

1. Einleitung

1.1 Problemstellung

Aborte zählen zu den häufigsten Schwangerschaftskomplikationen

Aborte zählen zu den häufigsten Schwangerschaftskomplikationen. Die Häufigkeit von Aborten wurde von Wilcox et al. in einer Studie mittels eines hCG-Screenings auf bis zu 31,3% geschätzt. In 9,6% der Schwangerschaften traten die Aborte auf, nachdem die Schwangerschaft klinisch erkannt worden war, in 21,7% der Schwangerschaften kam es zum Frühabort ohne klinische Anzeichen einer Schwangerschaft (Wilcox et al. 1988).

Störungen bei der Implantation wirken sich auf die gesamte Dauer der Schwangerschaft aus

Die Schwangerschaft wird klinisch nicht erkannt, wenn die befruchtete Eizelle vor oder in einem frühen Stadium der Implantation zugrunde geht. Der kritische Vorgang der Implantation hat entscheidenden Einfluss auf den Schwangerschaftsausgang und ist mitverantwortlich für die hohe Inzidenz der Aborte. Störungen bei der Implantation liegen nach Norwitz et al. in bis zu 75% der klinisch nicht erkannten Frühaborte vor (Norwitz et al. 2001). Sie wirken sich auf die gesamte Dauer der Schwangerschaft aus und können als Abort in der Frühschwangerschaft oder in Form von anderen Komplikationen in der Spätschwangerschaft auftreten (Burton et al. 2004). Präeklampsie, intrauterine Wachstumsstörungen und Frühgeburten gehören zu den häufigsten Ursachen für die perinatale Mortalität und beeinflussen, sofern das Kind lebensfähig ist, die kindliche Entwicklung nachhaltig (Wadhwa et al. 2001). Es wurde gezeigt, dass Umweltfaktoren im frühen Leben von großer Wichtigkeit für das Krankheitsrisiko in späteren Jahren sind und es zu einer „physiologischen Programmierung“ des Fetus kommt (Seckl 1998). Der Ursprung der o. g. Störungen liegt wie der des Abortes in einer fehlerhaften Implantation mit mangelhafter Ausbildung der utero-plazentaren Gefäße in der Frühschwangerschaft (Loke et al. 1996). Ein besseres Verständnis des Implantationsvorganges und der Mechanismen in der Frühschwangerschaft ist erforderlich, um die Abortrate zu senken und spätere Schäden für das Kind abzuwenden sowie die Morbidität dieser Kinder zu senken.

Die Ursachen des Abortes nach der Implantation sind vielfältig

Nach der Implantation bzw. nach klinischer Erfassung enden etwa 9,6% der Schwangerschaften als Abort (Wilcox et al. 1988). In vielen Fällen bleibt die Ursache ungeklärt. Häufig genannte mögliche Ursachen sind genetische Defekte, Infektionen und anatomische Fehlbildungen (Stray-

Einleitung

Pedersen et al. 1984) sowie Erkrankungen des endokrinen Systems wie Schilddrüsenfunktionsstörungen, Diabetes mellitus und Störungen der lutealen Phase (Roberts et al. 2000). Des Weiteren tragen hormonelle Veränderungen, insbesondere ein Progesteronmangel, zum Abort bei (Joachim et al. 2003). Diskutiert werden auch immunologische Reaktionen, ausgelöst durch das semi-allogene „Fortpflanzungsprodukt zweier histoinkompatibler Individuen“ (Medawar 1953), die zur Erkennung und Abstoßung durch das mütterliche Immunsystem führen. Um die beachtliche Tatsache zu beschreiben, dass die paternalen Antigene für die Dauer der Schwangerschaft vom mütterlichen Immunsystem toleriert werden, wurde der Fetus mit einem Parasiten oder einem erfolgreichen Tumor verglichen (Clark et al. 1999). Durch Wegmann et al. wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Schwangerschaft ein durch Th2-Zytokine geprägtes Phänomen ist und eine pathologische Veränderung des Zytokinprofils über eine inflammatorische Immunreaktion zum Abort führen kann (Wegmann et al. 1993).

Stress spielt eine Rolle in der Ätiologie des Abortes

Ein weiterer Faktor, der möglicherweise über das endokrine oder das Immunsystem Einfluss auf den Schwangerschaftsausgang nimmt, ist psychosozialer Stress (O'Hare et al. 1995). In Tiermodellen mit Mäusen wurde gezeigt, dass Stress in Form von Immobilisation (Wiebold et al. 1986) oder durch Schallwellen (Joachim et al. 2003) zu einer erhöhten Abortrate führt. O'Hare et al. fanden in einer Studie zur Lebensereignisforschung heraus, dass Abortpatientinnen mit signifikant höherer Wahrscheinlichkeit ein schwerwiegendes Lebensereignis in den letzten drei Monaten vor der Fehlgeburt erlebt hatten als Schwangere der Kontrollgruppe (O'Hare et al. 1995). Neugebauer et al. führten in einer anderen Studie zusätzlich eine Chromosomenanalyse des Abortmaterials durch und kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass – bei chromosomal normalen Aborten – negative Lebensereignisse eine Rolle spielen (Neugebauer et al. 1996).

Stress assoziierte Aborte sind möglicherweise zu verhindern

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass Aborte durch die hohe Inzidenz eine relevante Gruppe von Schwangerschaftskomplikationen darstellen. Bei frühzeitiger Erkennung sind (Stress assoziierte) Aborte möglicherweise zu verhindern. Stressmanagement ist ebenfalls von großer Bedeutung hinsichtlich der pränatalen Betreuung, da Stress, der nicht zum Abort führt, die kindliche Entwicklung zeitlebens negativ beeinflussen kann. Daher ist es wichtig, Marker zu identifizieren, die einen signifikanten Einfluss auf den Schwangerschaftsausgang haben und die bei einem konsekutiven Abort bereits früh in der Schwangerschaft verändert sind. Um derartige Marker mit entscheidender regulativer Funktion beim Schwangerschaftserhalt gezielt

nachzuweisen, sollen im Folgenden endokrinologische und immunologische Parameter, die entscheidend zum Schwangerschaftserhalt beitragen, vorgestellt werden.

1.2 Implantation und Frühschwangerschaft

Die Dezidualisation wird durch Progesteron initiiert und durch CRH modifiziert

Etwa sechs bis sieben Tage nach der Konzeption kommt es zur Implantation. Dem initialen Anheften der Blastozyste am Uterusepithel folgt die Invasion des Trophoblasten. Grundlage für die Implantation ist die deziduale Umwandlung des Endometriums, bei der es zur Veränderung von Stromazellen, epithelialen Drüsen, Leukozyten und Arterien kommt. Störungen der Dezidualisation führen zur Menstruation und zum Verlust der Blastozyste. Während dieses Zeitraums, in dem die Implantation stattfindet, ereignen sich bis zu 50% aller Aborte (King 2000). Die Dezidualisation – hauptsächlich durch Progesteron induziert – wird durch CRH, Zytokine und Prostaglandine moduliert und wurde als aseptische inflammatorische Reaktion beschrieben, die die Implantation ermöglicht (Zoumakis et al. 2000). Der Synzytiotrophoblast wandert in die mütterlichen Spiralarterien ein und eröffnet sie zur Bildung des utero-plazentaren Kreislaufes. Die Durchblutung dieses Kreislaufes wird u. a. durch Corticotropin Releasing Hormone (CRH) reguliert. Eine mangelhafte Ausbildung der utero-plazentaren Gefäße führt zu einer Mangelversorgung des Fetus und zu einer Erhöhung von CRH (McLean et al. 1999).

Der semi-allogene Trophoblast bewirkt eine Immunreaktion

Durch die utero-plazentaren Gefäße gelangt der Synzytiotrophoblast in Kontakt mit dem mütterlichen Immunsystem. Der Trophoblast als semi-allogenes Material bewirkt eine Immunreaktion, die in der normalen Schwangerschaft nicht zur Abstoßung, sondern zur Toleranz der paternalen Antigene führt. Es besteht ein empfindliches Gleichgewicht zwischen Trophoblast-Invasion und Abstoßung durch verschiedene Mechanismen, u. a. durch die immunsuppressive Wirkung von Progesteron und durch ein verändertes Zytokinprofil (Thellin et al. 2003).

Mechanismen zum Erhalt der Frühschwangerschaft

Die Abb. 1 zeigt Mechanismen, die zum Erhalt der Frühschwangerschaft notwendig sind (Norwitz et al. 2001).

Einleitung

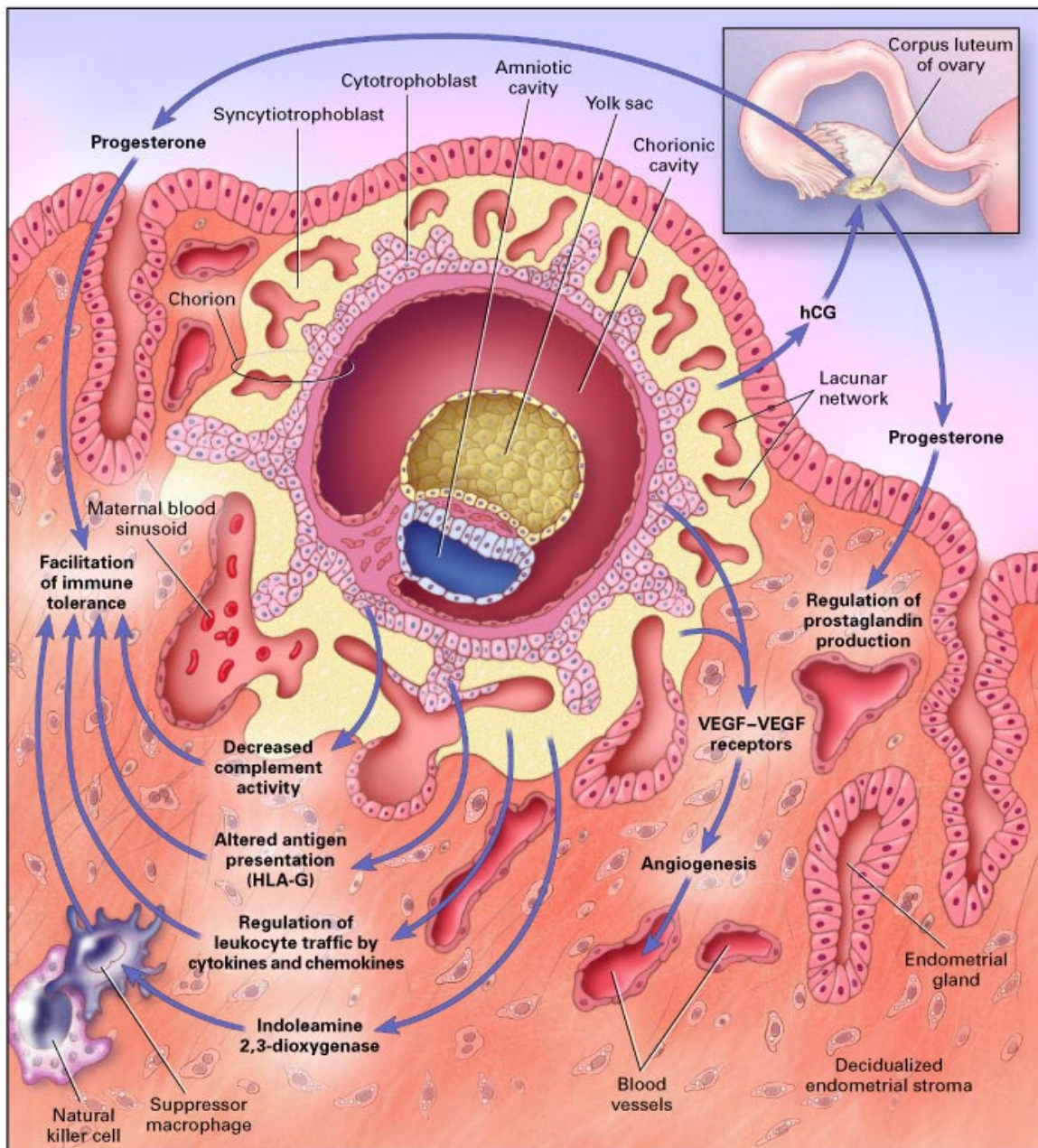


Abb. 1 Mechanismen zum Erhalt der Frühschwangerschaft (Norwitz et al. 2001).

Durch den Synzytiotrophoblasten sezerniertes humanes Choriongonadotropin (hCG) stimuliert die Produktion von Progesteron im Corpus luteum. Progesteron hat eine immunsuppressive Wirkung und reguliert die für die Dezidualisation relevante Prostaglandinproduktion. Schutz vor der Erkennung durch das mütterliche Immunsystem erhält der Zytotrophoblast durch die Expression eines veränderten MHC-Komplexes, des HLA-G. Der Synzytiotrophoblast verändert das Zytokinmilieu und schützt den Trophoblasten vor zytotoxischen Effektorzellen. Durch die Indoleamine-2,3-dioxygenase wird das zur Aktivierung von T-Zellen benötigte Tryptophan katabolisiert. Über blockierende Faktoren des Synzytiotrophoblasten wird das Komplementsystem inhibiert.

Einleitung

Durch den Synzytiotrophoblasten gebildetes humanes Choriongonadotropin (hCG) stimuliert während der ersten sieben bis neun Schwangerschaftswochen die Sekretion von Progesteron aus dem Corpus luteum, bis die Plazenta die Progesteronproduktion übernimmt. Progesteron reguliert die für Dezidualisation und Implantation benötigte Prostaglandinproduktion und schwächt u. a. über eine Blockade der T-Zell-Aktivierung die Immunantwort ab (Norwitz et al. 2001). Die Trophoblastzellen exprimieren keine klassischen Major-Histocompatibility-Complex (MHC) Klasse II Moleküle, sondern u. a. das Human-Leucocyte-Antigene G (HLA-G), das die zytolytische Aktivität von NK-Zellen hemmt (Norwitz et al. 2001). Das Komplementsystem wird durch blockierende Moleküle inhibiert. Durch das vom Synzytiotrophoblasten gebildete Enzym Indoleamine-2,3-dioxygenase wird Tryptophan katabolisiert, das zur Aktivierung von T-Zellen erforderlich ist. Durch ein verändertes Zytokinmilieu wird die Zell-vermittelte Immunantwort gehemmt und der Trophoblast vor zytotoxischen Zellen geschützt (Norwitz et al. 2001).

PIBF verändert das Zytokinprofil

Szekeres-Bartho et al. zeigten, dass die Veränderung des Zytokinprofils auf die Expression des Proteins Progesterone-Induced-Blocking-Factor (PIBF) zurückgeht. PIBF wird in Anwesenheit von Progesteron von CD8⁺ T-Zellen gebildet und verlagert das Th1-/Th2-Gleichgewicht zugunsten der schwangerschaftsprotektiven antiinflammatorischen Th2-Zytokine (z. B. IL-4, IL-10, TGF- β). Wird PIBF nicht ausreichend exprimiert, überwiegen proinflammatorische Th1-Zytokine (z. B. TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-12, IL-18) (Szekeres-Bartho et al. 1996). Zur Vereinfachung werden im Folgenden proinflammatorische Zytokine als „Th1-Zytokine“ und antiinflammatorische Zytokine als „Th2-Zytokine“ bezeichnet, wobei diese auch nicht durch T-Helfer-Zellen produzierte Zytokine umfassen. Die T-Helfer-Zellen, die vorwiegend Th1-Zytokine produzieren, exprimieren den Oberflächenmarker CCR5, die T-Helfer-Zellen, die hauptsächlich Th2-Zytokine sezernieren, sind durch den Oberflächenmarker CCR4 gekennzeichnet (Annunziato et al. 1999).

Inflammatorische Th1-Zytokine aktivieren NK-Zellen und führen zum Abort

Sind die genannten Toleranzmechanismen durch mütterliche, fetale oder äußere Faktoren gestört, so kommt es zur Abstoßung des Fetus und zum Abort. Unabhängig vom auslösenden Faktor resultiert in vielen Fällen der gleiche Mechanismus, dem ein gestörtes Th1-/Th2-Gleichgewicht zugrunde liegt (Thellin et al. 2003). Die vermehrte Produktion der proinflammatorischen Th1-Zytokine IFN- γ , TNF- α und IL-2 – hervorgerufen beispielsweise durch eine Infektion oder

Stress – kann über verschiedene Wege zum Abort führen. Zum einen bewirken Th1-Zytokine eine vermehrte Produktion der Prothrombinase fgl2 in Trophoblastzellen. fgl2 führt über eine Thrombose der utero-plazentaren Gefäße zum Absterben des Fetus. Andererseits aktivieren Th1-Zytokine inflammatorische Makrophagen sowie das Komplementsystem und triggern die Aktivität zytolytischer NK-Zellen (Thellin et al. 2003).

1.3 Endokrinologische Parameter

1.3.1 Corticotropin Releasing Hormone (CRH)

CRH wird im Hypothalamus gebildet und bei Stress ausgeschüttet

Corticotropin Releasing Hormone (CRH) ist ein aus 41 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das im Hypothalamus gebildet wird. Es wird im Rahmen der Stressantwort sezerniert (McLean et al. 1999). Über die Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse bewirkt es die Ausschüttung von Glukokortikoiden, die zu einer Verminderung proinflammatorischer Zytokine, wie IL-1, IL-2, TNF- α und IFN- γ , zu vermehrter Produktion von IL-10 und zu verminderter Aktivität von Natürlichen Killerzellen führen (Arck 2001).

CRH wird auch von der Plazenta gebildet und fungiert als „Uhr der Schwangerschaft“

Neben der zentralnervösen Sekretion von CRH besteht auch eine Produktion durch die Plazenta und verschiedene andere intrauterine Strukturen (Zoumakis et al. 2000). In der Schwangerschaft wird CRH lokal durch den Trophoblasten am feto-maternalen Übergang gebildet und in den mütterlichen und fetalen Kreislauf abgegeben. Im Verlauf der Schwangerschaft steigt der mütterliche Plasma-CRH-Spiegel exponentiell an, und CRH spielt schließlich eine wichtige regulatorische Rolle in Bezug auf die Initiation und den Zeitpunkt der Geburt. Weitere Funktionen von CRH bestehen in der Reifung fetaler Organsysteme und in der Regulierung des utero-plazentaren Blutflusses. McLean et al. beschrieben CRH als „placental clock“, deren Muster in der Frühschwangerschaft angelegt werden, durch die ganze Schwangerschaft hindurch bestehen und nach einer vorherbestimmten Dauer der Schwangerschaft zur Einleitung der Geburt führen. (McLean et al. 1995)

CRH beeinflusst den utero-plazentaren Blutfluss

Eine fehlerhafte Ausbildung des utero-plazentaren Kreislaufes führt zur Minderversorgung des Fetus mit Nährstoffen und Sauerstoff und so zu Wachstumsstörungen bis hin zum Abort. Es konnte gezeigt werden, dass CRH ein potenter Vasodilatator der plazentaren Widerstandsgefäße

Einleitung

ist. Die Sekretion von plazentarem CRH erfolgt als Antwort auf eine Stresssituation des Fetus und setzt Schutzmechanismen in Gang, die den Fetus darauf vorbereiten, die potentiell schädigende Umgebung zu verlassen: Vasodilatation, Organreifung und Frühgeburt (McLean et al. 1999).

CRH reguliert die Dezidualisation und Implantation

Im Rahmen der Implantation spielt CRH eine wichtige Rolle. Lokal produziertes CRH hat einen dezidualisierenden Effekt auf das Endometrium, wobei Progesteron, das den größten Einfluss auf die Dezidualisation hat, die CRH-Produktion stimuliert (Makrigiannakis et al. 1999). CRH wiederum induziert sowohl die Dezidualisation fördernde als auch hemmende Faktoren und gilt so als lokaler Feinregulator der durch Progesteron induzierten Dezidualisation (Zoumakis et al. 2000). Die Veränderung des Endometriums durch die sich einnistende Blastozyste wurde mit einer aseptischen inflammatorischen Reaktion verglichen. Dabei wird durch die Blastozyste selbst das proinflammatorische Zytokin IL-1 ausgeschüttet, das die Dezidualisation unterdrückt, jedoch die CRH-Produktion stimuliert. Es werden lokale Feedback-Mechanismen vermutet, die die Dezidualisation und Implantation regulieren, wobei CRH eine zentrale Stellung einnimmt (Makrigiannakis et al. 1999). Des Weiteren stimuliert CRH die Expression des proapoptotischen Zytokins Fas ligand auf extravillösen Trophoblastzellen, das in den umliegenden aktivierten T-Zellen Apoptose induziert, und trägt so zur maternalen Immuntoleranz des semi-allogenen Fetus bei (Makrigiannakis et al. 2001).

1.3.2 Progesteron

Progesteron ist essentiell für den Erhalt der Dezidua

Die Hauptquelle von Progesteron ist bis zur 7. Schwangerschaftswoche das Ovar und ab etwa der 7. SSW die Plazenta, die bis zum Schwangerschaftsende Progesteron in steigenden Mengen produziert. Progesteron ist essentiell zur Erhaltung der Schwangerschaft. Deanesly zeigte, dass die Ovariectomie im ersten Trimester bei Ratten über einen Zusammenbruch der Dezidua zum Abort führt, wohingegen Progesteronsubstitution bei ovariectomierten Ratten nach der Implantation die Schwangerschaft erhalten kann (Deanesly 1973). Ebenfalls abortogen wirkt die Gabe von Progesteron-Antagonisten (Szekeres-Bartho et al. 2001).

Progesteron hat eine immunsuppressive Wirkung

Progesteron hat eine immunsuppressive Wirkung, so blockiert die Behandlung von T-Zellen mit Progesteron die T-Zell-Aktivierung sowie deren zytotoxischen Eigenschaften. Des Weiteren

ermöglichten hohe Konzentrationen an Progesteron im Hamsteruterus das Überleben von xenogenen und allogenen Hauttransplantaten (Szekeres-Bartho et al. 2001).

Progesteronrezeptoren in der Schwangerschaft

Während der Schwangerschaft entwickeln periphere Lymphozyten eine 100-fach höhere Sensitivität gegenüber Progesteron durch die Expression von Progesteronrezeptoren. Patientinnen mit habituellem Abort haben eine signifikant niedrigere Expression von Progesteronrezeptoren, so dass ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Progesteronrezeptor-Expression und dem Schwangerschaftsausgang wahrscheinlich ist (Szekeres-Bartho et al. 2001). Die Expression von Progesteronrezeptoren ist nicht nur typisch für die Schwangerschaft, sondern beruht auf der Aktivierung von Lymphozyten. Man findet eine ebenso hohe Progesteronrezeptor-Expression bei Transplantationspatienten, so dass man annehmen kann, dass die Progesteronrezeptoren in der Schwangerschaft über die Stimulation durch allogene fetale Antigene induziert werden (Szekeres-Bartho et al. 2001).

Progesteron inhibiert über PIBF die Aktivität von NK-Zellen

Die Bindung von Progesteron über die auf Lymphozyten exprimierten Progesteronrezeptoren induziert die Bildung des Proteins Progesterone-Induced-Blocking-Factor (PIBF), u. a. in CD8⁺ Zellen. Szekeres-Bartho et al. zeigten, dass PIBF über die Beeinflussung des Arachidonsäure-Metabolismus, die Inhibition der Aktivität von NK-Zellen und die Induktion einer Th2-gewichteten Immunantwort einen schwangerschaftsprotektiven Effekt hat (Szekeres-Bartho et al. 2001).

1.3.3 Progesterone induced blocking factor (PIBF)

PIBF verändert das Zytokinprofil und senkt die NK-Aktivität

Die immunologischen Effekte von Progesteron werden durch den Progesterone-Induced-Blocking-Factor (PIBF) vermittelt. PIBF verändert das Zytokinprofil der aktivierten Lymphozyten. Die Schwangerschaft wurde als Th2-Phänomen beschrieben (Wegmann et al. 1993), wobei die Immunglobulinsynthese erhöht und die Zell-vermittelte Immunantwort verringert ist. Die Zytokine können entweder der für die Schwangerschaft harmloseren humoralen Immunantwort bzw. Immunsuppression zugerechnet werden (Th2-Zytokine) oder der potentiell den Trophoblasten schädigenden Zell-vermittelten Antwort (Th1-Zytokine). Normalerweise produzieren die Lymphozyten von schwangeren Frauen signifikant mehr der

Einleitung

Th2-Zytokine wie IL-3, IL-4 und IL-10. IL-10 hemmt die Zytokinproduktion von Th1-Zellen und hält damit die NK-Aktivität niedrig (Szekeres-Bartho et al. 1996).

In der normalen humanen Schwangerschaft ist die NK-Aktivität signifikant niedriger als bei nichtschwangeren Personen. Es gibt Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen erhöhter NK-Aktivität und Fehlgeburten bei Patientinnen mit habituellem Abort. Szekeres-Bartho et al. konnten im Mausmodell Aborte durch die Gabe von anti-NK-Antikörpern verhindern. Die im Normalfall auftretende Verminderung der NK-Aktivität ist über ein verändertes Zytokinprofil durch PIBF vermittelt (Szekeres-Bartho et al. 2001).

Anti-PIBF-Antikörper und der Progesteron-Antagonist RU486 führen zum Abort

Die Behandlung von trächtigen Mäusen mit anti-PIBF-Antikörpern oder dem Progesteron-Antagonisten RU486 führte zu einer erhöhten Resorptionsrate (Szekeres-Bartho et al. 1997). Die Resorptionsrate war positiv mit der NK-Aktivität korreliert, die als nichtspezifische Immunantwort einen wichtigen Effektor-Mechanismus am feto-maternalen Übergang darstellt. Eine mögliche Bedeutung der NK-Zellen hinsichtlich des Abortes ist die Produktion von Zytokinen, die wiederum NO-produzierende Makrophagen aktivieren, die die Zellen schädigen (Szekeres-Bartho et al. 1997).

Bei humanen dezidualen Lymphozyten führte die Behandlung mit Progesteron zu einer signifikant niedrigeren zytolytischen Aktivität. Den gleichen Effekt erbrachte die Behandlung mit PIBF, wohingegen die Zugabe von anti-PIBF-Antikörpern die Progesteron-vermittelte Verminderung der Zytotoxizität vollständig aufhob. Es ist wahrscheinlich, dass PIBF eine wichtige Rolle in der Regulation der zytolytischen Aktivität am feto-maternalen Übergang spielt (Laskarin et al. 2002).

PIBF senkt IL-12 und vermindert die Zytotoxizität von Lymphozyten

Par et al. führen die Zytotoxizität der dezidualen Lymphozyten auf eine erhöhte Expression von Interleukin (IL-) 12 zurück. Normalerweise binden die Lymphozyten schwangerer Frauen ausreichend Progesteron und produzieren PIBF. Dies hat eine verminderte Freisetzung von Arachidonsäure zur Folge. Die daraus resultierende herabgesetzte Prostaglandinsynthese führt zu einer verminderten Expression von IL-12. Wird nicht ausreichend Progesteron von den Lymphozyten gebunden und kein PIBF gebildet, bleibt der Arachidonsäure-Metabolismus unbeeinflusst und es kommt zu einem Anstieg von IL-12. IL-12 induziert die Produktion von IFN- γ und verstärkt die NK-Zytotoxizität (Par et al. 2003).

Andererseits scheint IL-12 eine immunmodulatorische Bedeutung in der Schwangerschaft zuzukommen. Sacks et al. fanden eine erhöhte Bereitschaft von Monozyten schwangerer Frauen, IL-12 zu produzieren (Sacks et al. 2003). Durch fetale Zellpartikel, die ins mütterliche Blut gelangen und dort von Monozyten phagozytiert werden, werden die Monozyten aktiviert. Dies stellt einen wichtigen Prozess im Rahmen der Adaptation des angeborenen mütterlichen Immunsystems während der Schwangerschaft dar (Sacks et al. 2003). Zenclussen et al. fanden erniedrigte Konzentrationen an IL-12 in peripheren und dezidualen Leukozyten von Frauen mit Spontanaborten und schreiben dem Th1-Zytokin IL-12 auch eine protektive Funktion im Rahmen der Schwangerschaft zu (Zenclussen et al. 2002).

Effekte von PIBF

Die Abb. 2 zeigt schematisch die Wirkung von PIBF: in Anwesenheit von PIBF überwiegen Th2-Zytokine wie IL-3, IL-4, und IL-10, die NK-Aktivität ist niedrig und begünstigt eine normale Schwangerschaft. Wird PIBF aufgrund des Progesteron-Antagonisten RU486 nicht gebildet oder durch anti-PIBF-Antikörper neutralisiert, überwiegen Th1-Zytokine wie IL-1, IL-2, IL-12, IFN- γ und TNF- α , die über eine gesteigerte NK-Aktivität zum Abort führen (Szekeres-Bartho et al. 2001).

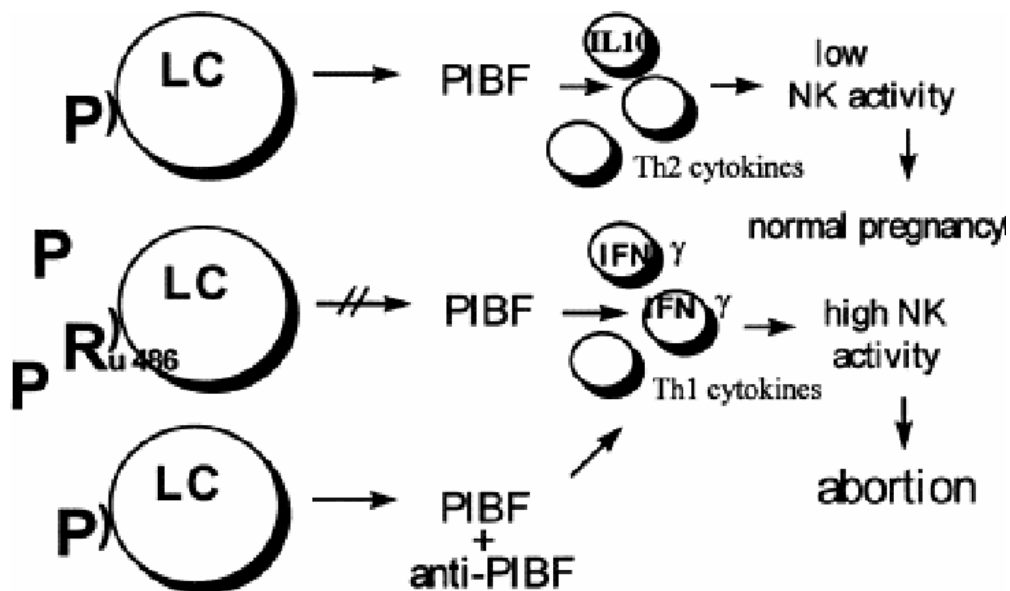


Abb. 2 Effekte von PIBF (Szekeres-Bartho et al. 2001).

Progesteron bindet an den auf Lymphozyten exprimierten Progesteronrezeptor und führt zur Produktion von PIBF. PIBF verändert das Zytokinmilieu zugunsten von Th2-Zytokinen und verringert die Aktivität der NK-Zellen: normale Schwangerschaft resultiert. Der Progesteron-Antagonist RU486 und anti-PIBF-Antikörper führen über das Fehlen von PIBF zur vermehrten Produktion von Th1-Zytokinen und konsekutiv über eine verstärkte NK-Zell-Aktivität zum Abort.

(P = Progesteron, LC = Lymphozyt, RU486 = Progesteron-Antagonist, PIBF = Progesterone-Induced-Blocking-Factor, NK = Natürliche Killerzellen)

1.4 Immunologische Parameter

1.4.1 CD8⁺ Zellen

CD8⁺ Zellen produzieren PIBF

PIBF wurde erstmals in Progesteronrezeptor⁺ CD8⁺ Lymphozyten des peripheren Blutes sowie im Serum schwangerer Frauen gefunden (Laskarin et al. 2002). CD8⁺ T-Zellen scheinen eine wichtige Rolle in der durch Progesteron induzierten und durch PIBF vermittelten Veränderung des Zytokinprofils zu spielen. Blois et al. zeigten im Tiermodell, dass die signifikant höhere Abortrate durch Stress mit einer signifikanten Abnahme von uterinen CD8⁺ Zellen verbunden ist. Dieser Effekt konnte durch die Gabe des Progesteronderivats Dydrogesterone verhindert werden. Bei Ausschaltung der CD8⁺ Zellen mittels eines monoklonalen Antikörpers jedoch konnte die Gabe von Dydrogesterone die Abortrate nicht vermindern. Dydrogesterone entwickelte über eine Verminderung der Th1-Zytokine TNF- α , IFN- γ und IL-12 seine schwangerschaftsprotective Wirkung, wobei CD8⁺ Zellen – möglicherweise über die benötigte Produktion von PIBF – für diese Wirkung essentiell erscheinen. Die genannten Effekte von Stress auf CD8⁺ Zellen beziehen sich nur auf uterine CD8⁺ Zellen, nicht auf die CD8⁺ Zellen des peripheren Blutes (Blois et al. 2004).

CD8⁺ Zellen produzieren Th1- und Th2-Zytokine

CD8⁺ T-Zellen sind selbst auch in die Zytokinsekretion involviert, wobei sie potentiell sowohl dem Th1- als auch dem Th2-Phänotyp angehören können. Joachim et al. wiesen in der Dezipua von Mäusen TNF- α produzierende CD8⁺ Zellen nach, die unter Stress signifikant anstiegen. Sie schlugen vor, dass zwei funktionell unterschiedliche Populationen an CD8⁺ Zellen bestehen, die einerseits in der normalen Schwangerschaft das Th2-Zytokinprofil unterstützen, andererseits unter Stress mit einer gesteigerten Produktion von TNF- α reagieren (Joachim et al. 2001).

Es ist vorstellbar, dass Stress über eine Eliminierung von immunoprotektiven CD8⁺ Zellen, konsekutiv über eine verminderte Produktion von PIBF und ein Th1-bestimmtes Zytokinmilieu, abortogen wirkt (Arck et al. 1996).

1.4.2 CCR5⁺ und CCR4⁺ Zellen

CCR5⁺ T-Helfer-Zellen produzieren inflammatorische Th1-Zytokine und CCR4⁺ T-Helfer-Zellen produzieren antiinflammatorische Th2-Zytokine

Die Immunabwehr kann in die zelluläre und die serologische Immunabwehr eingeteilt werden. Der Zell-vermittelten Immunantwort gehören T-Helfer-Zellen des Th1-Phänotyps an, die

Einleitung

intrazelluläre Pathogene bekämpfen, während die Lymphozyten des Th2-Phänotyps der humoralen Immunantwort angehören, die extrazelluläre Pathogene bekämpfen. Zellen, die Th1-Zytokine (z. B. TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12) produzieren, exprimieren den Oberflächenmarker CCR5, während Zellen, die Th2-Zytokine (z.B. IL-4, IL-10, TGF- β) produzieren, den Oberflächenmarker CCR4 exprimieren (Annunziato et al. 1999).

„Schwangerschaft ist ein Th2-geprägtes Phänomen“

Zytokine sind Peptide, die von Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, Mastzellen, Eosinophilen und Endothelzellen der Blutgefäße produziert werden (Carp 2004). In der normalen Schwangerschaft besteht ein von Th2-Zytokinen geprägtes Milieu (Wegmann et al. 1993). Dies zeigt sich beispielsweise im Verlauf von Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis oder der Multiplen Sklerose, die als Th1-assoziierte Erkrankungen eine Besserung in der Schwangerschaft zeigen (Carp 2004). Andererseits kommt es aufgrund der herabgesetzten Zell-vermittelten Immunantwort vermehrt zu viralen Infektionen und Tumoren (Wegmann et al. 1993).

Th1-Zytokine aktivieren NK-Zellen und die Prothrombinase fgl2

Ein durch Th1-Zytokine geprägtes Milieu stellt eine Gefahr für die Schwangerschaft dar, denn eine Th1-Antwort kann über die Aktivierung von NK-Zellen den Trophoblasten schädigen und zum fetalen Tod führen. IFN- γ fördert die Entwicklung von zytotoxischen Lymphozyten und NK-Zellen und hemmt das intrauterine Wachstum, TNF- α potenziert die Wirkung von IFN- γ (Wegmann et al. 1993). Durch TNF- α aktivierte NK-Zellen können im Trophoblasten Apoptose auslösen und so zum Abort führen (Carp 2004). IL-12 ist dafür bekannt, dass es eine Th1-Antwort hervorruft (Zenclussen et al. 2002). Knackstedt et al. zeigten, dass die Gabe von IL-12 bei Mäusen zu einem Anstieg von TNF- α und IFN- γ und über die verstärkte Expression der Prothrombinase fgl2 zur plazentaren Thrombose und zum Abort führt (Knackstedt et al. 2003). Andererseits fanden Zenclussen et al. bei Patientinnen mit Spontanabort eine signifikant niedrigere Produktion von IL-12 in peripheren Leukozyten als bei Schwangeren mit einer komplikationslosen Schwangerschaft (Zenclussen et al. 2002), so dass die Rolle von IL-12 in der Schwangerschaft nicht eindeutig geklärt ist.

Th2-Zytokine schwächen die Zell-vermittelte Immunantwort ab

Eine Antikörper-assoziierte Th2-Immunantwort erscheint weniger gefährlich für den Trophoblasten. Th1- und Th2-Zytokine regulieren sich gegenseitig. So hemmt IFN- γ die Th2-

Einleitung

Zell-Proliferation, während IL-10 die Th1-Zell-Proliferation und insbesondere die Produktion von IFN- γ hemmt (Wegmann et al. 1993). Das bedeutet, ein Th2-geprägtes Zytokinmilieu während der Schwangerschaft schützt den Fetus vor der Zell-vermittelten Immunantwort und steigert die Antikörperproduktion, die durch die diaplazentare Übertragung einen protektiven Effekt für den Fetus haben kann (Wegmann et al. 1993). Allerdings kann eine übermäßige Antikörperproduktion wiederum das Komplementsystem aktivieren und zur Gefahr für den Trophoblasten werden (Zenclussen et al. 2002).

Abortpatientinnen haben eine erhöhte Anzahl von CCR5⁺ Zellen im Blut

Zenclussen et al. analysierten in einer Studie das Abortmaterial und Blutproben von Patientinnen mit einem Spontanabort und fanden signifikant mehr CCR5⁺ Zellen im peripheren Blut der Abortpatientinnen als bei Schwangeren ohne Komplikationen. Die Serumspiegel der Th1-Zytokine IFN- γ und TNF- α waren ebenfalls bei den Abortpatientinnen erhöht. Als Hauptproduktionsort der beiden Zytokine wurden CD8⁺ und CD3⁺ Zellen identifiziert. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass das Th1-geprägte Zytokinmilieu zu einer erhöhten Aktivität der NK-Zellen führt, die den Trophoblasten angreifen (Zenclussen et al. 2001).

1.4.3 CD57⁺ Zellen

Unterschiede zwischen uterinen und peripheren NK-Zellen

Die uterinen NK-Zellen haben einen anderen Phänotyp als die NK-Zellen des peripheren Blutes und exprimieren den Oberflächenmarker CD56. Sie haben nur geringe zytolytische Aktivität und werden ab der Sekretionsphase vermehrt im Endometrium gefunden, so dass ihnen eine Bedeutung im Rahmen der Dezidualisation zugeschrieben wurde (King 2000). Im peripheren Blut sind diese CD56⁺ NK-Zellen nur in sehr geringem Maße (<10%) nachweisbar (King 2000). Die „klassischen“ NK-Zellen des peripheren Blutes sind durch den Oberflächenmarker CD57 gekennzeichnet.

NK-Zellen überwachen die Invasion des Trophoblasten

Die NK-Zellen spielen eine Schlüsselrolle in der Überwachung des einwandernden Trophoblasten. Durch TNF- α aktivierte NK-Zellen können Apoptose im Trophoblasten induzieren. Dieser Effekt kann durch das Th2-Zytokin TGF- β verhindert werden (Carp 2004). In der normalen Schwangerschaft ist die NK-Aktivität signifikant niedriger als in nichtschwangeren Individuen. Szekeres-Bartho et al. zeigten, dass die Applikation von aktivierten NK-Zellen in

Einleitung

trächtige Mäuse zum Abort führte. PIBF hemmt die NK-Aktivität und konnte den abortogenen Effekt der NK-Zellen korrigieren (Szekeres-Bartho et al. 1997).

Erhöhte Aktivität von CD57⁺ NK-Zellen in Abortpatientinnen

Eine Assoziation zwischen erhöhter systemischer NK-Aktivität und Spontanaborten ist bekannt (Szekeres-Bartho et al. 1997). In einer Studie wurde gezeigt, dass anhand der NK-Aktivität im Blut von nichtschwangeren Frauen eine Vorhersage über den Verlauf der nächsten Schwangerschaft getroffen werden konnte (Aoki et al. 1995).

In der Dezidua wurden neben CD56⁺ NK-Zellen auch CD57⁺ NK-Zellen nachgewiesen. Vassiliadou et al. fanden in einer Studie bei 50% der Patientinnen mit einem Spontanabort signifikant erhöhte Werte an „klassischen“ CD57⁺ NK-Zellen in der Dezidua, so dass man davon ausgehen kann, dass ein Teil der unerklärten Spontanaborte auf die Aktivität dieser CD57⁺ NK-Zellen zurückzuführen ist (Vassiliadou et al. 1996).

Weitere Mechanismen zur Aufrechterhaltung der fetalen Toleranz

Weitere Mechanismen, die die fetale Toleranz aufrechterhalten, sind die verstärkte Expression immunsuppressiver $\gamma\delta$ -TCR⁺ T-Zellen und der Indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), die in den für die T-Zell-Proliferation notwendigen Tryptophanstoffwechsel eingreift, sowie das Vorhandensein regulatorischer T-Zellen (Treg). Diese werden in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht und sind daher nicht erwähnt.

1.5 Stress

1.5.1 Definition

Stress tritt auf, wenn die individuellen Bewältigungsmechanismen überfordert werden

Nach WHO-Definition tritt Stress auf, wenn die Anforderungen an eine Person deren persönliche Bewältigungsstrategien überschreiten (Arck et al. 2001).

Der Begriff Stress wurde durch den Wissenschaftler Hans Selye geprägt. Ursprünglich bezeichnete der Begriff Stress Druck oder Zug auf ein Material. Selye wandte den Begriff Stress an, um die Reaktion des Organismus auf einen äußeren Reiz (z. B. Anstrengung, Trauma, Hitze, Infektion) zu beschreiben. Dieses allgemeine Anpassungssyndrom verläuft in den Phasen Alarmreaktion, Widerstandsstadium und Erschöpfungsstadium. Gelingt die Anpassung nicht, resultiert eine Anpassungsstörung mit den Folgeerscheinungen einer dauerhaften Stresseinwirkung (Hildebrandt 1998).

Einleitung

Psychosozialer Stress ist schwer messbar, da objektiv gleiche Anforderungen unterschiedlich wahrgenommen werden und auch die Bewältigungsstrategien individuell verschieden sind. Stress wird subjektiv wahrgenommen und kann am ehesten durch Selbstbeurteilungsskalen quantifiziert werden (Fliege et al. 2005).

Stress kann positive und negative Effekte haben. Wird die Anforderung bewältigt, wird der Stress als positiv empfunden (Eustress). Distress tritt auf, wenn die Anforderung nicht bewältigt wird und der Stress eine negative Wirkung hat. Wenn im Folgenden von Stress die Rede ist, ist – wenn nicht anders vermerkt – Distress gemeint.

1.5.2 Stress und Schwangerschaft

Ein empirischer Zusammenhang von Stress und Abort ist seit langem bekannt

Ein Zusammenhang zwischen Stress und Spontanaborten wird bereits lange vermutet, doch aufgrund der problematischen Messbarkeit von Stress ist der Beweis für einen kausalen Zusammenhang schwierig zu erbringen. Bereits im Abschnitt 1.1 wurde über den empirischen Zusammenhang von stressreichen Lebensereignissen und Fehlgeburten, u. a. auch bei chromosomal normalen Aborten, berichtet (O'Hare et al. 1995) (Neugebauer et al. 1996).

Starke berufliche Belastung in der Schwangerschaft kann das Risiko für einen Abort erhöhen

Mehrere epidemiologische Studien zum Zusammenhang von Stress und Spontanaborten wurden in den letzten Jahren veröffentlicht. So berichten Schenker et al. in einer Studie unter Anwältinnen, dass die Arbeitsstunden pro Woche ein starker Vorhersagewert für die Belastung durch die Arbeit sind. Die wöchentlichen Arbeitsstunden während des ersten Trimenons zeigten einen deutlichen Zusammenhang mit dem Risiko eines Spontanabortes. Der selbst beurteilte Stress während der Schwangerschaft war positiv aber nicht statistisch signifikant mit dem Spontanabort assoziiert (Schenker et al. 1997). In einer Studie von Cone et al. hatten Flugbegleiterinnen, die während der Schwangerschaft eine hohe Stundenzahl weiter arbeiteten, ein höheres Risiko für eine Fehlgeburt. Auch in diesem Fall war der Stress über die Anzahl der Arbeitsstunden definiert (Cone et al. 1998). Wergeland et al. zeigten, dass Frauen, die ihren Arbeitsrhythmus selbst bestimmen konnten, eine bessere Gesundheit während der Schwangerschaft hatten als Frauen, die dieses nicht konnten (Wergeland et al. 1998). Kritisch zu betrachten an diesen Studien ist die schon erwähnte Tatsache, dass die Arbeitsstundenzahl und ein fremd bestimmter Arbeitsrhythmus keinen objektivierbaren Stress darstellen und nicht als Stress quantifiziert werden können.

Einleitung

Keinen Zusammenhang zwischen berufsbedingtem psychologischem Stress und Spontanaborten fanden Fenster et al. in einer prospektiven Studie. Sie definierten beruflichen Stress als hohe psychologische Anforderungen verbunden mit geringer Kontrolle über diese Anforderungen. Ein erhöhtes Risiko für einen Spontanabort verbunden mit hohem berufsbedingtem Stress fand sich nur bei Schwangeren, die älter als 32 Jahre oder Raucherinnen waren (Fenster et al. 1995).

Psychologische Unterstützung kann die Abortrate senken

Schon 1988 entwickelte Läßle ein psychobiologisches Modell für Spontanaborte und habituelle Aborte anhand von physiologischen Erklärungstheorien. Die Autorin kommt zu dem Schluss, dass Stress modulierende Faktoren wie Stressbewältigung und soziale Unterstützung die Stresseffekte reduzieren können (Läßle 1988). Eine norwegische Studie zeigte, dass psychologische Unterstützung bei Patientinnen mit habituellem Abort die Rate für eine erfolgreiche Schwangerschaft von 33% auf 86% an hob (Stray-Pedersen et al. 1984).

Stress in der Schwangerschaft kann das Leben des Kindes nachhaltig beeinflussen

Die Relevanz von Stress im Fortpflanzungsprozess liegt nicht nur in der Tatsache, dass Stress zum Abort führen kann, sondern auch darin, dass pränataler Stress lebenslangen Einfluss auf die Entwicklung des Kindes nimmt (Knackstedt et al. 2005). Studien zeigen dass Schwangere mit hohen Stress- und Angst-Leveln ein erhöhtes Risiko u. a. für Fehlgeburten haben. Mütterliche psychologische Faktoren tragen zu Schwangerschaftskomplikationen und der ungünstigen Entwicklung des (ungeborenen) Kindes bei. Gezielte Stressreduktion könnte diese Vorgänge günstig beeinflussen (Mulder et al. 2002)

Auch Federenko et al. beschreiben den Einfluss der mütterlichen mentalen Gesundheit während der Schwangerschaft auf die Entwicklung und Gesundheit des ungeborenen Kindes, wobei psychosozialen Stress und sozialer Unterstützung besondere Bedeutung zukommt. Außerdem merken sie an, dass nicht alle Frauen mit hohem pränatalem Stress Schwangerschaftskomplikationen aufweisen und dass interindividuelle Unterschiede in der „Empfänglichkeit“ für Stress eine Rolle spielen (Federenko et al. 2004).

1.5.3 Einfluss von Stress auf das endokrine System

Stress führt über die Sekretion von CRH zur Störung der GnRH- und Progesteronproduktion

Stress führt zu einem inflammatorischen Prozess, der durch die Ausschüttung von Neuropeptiden und Entzündungsmediatoren geprägt ist. Über zentrale Neuropeptide wie CRH wird eine systemische Stressantwort initiiert, die zu einer Aktivierung des sympathischen

Einleitung

Nervensystems und der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse sowie zur Ausschüttung von Stress-Hormonen wie Katecholaminen und Cortisol führt (Black 2002). Des Weiteren inhibiert die durch Stress induzierte CRH-Sekretion die Ausschüttung des hypothalamischen Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH), während Glukokortikoide das hypophysäre Luteinizing Hormone (LH) sowie die ovarielle Produktion von Östrogenen und Progesteron hemmen. Über diesen Mechanismus entsteht die „hypothalamische Amenorrhoe“, die in extremen Stresssituationen auftreten kann (Kalantaridou et al. 2004).

Chronischer Stress führt über eine verminderte Progesteronproduktion zum Abort

Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass Stress (z. B. durch Immobilisation) die Progesteronkonzentration bei Ratten senkt (Wiebold et al. 1986). Diese Beobachtung trifft vor allem bei chronischer Stresseinwirkung zu, während akuter Stress die Progesteronkonzentration kurzfristig anheben kann (Arck 2001). Ebenfalls im Tiermodell wurde gezeigt, dass Stress durch Schallwellen die Abortrate erhöht. Stress führt hier zu einer verminderten Progesteronproduktion, zur verminderten Expression von PIBF und schließlich zu einer verminderten Sekretion von Th2-Zytokinen (Joachim et al. 2003).

1.5.4 Einfluss von Stress auf das Immunsystem

Kurzfristiger Stress wirkt immunstimulierend, langfristiger Stress wirkt immunsupprimierend

Beim Einfluss von Stress auf das Immunsystem muss man zwischen kurzfristigen und langfristigen Belastungen unterscheiden. Kurzfristige Stresseinwirkungen wie beispielsweise ein Fallschirmsprung wirken immunstimulierend, während langfristige Stresseinwirkungen wie Arbeitslosigkeit, die Pflege von Angehörigen oder Schlafdeprivation zu einer Immunsuppression führen (Arck et al. 2001).

Matalka stellte bei kurz andauerndem Stress eine Leukozytose, eine vorübergehende Erhöhung von CD8⁺ Zellen und NK-Zellen fest. Die Th1-Zytokine IFN- γ und TNF- α stiegen an, während die Th2-Zytokine IL-10 und IL-4 keine Veränderung zeigten. Bei lang andauerndem Stress zeigte sich eher eine Th2-Antwort mit erhöhten Spiegeln an IL-10 und verminderten Spiegeln an IFN- γ und TNF- α . Diese Th2-Antwort führte zur einer Dysregulation der Zell-vermittelten Immunabwehr mit der Folge vermehrter viraler Infektionen wie respiratorischer Infekte oder Herpes-Virus-Reaktivierungen (Matalka 2003).

Stress beeinflusst die Entscheidung zwischen Toleranz und Abstoßung des Fetus durch den mütterlichen Organismus

Thellin et al. beschreiben verschiedene Mechanismen zur Toleranz des semi-allogenen Fetus durch das mütterliche Immunsystem. In stressreichen Situationen, die die Mutter gefährden, kommt es zum Versagen dieser Mechanismen und zum Abort. Die Entscheidung zwischen Toleranz und Abstoßung wird von inneren (mütterlichen und fetalen) Faktoren sowie von äußeren Umweltfaktoren, wie Stress, beeinflusst (Thellin et al. 2003).

1.5.5 Perceived Stress Questionnaire (PSQ)

Stress wird subjektiv wahrgenommen und kann durch Eigeneinschätzung quantifiziert werden

Wie bereits erwähnt, ist Stress schwer messbar, da Stress subjektiv wahrgenommen wird. Stress kann am besten durch Eigeneinschätzung quantifiziert werden, was als „weicher Messwert“ kritisiert werden kann. Die Abfrage von Lebensereignissen würde einen „harten Messwert“ darstellen, jedoch muss berücksichtigt werden, dass nicht das Lebensereignis an sich den Stress ausmacht, sondern dass Stress aus der individuellen Verarbeitung des Lebensereignisses resultiert (Levenstein et al. 1993). Zur Quantifizierung von Stress wurde ein Fragebogen zum wahrgenommenen Stress verwendet, der „Perceived Stress Questionnaire“ (PSQ) nach Levenstein, der im Methodenteil genauer beschrieben wird.

1.6 Arbeitshypothesen

Ausgehend davon, dass einerseits Stress die Progesteronkonzentration senkt sowie die CRH-Konzentration erhöht und dass andererseits eine ausreichende Progesteronkonzentration über die Bildung von PIBF in CD8⁺ Zellen zu einem von Th2-Zytokinen bestimmten Milieu, zu verminderter NK-Zell-Aktivität und somit zu einer komplikationslosen Schwangerschaft führt, wurde folgende Arbeitshypothese aufgestellt: bei Schwangeren, die konsekutiv einen Abort erleiden, kommt es in der Frühschwangerschaft zu einem asymptomatischen Zeitpunkt – u. a. hervorgerufen durch Stress – zu Imbalancen immunologischer und endokrinologischer Parameter, die zu einem späteren Zeitpunkt der Schwangerschaft zum Abort führen.