woods, L. and V. Brooks, *Role of the renin-angiotensin system in hypertension during reduced uteroplacental perfusion pressure*. Am J Physiol, 1989. **257**: p. R204-R209.
75. Woods, L., *Importance of prostaglandins in hypertension during reduced uteroplacental perfusion pressure*. Am J Physiol, 1989. **257**: p. R1558-R1561.
76. Podjarny, E., G. Losonczy, and C. Baylis, *Animal models of preeclampsia*. Semin Nephrol, 2004. **24**(6): p. 596-606.
77. Crews, J.K., et al., *Decreased endothelium-dependent vascular relaxation during reduction of uterine perfusion pressure in pregnant rat*. Hypertension, 2000. **35**(1 Pt 2): p. 367-72.
78. Payne, J.A., B.T. Alexander, and R.A. Khalil, *Reduced endothelial vascular relaxation in growth-restricted offspring of pregnant rats with reduced uterine perfusion*. Hypertension, 2003. **42**(4): p. 768-74.
79. Walsh, S.K., et al., *Plasma-Mediated Vascular Dysfunction in the Reduced Uterine Perfusion Pressure Model of Preeclampsia: A Microvascular Characterization*. Hypertension, 2009. **54**(345-351).
80. Gilbert, J.S., S.A. Babcock, and J.P. Granger, *Hypertension Produced by Reduced Uterine Perfusion in Pregnant Rats Is Associated With Increased Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 Expression*. Hypertension, 2007. **50**: p. 1142-1147.
81. Dechend, R., et al., *Agonistic autoantibodies to the AT1 receptor in rat models of preeclampsia: induced by chronic reduction in uterine perfusion pressure (RUPP) and low dose TNF- α infusion*. Hypert Preg, 2006. **25**: p. 70.
82. Kingdom, J. and P. Kaufmann, *Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia*. Placenta, 1997. **18**: p. 613-626.
83. Bdolah, Y., V. Sukhatme, and S. Karumanchi, *Angiogenic imbalance in the pathophysiology of preeclampsia: newer insights*. Semin Nephrol, 2004. **24**(6): p. 548-556.
84. Karumanchi, S. and I. Stillman, *In vivo rat model of preeclampsia*. Methods Mol Med, 2006. **122**: p. 393-399.
85. Venkatesha, S., et al., *Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia*. Nat Med, 2006. **12**(7): p. 862.
86. Li, Z., et al., *Recombinant Vascular Endothelial Growth Factor 121 Attenuates Hypertension and Improves Kidney Damage in a Rat Model of Preeclampsia*. Hypertension, 2007. **50**(4): p. 686-692.

87. Davis, J.R., et al., *Reduced endothelial NO-cGMP vascular relaxation pathway during TNF-alpha-induced hypertension in pregnant rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002. **282**(2): p. R390-9.
88. Orshal, J.M. and R.A. Khalil, *Reduced Endothelial NO-cGMP-Mediated Vascular Relaxation and Hypertension in IL-6 –Infused Pregnant Rats*. Hypertension, 2004. **43**(2): p. 434-444.
89. Georgiades, P., A. Ferguson-Smith, and G. Burton, *Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae*. Placenta, 2002. **23**(1): p. 3-19.
90. Takimoto, E., et al., *Hypertension induced in pregnant mice by placental renin and maternal angiotensinogen*. Science, 1996. **274**: p. 995-998.
91. Bohlender, J., D. Ganten, and F.C. Luft, *Rats transgenic for human renin and human angiotensinogen as a model for gestational hypertension*. J Am Soc Nephrol, 2000. **11**(11): p. 2056-61.
92. Mulvany, M.J. and W. Halpern, *Mechanical properties of vascular smooth muscle cells in situ*. Nature, 1976. **260**(5552): p. 617-9.
93. Angus, J.A. and C.E. Wright, *Techniques to study the pharmacodynamics of isolated large and small blood vessels*. J Pharmacol Toxicol Methods, 2000. **44**(2): p. 395-407.
94. Aalkjaer, C. and M.J. Mulvany, *Human and rat resistance vessels: a comparison of their morphological and pharmacological characteristics*. Gen Pharmacol, 1983. **14**(1): p. 85-7.
95. Gollasch, M., et al., *Pinacidil relaxes porcine and human coronary arteries by activating ATP-dependent potassium channels in smooth muscle cells*. J Pharmacol Exp Ther, 1995. **275**: p. 681-92.
96. Dudenhausen, J.W., H.P.G. Schneider, and G. Bastert, *Frauenheilkunde und Geburtshilfe*. Vol. 2. Auflage. 2003, Berlin: de Gruyter Lehrbuch.
97. Khalil, R.A., et al., *Enhanced vascular reactivity during inhibition of nitric oxide synthesis in pregnant rats*. Hypertension, 1998. **31**: p. 1065-1069.
98. Khalil, R.A. and J.P. Granger, *Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002. **283**(1): p. R29-45.
99. Pascoal, I.F., et al., *Preeclampsia selectively impairs endothelium-dependent relaxation and leads to oscillatory activity in small omental arteries*. J Clin Invest, 1998. **101**(2): p. 464-70.
100. Conrad, K., L. Kerchner, and M. Mosher, *Plasma and 24-h NO(x) and cGMP during normal pregnancy and preeclampsia in women on a reduced NO(x) diet*. Am J Physiol, 1999. **277**: p. F48-F57.
101. Ni, Y., M. Meyer, and G. Osol, *Gestation increases nitric oxide-mediated vasodilation in rat uterine arteries*. Am J Obstet Gynecol, 1997. **176**(4): p. 856-64.
102. Haller, H., et al., *Endothelial cell permeability and protein kinase C in preeclampsia*. Lancet, 1998. **351**: p. 945-949.
103. Virdis, A., et al., *Cyclooxygenase-1 is involved in endothelial dysfunction of mesenteric small arteries from angiotensin II-infused mice*. Hypertension, 2007. **49**(3): p. 679-86.
104. Traupe, T., et al., *Obesity increases prostanoid-mediated vasoconstriction and vascular thromboxane receptor gene expression*. J Hypertens, 2002. **20**(11): p. 2239-45.
105. Zhou, Y., et al., *Acetylcholine causes endothelium-dependent contraction of mouse arteries*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. **289**(3): p. H1027-32.
106. Quilley, J. and J.C. McGiff, *Is EDHF an epoxyeicosatrienoic acid?* Trends Pharmacol Sci, 2000. **21**: p. 121-124.
107. Campbell, G., P. Pratt, and H. DR, *Identification of Epoxyeicosatrienoic Acids as Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factors*. Circ Res, 1996. **78**: p. 415-423.

108. Gerber, R., M. Anwar, and L. Poston, *Enhanced acetylcholine induced relaxation in small mesenteric arteries from pregnant rats: a important role of endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)*. Br J Pharmacol, 1998. **125**: p. 455-460.
109. Fulep, E., et al., *The role of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the regulation of the uterine circulation in pregnant rats*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**: p. 638-642.
110. Brown, C., et al., *Low-dose aspirin. II. Relationship of angiotensin II pressor responses, circulating eicosanoids and pregnancy outcome*. Am J Obstet Gynecol, 1990. **163**: p. 1853-1861.
111. Zlatnik, M.G., et al., *The effect of indomethacin and prostacyclin agonists on blood pressure in a rat model of preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 1999. **180**(5): p. 1191-5.
112. Qi, Z., et al., *Opposite effects of cyclooxygenase-1 and -2 activity on the pressor response to angiotensin II*. J Clin Invest, 2002. **110**: p. 61-69.
113. Francois, H., et al., *Role for thromboxane receptors in angiotensin-II-induced hypertension*. Hypertension, 2004. **43**(2): p. 364-9.
114. Davidge, S.T., *Prostaglandin H synthase and vascular function*. Circ Res, 2001. **89**(8): p. 650-60.
115. Granger, J.P., et al., *Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension*. Am J Hypertens, 2001. **14**(6 Pt 2): p. 178S-185S.
116. Goeschen, K., E. Henkel, and O. Behrens, *Plasma prostacyclin and thromboxane concentrations in 160 normotensive, hypotensive, and preeclamptic patients during pregnancy, delivery, and the post partum period*. J Perinat Med, 1994. **22**: p. 481-489.
117. Chavarria, M.E., et al., *Prostacyclin/thromboxane early changes in pregnancies that are complicated by preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2003. **188**(4): p. 986-92.
118. Mu, J., et al., *In vivo quantification of embryonic and placental growth during gestation in mice using micro-ultrasound*. Reprod Biol Endocrinol, 2008. **6**: p. 34.
119. Grisolia, G., et al., *Biometry of early pregnancy with transvaginal sonography*. Ultrasound Obstet Gynecol, 1993. **3**: p. 403-411.
120. Johnsen, S., et al., *Longitudinal reference charts for growth of the fetal head, abdomen and femur*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2006. **127**: p. 172-185.
121. Foster, F., et al., *A new ultrasound instrument for in vivo microimaging of mice*. Ultrasound Med Biol, 2002. **28**: p. 1165-1172.
122. Ypsilantis, P., et al., *Ultrasonic Diagnosis of Pregnancy in Rats*. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009. **48**(6): p. 734-739.
123. Kobayashi, K., R. Lemke, and J. Greer, *Ultrasound measurements of fetal breathing movements in the rat*. J Appl Physiol, 2001. **91**: p. 316-320.
124. Wigglesworth, J., Perinatal pathology., 1996. **2nd ed. Philadelphia**(Saunders): p. 7-12.
125. Mitchell, M.L., *Fetal Brain to Liver Weight Ratio as a Measure of uterine Growth Retardation: Analysis of 182 Stillborn Autopsies*. Mod Pathol, 2004. **14**(1): p. 14-19.
126. Irani, R., et al., *The detrimental role of angiotensin receptor agonistic autoantibodies in intrauterine growth restriction seen in preeclampsia*. J Exp Med, 2009. **206**(12): p. 2809-2822.
127. Mu, J. and S.L. Adamson, *Developmental changes in hemodynamics of uterine artery, utero- and umbilicoplacental, and vitelline circulations in mouse throughout gestation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**: p. H1421-H1428.
128. Viero, S., et al., *Prognostic value of placental ultrasound in pregnancies complicated by absent end-diastolic flow velocity in the umbilical arteries*. Placenta, 2004. **25**: p. 735-741.
129. Verlohren, S., et al., *Uterine vascular function in a transgenic preeclampsia rat model*. Hypertension, 2008. **51**(2): p. 547-53.

130. Geusens, N., et al., *Endovascular trophoblast invasion, spiral artery remodelling and uteroplacental haemodynamics in a transgenic rat model of pre-eclampsia*. *Placenta*, 2008. **29**(7): p. 614-623.
131. Breddt, D. and S. Snyder, *Nitric oxide: a physiologic messenger molecule*. *Ann Rev Biochem*, 1994. **63**: p. 175.
132. Ignarro, L., *Physiology and pathophysiology of nitric oxide*. *Kidney Int*, 1996. **49**: p. 2.
133. Moncada, S. and A. Higgs, *The L-arginine-nitric oxide pathway*. *N Engl J Med*, 1993. **329**: p. 2002.
134. Vane, J., E. Ängaard, and B. RM, *Regulatory functions of the vascular endothelium*. *N Engl J Med*, 1990. **323**: p. 27.
135. Smith, G., J. Pell, and D. Walsh, *Pregnancy complications and maternal risk of ischaemic heart disease: A retrospective cohort study of 129,290 births*. *Lancet*, 2001. **357**: p. 2002-2006.
136. Bar, J., et al., *Microalbuminuria afte pregnancy complicates by preeclampsia*. *Nephrol Dial Transplant*, 1999. **14**: p. 1129-1132.
137. Walsh, S., *Preeclampsia: an imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production*. *Am J Obstet Gnecol*, 1985. **152**: p. 335-340.
138. Wang, Y. and S. Walsh, *Preeclampsia: Aspirin inhibits both lipid peroxides and thromboxane in preeclamotic placentas*. *Free Radical Biol Med*, 1995. **18**: p. 585-591.
139. Sibai, B.M., et al., *Prevention of preeclampsia with low-dose aspirin in healthy, nulliparous pregnant women. The National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units*. *N Engl J Med*, 1993. **329**(17): p. 1213-8.
140. Huppertz, B., *Placental Origins of Preeclampsia: Challenging the Current Hypotheses*. *Hypertension*, 2008. **51**: p. 970-975.
141. Kadyrov, M., et al., *Preeclampsia and maternal anemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast*. *Placenta*, 2003. **24**(5): p. 540-548.
142. Brosens, I., H. Dixon, and W. Robertson, *Fetal growth retardation and the arteries of the placental bed*. *Br J Obstet Gynaecol*, 1977. **84**: p. 656-663.
143. Trudinger, B., W. Giles, and C. Cook, *Uteroplacental blood flow velocity-time waveforms in normal and complicated pregnancy*. *Br J Obstet Gynecol*, 1985. **92**(39-45).
144. Fleischer, A., et al., *Uterine artery Doppler velocimetry in pregnant women with hypertension*. *Am J Obstet Gynecol*, 1986. **154**: p. 806-813.
145. Bewley, S., D. Cooper, and S. Campbell, *Doppler investigation of uteroplacental blood flow resistance in the second trimester: a screening study for preeclampsia and intrauterine growth retardation*. *Br J Obstet Gynecol*, 1991. **98**: p. 871-879.
146. McLaughlin, M., S. Brennan, and R. Chez, *Effects of indomethacin on sheep uteroplacental circulations and sensitivity to angiotensin II*. *Am J Obstet Gynecol*, 1978. **132**: p. 430-435.
147. Everett, R., et al., *Effect of prostaglandin synthetase inhibitors on pressor response to angiotensin II in human pregnancy*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1978. **46**: p. 1007-1010.
148. Magness, R. and C. Rosenfeld, *Systemic and uterine responses to alpha-adrenergic stimulation in pregnant and nonpregnant ewes*. *Am J Obstet Gynecol*, 1986. **155**: p. 897-904.
149. Magness, R., et al., *Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. I. Effects of ANG II on PGI2 and NO in pregnancy*. *Am J Physiol*, 1996. **270**: p. H1914-1923.
150. Gant, N., et al., *A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy*. *J Clin Invest*, 1973. **52**: p. 2682-2689.

151. Herse, F., et al., *Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia*. Hypertension, 2007. **49**(3): p. 604-11.

8. Abkürzungs- und Abbildungsverzeichnis

A	Arterie (<i>lat.</i> Arteria), Mehrzahl Aa.
AA	Autoantikörper
ACE	Angiotensin Converting Enzyme (<i>engl.</i>)
ACh	Acetylcholin
ADRF	Adventitium-Derived Relaxing Factor (<i>engl.</i>)
α	alpha
Ang I/II	Angiotensin I/II
AT1-R	Angiotensinrezeptor 1
AT1-AA	Angiotensinautoantikörper gegen den Angiotensinrezeptor 1
ARED	Absent or Reversed End-Diastolic-Flow (<i>engl.</i>)
Ca	Kalzium
cGMP	zyklisches Guanosidmonophosphat
COX	Cyclooxygenase
d	Tag
E	Embryonaltag
EDF	EndDiastolic Flow (<i>engl.</i>)
EDHF	Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor (<i>engl.</i>)
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor (<i>engl.</i>)
ET1	Endothelin
g	Gramm
cGTP	zyklisches Guanosidtriphosphat
h	Stunde
HELLP	Haemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet (<i>engl.</i>)
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
IUGR	intrauterine Wachstumsretardierung (Intrauterine Growth Restriction)
k	Kilo
K	Kalium
KCl	Kaliumchlorid
l	Liter
L-NAME	L-Nitro-Arginine Methyl Ester
μ	Mikro

m	Milli
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
M	Molar
M	Mega
n	Nano
N	Newton
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	NO-Synthase
p.c.	post conceptionem (<i>lat.</i>)
PGI ₂	Prostazyklin
PGF1 α	6-Keto-Prostaglandin F1-alpha, Prostazyklinabbauprodukt
Phe	Phenylephrin
PIGF	Placental Growth Factor (<i>engl.</i>)
PE	Präeklampsie
PM	Preeclamptic Mate, präeklampptische Kreuzung
PSV	peak systolic flow (<i>engl.</i>)
PSS	Physiologic Salt Solution (<i>engl.</i>)
RAS	Renin-Angiotensin -System
RI	Resistance Index (<i>engl.</i>)
ROS	radical oxygen species (<i>engl.</i>)
RUPP	reduced uterine perfusion pressure (<i>engl.</i>)
SD-P	pregnant Sprague Dawleys, schwangere Kontrollgruppe
SD-NP	non pregnant Spreague Dawleys, nicht schwangere Kontrollgruppe
SEM	Standard Error of the Mean, Standardfehler
sFlt1	soluble fms-like tyrosine kinase (<i>engl.</i>)
SGA	Small for Gestional Age (<i>engl.</i>)
TAT	Thrombin-Antothrombin-III-Komplex
TF	Tissue Factor (<i>engl.</i>)
t-PA	tissue Plasminogen Activator (<i>engl.</i>)
TxA2	Thromboxan
TxB2	Thromboxanabbauprodukt
VEGF	vascular endothelial growth factor (<i>engl.</i>)
VEGF-R1/2	Rezeptor 1/2 des VEGFs

Danksagung

Während meiner Promotion habe ich die freundliche Unterstützung vieler Menschen und Arbeitsgruppen erfahren. Bei allen möchte ich mich gerne bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. W. Henrich danke ich für die Möglichkeit, diese Promotion über seine Klinik durchführen zu können.

Meinen ausdrücklichen Dank möchte ich Herrn Dr. Stefan Verlohren für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, aber auch für seine Betreuung und Geduld aussprechen.

Mein Dank geht auch an Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. M Gollasch und Herrn Dr. med. Ralf Dechend, die meine Arbeit mit Interesse und wertvollen Anregungen begleitet haben und in deren Einrichtungen ich meine praktische Arbeit durchführen konnte. In diesem Zusammenhang möchte ich mich bei allen Mitarbeitern ihrer Arbeitsgruppen bedanken, die mir Hilfe bei kleinen und großen Problemen waren.

Insbesondere soll hier gedankt werden: Lydia Hering und Martin Taube für die angenehme Zusammenarbeit sowie besonders Kerstin Melchior und Thomas Ziska, was hätte ich manchmal ohne Euch gemacht. Vielen lieben Dank!

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurden mit Mitteln der Studentischen Forschungsförderung der Charité unterstützt.

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

11. Publikation

Verlohren, S.*; Niehoff, M.*; Hering, L.*; Geusens, N.; Herse, F.; Tintu, A. N.;
Plagemann, A.; LeNoble, F.; Pijnenborg, R.; Muller, D. N.; Luft, F. C.;
Dudenhausen, J.W.; Gollasch, M.; Dechend, R. „Uterine Vascular function in a
transgenic preeclampsia rat model.“ *Hypertension*, 51(2, Part 2):547-553, February
2008

* gleichberechtigte Erstautorenschaft

Erklärung

Ich, Manuela Niehoff, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Vaskuläre Funktion uteriner Arterien und Wachstumsretardierung der Feten von Ratten mit präeklampsischen Phänotyp“ 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.

Datum

Unterschrift