

Aus dem
Experimental and Clinical Research Center (ECRC),
eine Kooperation zwischen dem
Max-Delbrück Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz Gemeinschaft und
der Charité Universitätsmedizin Berlin

Charité Campus Buch
Direktor: Prof. Dr. Friedrich C. Luft

Habilitationsschrift

Die uteroplazentare und zirkuläre Dysregulation in der Pathologie der Präeklampsie

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach
Experimentelle und Molekulare Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. rer. nat. Dipl.-Ing. Florian Herse

Eingereicht: August 2015
Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Ekkehard Schleußner (Jena)
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Marek Zygmunt (Greifswald)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Präeklampsie	5
1.2	Renin-Angiotensin-System	6
1.2.1	Renin-Angiotensin-System und Schwangerschaft	7
1.3	Cytochrom P450-System	9
1.3.1	Cytochrom P450-System und Schwangerschaft	12
1.4	Tiermodelle	12
1.5	Zielstellung	14
2	Ausgewählte Originalarbeiten	15
2.1	Dysregulationen in der humanen präeklampsischen Schwangerschaft	15
2.1.1	Dysregulation des zirkulierenden und gewebespezifischen Renin-Angiotensin-Systems in der Präeklampsie (<i>Dysregulation of the circulating and tissue-based Renin-Angiotensin-System in preeclampsia</i>)	15
2.1.2	Zirkulierende und uteroplazentäre Adipozytokin-Konzentrationen in der Präeklampsie (<i>Circulating and uteroplacental adipocytokine concentrations in preeclampsia</i>)	25
2.1.3	CYP2J2-Expression und zirkulierende epoxygenoide Metabolite in der Präeklampsie (<i>CYP2J2 expression and circulating epoxyeicosatrienoic metabolites in preeclampsia</i>)	34
2.2	Dysregulationen in einem Rattenmodell mit präeklampsieähnlichem Phänotyp	46
2.2.1	Effekte des zirkulierenden und plazentaren Angiotensin II bei der Rattenschwangerschaft (<i>Effects of circulating and local uteroplacental angiotensin II in rat pregnancy</i>)	46
2.2.2	Erhöhtes Angiotensin II im mesometrialen Dreieck des transgenen Rattenmodells für Präeklampsie (<i>Increased angiotensin II in the mesometrial triangle of a transgenic rat model of preeclampsia</i>)	56
3	Diskussion	62
4	Ausblick	69
5	Zusammenfassung	70
6	Literaturverzeichnis	72
7	Danksagung	82
8	Eidesstattliche Erklärung	84

Abkürzungsverzeichnis

5,6-epTXA1	5,6-Epoxy-Thromboxan
AA	Arachidonsäure, engl.: <i>Arachidonic acid</i>
ACE	<i>Angiotensin converting enzyme</i>
ACOG	<i>American College of Obstetricians and Gynecologists</i>
Ang I	Angiotensin I
Ang II	Angiotensin II
AP-1	<i>Activator protein 1</i>
AT1-AA	Angiotensin II-Rezeptor Typ1 Autoantikörper
AT1-R	Angiotensin II-Rezeptor Typ 1
AT2-R	Angiotensin II-Rezeptor Typ 2
BMI	<i>Body mass index</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
COX	Cyclooxygenase
CYP	Cytochrom P450
CYP2J2	Cytochrom P450 Familie 2J Polypeptid 2
DHA	Docosahexaensäure
DHET	Dihydroxyeicosatetriensäure
EDHF	<i>Endothelium-derived hyperpolarizing factor</i>
EDP	Epoxydocosapentaensäure
EET	Epoxyeicosatetriensäure
EETeTr	Epoxyeicosatetraensäure
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
eNOS	<i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
EPA	Eicosapentaensäure
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
HETE	Hydroxyeicosatetriensäure
HIF-1a	Hypoxie induzierter Faktor 1 alpha, engl.: <i>Hypoxia-inducible factor-1alpha</i> (HIF-1a)
IL	Interleukin
IUGR	Intrauterine Wachstumsrestriktion, engl.: <i>Intrauterine growth restriction</i>
KCa	Kalziumaktivierten Kaliumkanäle

LOX	Lipoxygenase
LPS	Lipopolysaccharide
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
mg/l	Milligram/Liter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mRNA	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
MSPPOH	N-(methylsulfonyl)-2-(2-propynyloxy)-benzenehexanamide
NADH/NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide/nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NK	<i>natural killer</i>
OC	Umgekehrte Kreuzung, engl. <i>Opposite cross</i>
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1
PE	Präeklampsie-Rattenmodell
PLA2	Phospholipase A2
PLGF	Plazentarer Wachstumsfaktor, engl.: <i>Placental growth factor</i>
RAS	Renin-Angiotensin-System
RT-PCR	<i>Reverse transcriptase polymerase chain reaction</i>
RUPP	<i>Reduced uterine perfusion pressure</i>
SD	Sprague Dawley
sEH	Lösliche Epoxyhydrolase
sFlt1	Löslicher VEGF-Rezeptor, engl.: <i>Soluble fms-like tyrosine kinase 1</i>
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor -α</i>
VSMC	Vaskuläre glatte Gefäßmuskelzellen, engl.: <i>Vascular smooth muscle cell</i>

1 Einleitung

1.1 Präeklampsie

Die Schwangerschaftserkrankung Präeklampsie ist die Hauptursache für mütterliche und kindliche Morbidität und Mortalität und manifestiert sich durch Bluthochdruck und eine Proteinurie, die erstmalig nach der 20. Schwangerschaftswoche auftreten. Das *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) hat Kriterien aufgestellt, wonach eine Präeklampsie von anderen schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruckerkrankungen unterschieden werden kann. So ist der Blutdruck einer vormals nicht an Bluthochdruck leidenden Patientin mit $>140/90$ mm Hg definiert. Hinzukommend tritt eine Proteinurie mit >300 mg/l Protein (24h-Sammelurin) auf oder Assoziation mit Thrombozytopenie, beeinträchtigter Leberfunktion, Entwicklung einer Niereninsuffizienz oder pulmonaren Ödemen.¹ Weltweit entwickeln insgesamt 5-10 % aller Schwangerschaften eine Präeklampsie.² Die kindliche Morbidität (zumeist Wachstumsrestriktion (IUGR; *intrauterine growth restriction*)) oder Mortalität ist bedingt durch eine mögliche Mangelversorgung des Kindes welche hervorgerufen wird durch eine eingeschränkte Funktion der Plazenta.³ Liegt diese Mangelversorgung nicht vor, so verbleibt trotzdem das Risiko eines zu geringen Geburtsgewichtes, resultierend aus dem vorzeitigen Beenden der Schwangerschaft. Bei Kindern mit IUGR und Frauen, die unter einer Präeklampsie entbunden wurden, treten im weiteren Leben ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen auf.⁴

⁷ Derzeit steht keine geeignete Therapie zur Verfügung, welche sowohl die Gesundheit des Kindes wie die der Mutter berücksichtigt. Dies beruht auf der Tatsache, dass der genaue Hintergrund der Krankheit nicht geklärt ist und die einzig kausale Therapie die vorzeitige Entbindung darstellt um Schädigungen für Mutter (z.B. Hirnblutungen oder Nierenschädigungen) und Kind zu vermeiden.⁸ Für Präeklampsie ist eine Vielzahl an Risikofaktoren bekannt, die mehr oder weniger alle auf statistischen Erhebungen beruhen. So sind neben Übergewicht, Erkrankungen, die mit einer Autoimmunkrankheit assoziiert sind und immunologischen Faktoren auch die genetische Disposition von großer Bedeutung.⁹ Obwohl die Hintergründe zur Entstehung der Präeklampsie noch nicht klar definiert sind, hat sich eine breite Akzeptanz gegenüber einer Entwicklung in 3 Stufen gebildet.¹⁰ Hiernach treten bereits entscheidende immunologische Fehlentwicklungen während der Implantation der Blastozyste oder histiotrophen Phase der Plazenta auf (Stufe 1). Als Folge

dessen entwickelt sich ein uteroplazentares Syndrom (Stufe 2) welches zu einem maternalen Syndrom mit den typischen klinischen Symptomen (Stufe 3) translatiert wird.¹¹

Dass die Plazenta die ausschlaggebende Einheit in der Entstehung der Präeklampsie ist, begründet sich schon in der Tatsache, dass das Auftreten der Präeklampsie an das Vorhandensein der Plazenta gebunden ist. Die Plazenta ist aus fetalen Zellen aufgebaut, den Trophoblasten. Das Endometrium bildet sich nach Einnistung des Blastozysten in die Dezidua um. In der Dezidua sind die Spiralarterien lokalisiert, welche einen enorm hohen Nährstoff- und Sauerstoffaustausch gewährleisten. Dieser Teil ist mütterliches Gewebe und wird durch das Einwandern der Trophoblasten mit fetalen Zellen infiltriert. In einer normalen Schwangerschaft erfahren die Arterien einen Gefäßumbau (*spiral artery remodeling*). Dies geschieht, indem Trophoblasten gegen den Blutstrom in die Arterien einwandern, die Gefäßwand ausbetten und so zu einer Umgestaltung der Spiralarterien durch Ersetzen der Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen führen.¹² Durch diesen Umbau der Arterien ist sichergestellt, dass ein maximaler Blutfluss die Plazenta versorgt und in Stresssituationen freigesetzte vasokonstriktorische Stimuli kein Verengen der Arterien und damit einhergehende Mangelversorgung des Kindes vermitteln können. In der präeklampsischen Plazenta kommt es zu einer inhibierten Trophoblasteninvasion. Dadurch wird der Spiralarterienumbau vermindert und es kommt zu einer gestörten Perfusion der Plazenta.¹³ Dieser Vorgang wird auch als abnormale Plazentation bezeichnet und bildet die 2. Stufe in der Entstehung der Präeklampsie. Im Folgenden kommt es zu einer gestörten Expression und Sekretion von inflammatorischen, angiogenetischen und anti-angiogenetischen Faktoren, wie z.B. der lösliche *vascular endothelial growth factor* (VEGF) Rezeptor (sFlt1), *placental growth factor* (PLGF), Endoglin, Autoantikörper oder Eicosanoide welche in die maternale Zirkulation eintreten und hier das maternale Syndrom einleiten (3. Stufe).

1.2 Renin-Angiotensin-System

Das Renin-Angiotensin-System (RAS) spielt eine Schlüsselrolle in der Regulierung der Salz- und Wasserretention welche wiederum eng verknüpft mit der Regulation

des Blutdruckes ist. Das zirkulierende RAS ist eine Enzym-Hormon-Kaskade bestehend aus dem Substrat Angiotensinogen, welches in der Leber gebildet wird und durch das Enzym Renin (gebildet in der Niere) in der Zirkulation zu Angiotensin I (Ang I) und weiter durch das *angiotensin converting enzyme* (ACE) zu Angiotensin II (Ang II) umgesetzt wird. Neben diesem zirkulierenden RAS kann die Expression der Komponenten und die Umsetzung zu Ang II aber auch lokal in Geweben oder sogar auf zellulärer Ebene stattfinden (lokales RAS). Ang II ist ein Octapeptid und wurde zuerst unter dem Namen Angiotonin 1957 beschrieben.¹⁴ Ang II hat nicht nur regulatorischen Einfluß auf den Blutdruck, die Natrium-Resorption und die Aldosteron-Freisetzung, sondern steuert auch die Expression von Wachstumsfaktoren, Zytokinen, Chemokinen und Adhäsionsmolekülen. Diese beeinflussen das Zellwachstum, Apoptose, Fibrose (Vermehrung des Bindegewebes) und inflammatorische Prozesse.^{15, 16} Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Ang II durch Regulierung der NADH/NADPH-Oxidase vermehrt die Bildung von reaktiven Sauerstoffmolekülen induziert, welche das Zellwachstum, die Lipidoxidation, die Herzhypertrophie und inflammatorische Prozesse steuert.^{17, 18} Ang II vermittelt die Transduktion von Signalen über den Angiotensin II-Rezeptor Typ 1 (AT1-R) und den Angiotensin II-Rezeptor Typ 2 (AT2-R). Der AT1-R gehört zu der Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (engl. *G protein-coupled receptors*, GPCR) und aktiviert die Phospholipase C, Protein-Kinase C und weiterführend Kalziumkanäle. Eine Ang II induzierte Aktivierung der MAP-Kinase/ERK-Signalkaskade führt zur Kontraktion von glatten Muskelzellen, Sekretion von Aldosteron, Aktivierung von Nerven, Transport von Ionen und zur Proliferation von Zellen.¹⁹

1.2.1 Renin-Angiotensin-System und Schwangerschaft

Während der Schwangerschaft kommt es zu einem zusätzlich auftretenden RAS, dem uteroplazentaren RAS. Dieses uteroplazentare RAS lässt sich wiederum in ein maternales und ein fetales RAS unterteilen.²⁰ Das maternale RAS bildet seine Komponenten in der Dezidua und den Spiralarterien, beeinflusst durch die invadierenden Trophoblasten. Das fetale RAS ist in der Plazenta und dem Fetus selber lokalisiert. Wie wir zusammenfassend in einer Übersichtsarbeit beschrieben haben, kommt es während der Präeklampsie zu einigen Dysregulationen in diesen beiden Systemen.²¹ So wurde beschrieben, dass es zu einer erhöhten Expression

von Renin in der Dezidua kommt.²² Des Weiteren tritt eine veränderte molekulare Variation des Angiotensinogens vermehrt in präeklampsischen Spiralarterien der Dezidua auf. Die hier vorliegende Habilitationsschrift beinhaltet eine Originalarbeit, welche die Expression der verschiedenen Komponenten des RAS in dem maternalen und fetalen Teil der uteroplazentaren Einheit behandelt. Zusammenfassend konnten wir hier zeigen, dass es zu einer Hochregulation des AT1-R in der präeklampsischen Dezidua kommt. Unabhängig von der Präeklampsie sind die Komponenten Renin, Angiotensinogen und ACE in der Dezidua höher exprimiert als in der Plazenta, wohingegen der AT1-R in der Plazenta höher exprimiert wird.²¹

In einer normal verlaufenden Schwangerschaft ist eine Aktivierung des RAS sichtbar, was sich durch erhöhte Renin- und Angiotensinogenkonzentrationen in der Zirkulation äußert.²³ Bei der präeklampsischen Schwangerschaft sind Ang II- und Aldosteronspiegel, sowie die Plasma-Renin Aktivität gegenüber einer normal verlaufenden Schwangerschaft reduziert.²⁴ Die generell herabgesetzte Sensitivität gegenüber Ang II in der Schwangerschaft ist während der präeklampsischen Schwangerschaft erhöht.²⁵ Diese erhöhte Sensitivität könnte unterschiedlicher Natur sein. Hier ist eine vermehrte Aktivierung durch Autoantikörper gegen den AT1-R, eine erhöhte Expression des AT1-R bzw. eine Heterodimerisierung des AT1-R mit dem Bradykininrezeptor (BDKRB2) denkbar.²⁰ Autoantikörper wie Anti-Ro/SSA-Antikörper, Antiphospholipid-Antikörper und solche gegen den Rezeptor des Thyreoidea-stimulierenden Hormons stehen im Zusammenhang mit Schwangerschaftskomplikationen und sind seit einigen Jahren Gegenstand von Untersuchungen.²⁶⁻²⁸ Autoantikörper gerichtet gegen den AT1-R (AT1-AA) wurden 1999 durch Wallukat et al in präeklampsischen Frauen detektiert und beschrieben.²⁹ Diese AT1-AA sind nicht nur in der maternalen Zirkulation während der Schwangerschaft, sondern auch ein Jahr nach Entbindung, sowie in der Zirkulation des Fetus detektierbar.^{21, 30} Sie sind nicht spezifisch für die Präeklampsie, da sie auch bei weiteren Schwangerschaftskomplikationen auftreten. Gemeinsamkeiten dieser Schwangerschaftskomplikationen sind ein erhöhter Resistenzindex und ein gestörter Dopplerfluss in der Ateria uterina.³¹ Wie bereits in einer Übersicht von 2013 durch Herse und Lamarca diskutiert wurde, ist der AT1-AA ein agonistischer Antikörper, der eine AT1-R-Signaltransduktion ähnlich dem Ang II aktiviert. Es kommt zur Aktivierung des MAPK/ERK-Signalweges, der AP-1 und NF-kb-Bindungsstelle und dem *tissue factor*.^{32, 33} Weiterhin ist bekannt, dass der AT1-AA den *plasminogen*

activator inhibitor-1 (PAI-1), einen wichtigen physiologischen Inhibitor des Plasminogens, in Trophoblasten aktiviert.³⁴ Die Invasivität von Trophoblasten ist nach Stimulation mit AT1-AA vermindert.³⁵ PAI-1 ist ebenfalls in präeklampsischen Plazenten hochreguliert, was zu einer fibrinolytischen Aktivität führt. Diese ist bei der Degradation der extrazellulären Matrix durch Trophoblasten wichtig.³⁶ Wie durch Shah diskutiert und an trächtigen Ratten bestätigt werden konnte, scheint der AT1-AA einen synergistischen Effekt zu Ang II zu haben und somit die Sensitivität zu Ang II in präeklampsischen Frauen zu erhöhen.^{20, 37} Außerdem weisen trächtige Mäuse, welche mit AT1-AA infundiert wurden, klare präeklampsische Symptome auf. Neben erhöhten Blutdruck und Albuminurie kommt es hier zu erhöhten sFlt1- und löslichen Endoglinspiegeln, welches beides Indikatoren für eine gestörte plazentare Angiogenese sind.³⁸ Es wurde kürzlich beschrieben, dass die AT1-AA in der Präeklampsie durch einen bestimmten B-Zelltyp, den B1aB-Zellen, produziert werden könnten.³⁹ Für die B-Zellreifung und deren IgG-Produktion sind diverse Kostimulatoren und CD4-positive *T helper*-Zellen notwendig.⁴⁰ Dieser Austausch zwischen den Zellen kann durch Inhibition des CD20-Rezeptors an der Zellwand von B-Zellen gestört werden, was in einer Interventionsstudien mit einem Rattenmodell für Präeklampsie getestet wurde.^{41, 42} In diesem *reduced uterine perfusion pressure* (RUPP)-Rattenmodell konnte der präeklampsieähnliche Phänotyp gelindert werden. Ein monoklonaler CD20-Antikörper (Rituximab) war in der Lage die B-Zellpopulation und damit einhergehend die AT1-AA-Produktion und den Blutdruck zu senken. Ebenso führte ein Transfer von CD4-positiven T-Zellen, isoliert aus RUPP-Ratten, zu einem präeklampsischen Phenotyp in trächtigen Ratten mit Hypertension, erhöhten inflammatorischen Zytokinen wie tumor necrosis factor α (TNF- α) und Interleukin (IL)-6 und einer AT1-AA-Produktion.⁴³

1.3 Cytochrom P450-System

Das Cytochrom P450 (CYP)-System besteht aus einer Vielzahl an Epoxygenasen, welche in verschiedenen Subfamilien und Untergruppen klassifiziert sind. Sie katalysieren eine Monooxygenierung der Kohlenstoffkette der Arachidonsäure (AA, *arachidonic acid*). Die AA ist eine mehrfach ungesättigte Omega-6 Fettsäure und wird durch die Phospholipase A2 (PLA2) aus den Lipiden des *Phospholipidbilayers* der Zellmembran herausgelöst. AA werden durch Cyclooxygenasen (COX),

Lipoxygenasen (LOX) und CYP-Enzymen zu verschiedenen biologisch aktiven Metaboliten, den Eicosanoiden, oxygeniert. Der dritte Weg der Eicosanoid-Bildung, katalysiert durch die CYP-Enzyme, ist erst seit jüngster Vergangenheit im Fokus der Wissenschaft. Erst Jahre nachdem die COX- und LOX-Wege charakterisiert wurden, konnte 1981 das erste Mal die katalytische Wirkung von CYP-Enzymen gezeigt werden.⁴⁴⁻⁴⁶ Die biologische Aktivität der CYP-Enzyme beschränkt sich zwar hauptsächlich auf zwei verschiedene Reaktionen, die Hydroxylierung und die Epoxydation, bringt jedoch aufgrund der Vielzahl der Enzyme und der breiten Substratspezifität eine hohe Anzahl an biologisch aktiven Produkten hervor. Hauptmetabolite sind hierbei die Hydroxyeicosatetratriensäuren (HETE) und die Epoxyeicosatetratriensäuren (EET), welche jeweils in verschiedenen Regioisomeren auftreten. EET können weiterhin durch die lösliche Epoxyhydrolase (sEH) zu den Dihydroxyeicosatetratriensäuren (DHET) abgebaut werden (siehe Abb. 1). Zwischen dem RAS und dem Cytochrom P450 System besteht eine Interaktion. So konnte gezeigt werden, dass in renalen Mikrogefäßen die Synthese von 20-HETE durch Ang II stimuliert wird.⁴⁷ Weiterhin ist Ang II durch die Herunterregulation der Epoxygenasen und Aktivierung der sEH für die Verminderung der EET und deren Umsetzung zu DHET verantwortlich.^{48, 49} Ebenfalls die Freisetzung der AA aus der Zellmembran wird durch die Ang II-induziert Stimulation von PLA2 begünstigt.⁵⁰ Diese Aktivierung ist AT2-R vermittelt.⁵¹ EET vermitteln antihypertensive und organprotektive Mechanismen und sind im vaskulären Bereich der häufigste *endothelium-derived hyperpolarizing factor* (EDHF).⁵² Weiterhin schützen sie vor Zell- und Organschäden durch ihre antiinflammatorische und antiapoptotische Wirkung.^{53, 54} Vasodilatation wird von EET durch Aktivierung der *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) oder Modulation anderer agonistisch wirkender Mechanismen in Endothelzellen induziert.⁵⁵⁻⁵⁷ Durch die COX-Enzyme und die Thromboxansynthase kann das 5,6-EET auch zu einem atypischen Thromboxan (Thromboxan-Analog) umgesetzt werden, welches im Gegensatz zu den EET vasokonstriktische Eigenschaften aufweist. EET unterstützen das Wachstum von Endothelzellen, wohingegen Migration von glatten Gefäßmuskelzellen (VSMC, *vascular smooth muscle cell*) inhibiert wird, womit sich ein klarer Zusammenhang zu dem Gefäßumbau (*spiral artery remodeling*) aufzeigt.⁵⁸ Unterschiedliche Tiermodelle zeigen ebenfalls, dass Hypertonie und Endorganschädigung mit EET-Inhibierung/Verlust einhergehen.⁵⁹⁻⁶¹ Ein weiterer Wirkungsbereich von EET und

DHET ist die Verstärkung von hypoxieinduzierten Antworten, wie die Expression von *hypoxia-inducible factor-1alpha* (HIF-1 α).⁶²

CYP-Enzyme können neben der AA (Omega-6 Fettsäure) auch die mehrfach ungesättigten Omega-3 Fettsäuren metabolisieren. Die wichtigsten Vertreter sind hierbei Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA). Die EPA kann die AA in den Phospholipiden der Zellmembran ersetzen und wird von den CYP-Enzymen bevorzugt metabolisiert. Hierbei entstehen Epoxyeicosatetraensäuren (EETeTr) in ebenfalls verschiedenen Regioisomeren. Die DHA werden zu den Epoxydocosapentaensäuren (EDP) metabolisiert. Fischreiche Nahrung, Fischöl und daraus abgeleiteten Präparate wie Omacor oder Eye-Q enthalten große Mengen an EPA und DHA. Die Einnahme solcher Nahrung oder Präparate führt somit zu einer Verschiebung der Metabolitenbildung. Klinische und epidemiologische Studien haben gezeigt, dass eine sehr fischreiche Ernährung oder auch Nahrungsergänzung durch EPA/DHA die Mortalität von kardiovaskulären Erkrankungen reduziert.^{63, 64}

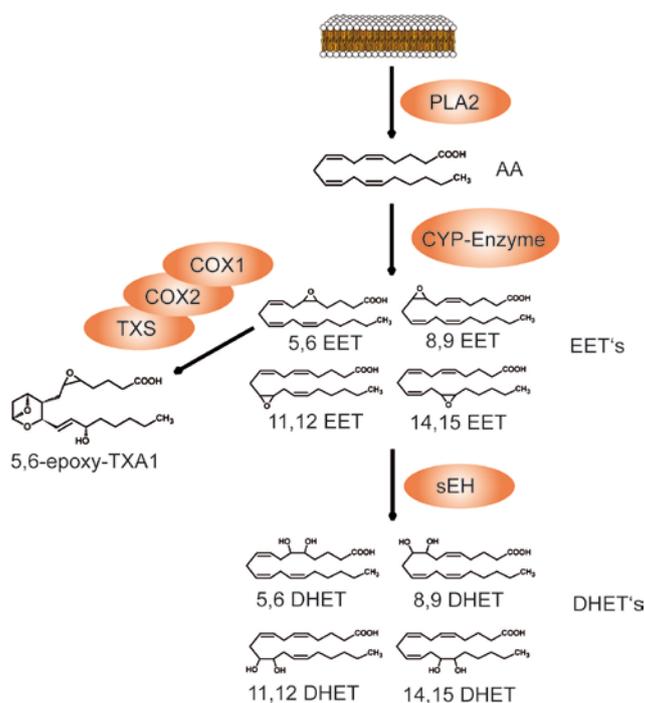


Abb. 1: Cytochrom P450-System.

Die Arachidonsäure (AA) wird durch die Phospholipasen aus der Membran gelöst und durch die CYP-Enzyme zu entsprechenden Epoxyeicosatetraensäuren (EET) umgebaut. Die lösliche Epoxy-Hydrolase (sEH) hydrolysiert die EET zu den entsprechenden Dihydroxy-eicosatetraensäuren (DHET). 5,6 EET kann durch die Cyclooxygenasen und Thromboxansynthase zu dem Thromboxan-Analog umgebaut werden.

1.3.1 Cytochrom P450-System und Schwangerschaft

Die CYP-Metabolite tragen entscheidend zu der Anpassung der maternalen Zirkulation an die Schwangerschaft bei. Außerdem sind sie maßgeblich an der Steuerung der Blutzufuhr der uteroplazentaren Einheit beteiligt. Die Spiegel der verschiedenen CYP-Metabolite wurden in den verschiedenen Kompartimenten der uteroplazentaren Einheit untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die Hauptkomponente das 5,6-EET darstellt.⁶⁵ Die EET- und DHET-Level im Urin, sowie die Synthese von EET in der Niere ist während der Schwangerschaft erhöht und steigert sich weiterhin bei schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruckerkrankungen.^{66, 67} In dem RUPP Rattenmodell, in dem durch chronische Reduktion des uterinen Perfusionsdruckes Symptome der Präeklampsie induziert werden, ist die Produktion von 20-HETE im Kortex der Niere erhöht. Eine Blockierung der CYP-Enzyme führt hier zu einer Verbesserung der Symptome.⁶⁸

1.4 Tiermodelle

Tiermodelle in der Erforschung von komplexen Pathologien der Schwangerschaft sind unabdingbar, führen aber auch einige Risiken mit sich, welche Raum für Fehlinterpretationen schaffen. Die Plazenta ist evolutionär betrachtet das Organ mit der größten Vielfalt, was dazu führt, dass es kein Tiermodell gibt, was die humane Plazentation exakt beschreibt.⁶⁹ Generell lassen sich jedoch nicht alle Mechanismen *in vitro* untersuchen, auch wenn in den letzten Jahren eine Vielzahl an Zellkulturmodellen beschrieben wurden.⁷⁰⁻⁷⁴ Gerade eine komplexe Erkrankung wie die Präeklampsie, welche sich in der uteroplazentaren Einheit manifestiert und auf das gesamte System der Mutter translatiert, benötigt einen ebenso komplexen Organismus mit einem geschlossenen Blutkreislauf. Zudem lässt sich gewöhnlich nur humanes Patientenmaterial zum Zeitpunkt der Entbindung gewinnen, wobei dann die Präeklampsie meistens auf dem Höhepunkt ihrer Ausprägung ist. Zum Zeitpunkt der Entstehung oder der frühen Entwicklung der Pathologie (z.B. erstes Trimester der Schwangerschaft) lässt sich jedoch kaum Plazentamaterial gewinnen. Hier bieten sich klare Vorteile des Tiermodelles. Außerdem ist die Schwangerschaft in Nagetieren wie Ratte und Maus mit ca. 21 Tagen wesentlich kürzer, womit sich Zusammenhänge in wesentlich kürzerer Zeit untersuchen lassen. Ein weiterer Vorteil

ist, dass bei Verwendung von Inzuchtstämmen die genetische Vielfalt wegfällt, was zu einer deutlichen Verbesserung der Reproduzierbarkeit von Experimenten führt.⁷⁵ Allerdings gibt es zwischen der humanen Plazenta und der von Ratten und Mäusen einige Unterschiede, welche unbedingt beachtet und in die Interpretation der Daten miteinbezogen werden sollte. Zwar haben Mensch wie Nager eine hämochoriale Plazenta, jedoch ist die Invasion der Trophoblasten bei Mäusen geringer als die im Menschen.⁷⁶ Die Invasivität von Trophoblasten steigert sich von der Maus über die Ratte zum Menschen. In Abhängigkeit von der Trophoblasteninvasion bildet sich die Dezidua aus. Trophoblasten wandern in das Endometrium ein und regulieren die Transformation zur Dezidua, wodurch die humane Plazenta tief im Uterus verankert wird. Die Maus- und Rattenplazenta ist eher oberflächlich aufgesetzt und an das mesometriale Dreieck gebunden, einer Endometriumstruktur, die sich bei diesen Tieren während der Schwangerschaft ausbildet. Der außerordentlich hohe Austausch von Sauerstoff und Nährstoffen findet in der humanen Plazenta in den villösen Zotten, in der Mausplazenta hingegen in der Labyrinthzone statt. Generell findet man jedoch dieselben Zelltypen mit denselben Funktionen in den Geweben von Mensch, Ratte oder Maus wieder. Infiltrierende Trophoblasten, welche für den Arterienumbau verantwortlich sind, *natural killer* (NK) Zellen und Makrophagen, welche durch Zytokinsekretion das immunologische Milieu regulieren und T-Zellen. Für allumfassende Studien von Faktoren, welche die Pathologie der Präeklampsie beeinflussen, ist es von großer Bedeutung, dass mehrere Untersuchungsmethoden und Techniken miteinander kombiniert werden und somit die Gesamtheit betrachtet wird. Zur Untersuchung der Präeklampsie wurden bereits einige Ratten- und Mausmodelle beschrieben. Die Induktion von Präeklampsieähnlichen Symptomen wird hier durch unterschiedliche Mechanismen hervorgerufen. Gerade für Mäuse liegen eine Vielzahl an genetischen Modellen vor, wie z.B. das CBA/DBA-, STOX-, COMT^{-/-}- und das BPH/5-Modell.⁷⁷⁻⁸⁰ Ein präeklampsieähnlicher Phänotyp wurde auch durch Gabe von Endotoxinen (*lipopolysaccharides* (LPS)), also einen inflammatorischen Stimulus, in Ratten induziert.^{81, 82} Die zirkulatorischen Faktoren sFlt1 und die AT1-AA, welche in der Translation des uteroplazentaren zum maternalen Syndrom eine bedeutende Stellung einnehmen, wurden ebenfalls zur Induktion des präeklampsieähnlichen Phänotyps bei Maus und Ratte verwendet.^{83, 84} Die von unserer Gruppe am häufigsten untersuchten Modelle sind das *reduced uterine perfusion pressure* (RUPP)-Rattenmodell und das transgenen Rattenmodell.

Im RUPP-Rattenmodell werden Symptome der Präeklampsie mittels Ligation der Aorta und der uterinen Arterien mechanisch am Tag 14 der Trächtigkeit induziert.⁸⁵⁻⁸⁸ Wie bereits in Abschnitt 3.2.1 beschrieben, wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe LaMarca (Jacksson, USA) durch uns in diesem Modell einige Interventionsstudien durchgeführt, wodurch die Involvierung des AT1-AA in die Pathologie der Präeklampsie beschrieben wurde.^{37, 42, 43, 89-95} Das transgene Rattenmodell basiert auf der Expression von humanem Angiotensinogen und humanem Renin in der uteroplazentaren Einheit des Muttertieres. Hierbei stammt das humane Angiotensinogen aus dem Weibchen (transgen für das humane Angiotensinogen), welches während der Trächtigkeit einen präeklampsieähnlichen Phänotyp ausbildet, wenn es mit einem Männchen verpaart wird, welches transgen für das humane Renin ist. Der präeklampsieähnliche Phänotyp charakterisiert sich durch schnell ansteigenden Blutdruck ab Tag 12 der Trächtigkeit einhergehend mit einer Albuminurie und intrauteriner Wachstumsrestriktion (IUGR) der Feten. Weiterhin ist in diesem Modell der AT1-AA in der maternalen Zirkulation zu detektieren und es treten artherosklerotische Veränderungen in den Spiralarterien des Plazentabettes auf.⁹⁶ Dieses Modell wurde zunächst bei Mäusen etabliert und beschrieben, dann aber auf die Ratte übertragen, da es sich als ein geeigneteres Modell erwiesen hat.^{97, 98}

1.5 Zielstellung

Trotz umfangreicher Forschung auf dem Gebiet der Präeklampsie ist es bislang noch nicht gelungen die Mechanismen zur Entstehung der Pathologie vollends zu verstehen. Ebenso die Translation von dem uteroplazentaren zu dem maternalen Syndrom ist weitestgehend unklar. Diese vorliegende Arbeit soll einige grundlegende Arbeiten unserer Arbeitsgruppe beschreiben und die dargestellten Faktoren und Mechanismen in einen Zusammenhang stellen. Fokus hierbei soll auf Systeme gelegt werden, die bei Bluthochdruck- und kardiovaskulären Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen, wie das RAS, das CYP-System und die Adipozytokine. Das transgene Rattenmodell mit präeklampsieähnlichen Phenotyp soll hier ebenfalls herangezogen werden und das Zusammenspiel aus uteroplazentarer Einheit und maternaler Zirkulation eingehender diskutiert werden. Hierdurch soll ein Beitrag zum besseren Verständnis der Pathologie der Präeklampsie erbracht werden.

2 Ausgewählte Originalarbeiten

2.1 Dysregulationen in der humanen präeklampsischen Schwangerschaft

2.1.1 Dysregulation des zirkulierenden und gewebespezifischen Renin-Angiotensin-Systems in der Präeklampsie (*Dysregulation of the circulating and tissue-based Renin-Angiotensin-System in preeclampsia*)

Herse F, Dechend R, Harsem NK, Wallukat G, Janke J, Qadri F, Hering L, Muller DN, Luft FC, Staff AC. *Dysregulation of the circulating and tissue-based Renin-Angiotensin-System in preeclampsia*. Hypertension. 2007 Mar;49(3):604-11. PMID: 17261642

<http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.0000257797.49289.71>

Es wurde bereits beschrieben, dass das Renin-Angiotensin-System (RAS) als eines der Hauptmechanismen der Blutdruckregulation an der Präeklampsie beteiligt ist. So wurden die AT1-AA in der Zirkulation von präeklampsischen Frauen und ein dysreguliertes uteroplazentares RAS beschrieben.^{24, 29} Jedoch waren die relativen Beiträge des zirkulierenden RAS und des gewebespezifischen uteroplazentaren RAS nicht näher untersucht worden. Wir haben deshalb die Hypothese verfolgt, dass das gewebespezifische uteroplazentare RAS in der Präeklampsie dysreguliert ist. In dieser vorliegenden Arbeit wurden Genexpressionsstudien und immunohistochemische Analysen an Plazenten und Dezidugeweben von präeklampsischen Frauen und gesunden Schwangeren durchgeführt. Des Weiteren haben wir auch in dieser Kohorte die Plasma-Renin Aktivität und die zirkulierenden agonistischen AT1-AA untersucht. Die Genexpression des AT1 -Rezeptorgens war in in der präeklampsischen Dezidua im Vergleich zu Kontrollen etwa 5-fach erhöht. Wir fanden auch, dass die AT1-AA nicht nur in der Zirkulation der präeklampsischen Mütter detektierbar waren, sondern auch in der Zirkulation der Feten. Die Plasma-Renin Aktivität war ebenfalls dysreguliert. Hier wurde eine Erniedrigung der Aktivität in etwa um den Faktor 3 in der Präeklampsiegruppe gegenüber der Kontrollgruppe gemessen. Die Genexpressionen der weiteren RAS-Komponenten war zwar nicht pathologisch dysreguliert, jedoch war ein großer Unterschied zwischen dem mütterlichen Gewebe der uteroplazentaren Einheit, der Dezidua, und dem fetalen Teil, der Plazenta, zu erkennen. So waren Renin (35-fach), ACE (2,9-fach) und Angiotensinogen (8,9-fach) höher in der Dezidua als in der Plazenta exprimiert,

während der AT1-R 10-fach höher in der Plazenta exprimiert wurde. Die aus dieser Arbeit resultierenden Ergebnisse verdeutlichen die Bedeutung des uteroplazentaren RAS in der Präeklampsie und auch in der normal verlaufenden Schwangerschaft. So kommt es in der Präeklampsie zu einer Kombination der erhöhten AT1-R-Expression in der Dezidua, der schwangerschaftsspezifischen RAS-Expression resultierend in einer hohen dezidualen Angiotensin II-Produktion und den zirkulierenden AT1-Autoantikörpern.

Die in dieser Studie (Abschnitt 2.1.1) durchgeführten *Microarray*-Analysen der Plazenta zeigten ebenfalls, dass die Expression von Leptin in der präeklampsischen Plazenta erhöht ist. Ein entscheidender Risikofaktor für die Bluthochdruckerkrankung generell und der Präeklampsie im Besonderen ist Adipositas. So steigt das Risiko für Präeklampsie in Korrelation zum *body mass index* (BMI) und vermehrten Fettgewebe.⁹⁹ Fettgewebe besteht zum größten Teil aus Adipozyten und ist ein stark endokrines Gewebe, da es eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren, Hormonen und Zytokinen produziert und ausschüttet.^{100, 101} Darunter befinden sich Regulatoren des Blutdruckes wie Angiotensinogen und klassische „Adipozytokine“ wie Leptin und Adiponektin.¹⁰² Adiponektin, sein Rezeptor und Leptin sind in der Plazenta exprimiert. Der Leptimetabolismus bzw. die Leptinfunktion sind in die Pathologie des schwangerschaftsinduzierten Diabetes mellitus involviert.^{103, 104} Aus diesen Gründen haben wir uns näher mit den zirkulierenden und uteroplazentaren Adipozytokinkonzentrationen in der Präeklampsie beschäftigt, was Gegenstand der Arbeit in Abschnitt 2.1.2 ist.

2.1.2 Zirkulierende und uteroplazentäre Adipozytokin-Konzentrationen in der Präeklampsie (*Circulating and uteroplacental adipocytokine concentrations in preeclampsia*)

Herse F, Youpeng B, Staff A, Yong-Meid J, Dechend R, Rong Z. *Circulating and Uteroplacental Adipocytokine Concentrations in Preeclampsia.* *Reprod Sci.* 2009 Jun;16(6):584-90. PMID: 19276406

<http://dx.doi.org/10.1177/1933719109332828>

Zusammenfassend aus dieser Arbeit lässt sich beschreiben, dass der BMI im ersten Trimester der Schwangerschaft der robusteste anthropometrische Prädiktor für Präeklampsie ist, wohingegen der BMI zum Ende der Schwangerschaft durch das Wachstum des Feten und der Plazenta mitbeeinflusst wird.¹⁰⁵ Die Adiponektinkonzentrationen im Plasma korrelieren mit dem BMI.¹⁰⁶ In der vorliegenden Arbeit haben wir ebenfalls im Plasma von schwangeren Frauen mit einer unauffälligen Schwangerschaft aus dem ersten, zweiten und dritten Trimester, gesunde nicht-schwangere Frauen und Frauen mit Präeklampsie die Adiponektin-

und Leptinkonzentrationen mittels *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untersucht. Weiterhin haben wir die Expression von Adiponektin und Leptin mittels *real-time* RT-PCR in Fettgewebe, Dezidua und Plazenta von schwangeren Frauen analysiert. Wir konnten zeigen, dass während des Schwangerschaftsverlaufes im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen die Adiponektinkonzentrationen im Plasma stetig zu nehmen. Präeklampsische Frauen wiesen dahingegen signifikant erniedrigte Konzentrationen auf. Bei Frauen mit normalen Schwangerschaftsverlauf korrelierten die Adiponektinkonzentrationen mit dem vorschwangerschafts BMI, was in präeklampsischen Frauen nicht der Fall war. Die Leptinkonzentration ist im dritten Trimester der Schwangerschaft im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen erniedrigt, wohingegen präeklampsische Frauen erhöhte Plasma-Leptinkonzentrationen aufweisen. Die Leptinexpression im Fettgewebe und in der Plazenta ist in präeklampsischen Frauen ebenfalls erhöht im Vergleich zu gesunden schwangeren Frauen. Die aus dieser Arbeit resultierenden Ergebnisse weisen auf eine Beteiligung des Fettgewebes und der Adipozytokine Leptin und Adiponektin an der Pathologie der Präeklampsie hin.

Die Leptinkonzentration im Plasma korrelieren mit der Expression von CYP24A1, einer Epoxygenase aus dem CYP-System.¹⁰⁷ Des Weiteren ist auch Ang II als Aktivator der PLA2 beschrieben worden was zu einer vermehrten Freisetzung der AA führt.¹⁰⁸ Die AA ist das Substrat für die Epoxygenasen und der sEH aus dem CYP-System welche die EET und DHET bilden.¹⁰⁹ In der bereits beschriebenen Arbeit „Dysregulation des zirkulierenden und gewebespezifischen Renin-Angiotensin-Systems in der Präeklampsie“ haben wir in den Genexpressionsstudien an uteroplazentarem Gewebe neben der Hochregulation des AT1-R ebenfalls eine Hochregulation des CYP Familie 2J Polypeptid 2 (CYP2J2) gefunden, welche in Korrelation zu der Expression des AT1-R stand. Wir haben diesen Aspekt zum Anlass genommen und das CYP-System und insbesondere das CYP2J2 und deren Beteiligung an der Pathologie der Präeklampsie im Weiteren analysiert.

2.1.3 CYP2J2-Expression und zirkulierende epoxyeicosanoide Metabolite in der Präeklampsie (*CYP2J2 expression and circulating epoxyeicosatrienoic metabolites in preeclampsia*)

Herse F, Lamarca B, Hubel CA, Kaartokallio T, Lokki AI, Ekholm E, Laivuori H, Gauster M, Huppertz B, Sugulle M, Ryan MJ, Novotny S, Brewer J, Park JK, Kacik M, Hoyer J, Verlohren S, Wallukat G, Rothe M, Luft FC, Muller DN, Schunck WH, Staff AC, Dechend R. *CYP2J2 Expression and Circulating Epoxyeicosatrienoic Metabolites in Preeclampsia*. *Circulation*. 2012 Dec 18;126(25):2990-9. PMID: 23155181

<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.127340>

Wie bereits beschrieben, ist die Präeklampsie eine Multisystemerkrankung der Schwangerschaft mit Ursprung in der uteroplazentaren Einheit. In dieser vorliegenden Arbeit haben wir aufgegriffen, dass CYP-abhängige Eicosanoide vaskuläre Funktion, Entzündung und Angiogenese, welche in der Pathologie der Präeklampsie mechanistisch wichtig sind, regulieren.¹⁰⁹ Des Weiteren ist die Präeklampsie mit einer erhöhten DHET-Ausscheidung im Urin assoziiert und EET wurden als das Hauptprodukt im Arachidonsäuremetabolismus in der Plazenta, der Dezidua, den Trophoblasten und dem Myometrium beschrieben.^{65, 66, 110} Dies führte uns zu der Hypothese, dass die Präeklampsie mit einer erhöhten CYP

Epoxygenaseexpression und damit einhergehender vermehrter EET/DHET Produktion assoziiert ist. Mittels Genexpressionsstudien wurde das CYP2J2 in der präeklampsischen Plazenta und Dezidua als erhöht exprimiert detektiert. In beiden Geweben war CYP2J2 in den Trophoblasten lokalisiert. Die CYP2J2-Metabolite 5,6-EET und 14,15-EET sowie die 5,6-DHET und 14,15-DHET waren in der Zirkulation von präeklampsischen Frauen im Vergleich zu gesunden Schwangeren ab dem zweiten Trimester der Schwangerschaft erhöht. Die Stimulation einer Trophoblastenzelllinie mit dem proinflammatorischen Faktor $\text{TNF}\alpha$ führte zu einer verstärkten Expression von CYP2J2. In zwei unabhängigen Rattenmodellen der Präeklampsie führte eine Intervention mit dem CYP Epoxygenaseinhibitor N-(methylsulfonyl)-2-(2-propynyloxy)-benzenehexanamide (MsPPOH) zu einer Verbesserung des präeklampsieähnlichen Phänotyps. Das 5,6-EET kann weiterhin zu einem Thromboxanalog, dem 5,6-Epoxy-Thromboxan (5,6-epTXA1), metabolisiert werden. In einem Zellkulturmodell mit schlagenden neonatalen Rattenkardiomyozyten führte eine Inkubation von 5,6-EET zu einem positiv chronotropen Effekt, welcher durch das Blocken der Thromboxansynthese unterbunden werden konnte. Diese Daten legen nahe, dass die Dysregulation des CYP2J2 an der Pathogenese der Präeklampsie beteiligt ist und die daraus resultierende vermehrte Freisetzung von Metaboliten das uteroplazentare Syndrom in ein maternales Syndrom translatiert.

Die in dieser Arbeit zur Untersuchung der Intervention verwendeten Rattenmodelle mit präeklampsieähnlichen Phänotyp (RUPP und transgene Rattenmodell) beruhen beide auf verschiedenen Ursachen und wurden bereits in der Einleitung näher erläutert. Im Weiteren werden zwei Originalarbeiten vorgestellt, welche dem für das RAS transgenen Rattenmodell zu Grunde liegen. In diesem Modell wird eine weibliche SD-Ratte, welche transgen das humane Angiotensinogen trägt, mit einer männlichen Ratte verpaart, welche transgen für das humane Renin ist. Diese Ratte entwickelt während der Schwangerschaft präeklampsische Symptome wie Bluthochdruck und Albuminurie. In diesem Muttertier ist ebenfalls der AT1-AA präsent, welcher bereits in der Originalarbeit in Abschnitt 2.1.1 „Dysregulation des zirkulierenden und gewebespezifischen Renin-Angiotensin-Systems in der Präeklampsie“ beschrieben wurde. Interessanterweise sind diese Symptome nicht ausgeprägt, wenn die humanen Transgene in den Geschlechtern vertauscht vorliegen (weibliche SD-Ratte transgen für das humane Renin, männlichen Ratte transgen für das humane Angiotensinogen).

2.2 Dysregulationen in einem Rattenmodell mit präeklampsieähnlichem Phänotyp

2.2.1 Effekte des zirkulierenden und plazentaren Angiotensin II bei der Rattenschwangerschaft (*Effects of circulating and local uteroplacental angiotensin II in rat pregnancy*)

Hering L*, **Herse F***, Geusens N, Verlohren S, Wenzel K, Staff AC, Brosnihan KB, Huppertz B, Luft FC, Muller DN, Pijnenborg R, Cartwright JE, Dechend R. *Effects of circulating and local uteroplacental angiotensin II in rat pregnancy*. Hypertension. 2010 Aug;56(2):311-8. PMID: 20530295

*gleichgestellte Autorenschaft

<http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150961>

In dieser vorliegenden Arbeit wurde anhand des transgenen Präeklampsie-Rattenmodells (PE), der umgekehrten Transgenkreuzung (*opposit cross*; OC) sowie eines weiteren Rattenmodells, bei dem eine Ang II-Infusion während der Schwangerschaft vorgenommen wurde, der Einfluss von Ang II auf die

Trophoblasteninvasion, die Blutdruckentwicklung und die Albuminurie untersucht. Zunächst wurden die auftretenden Ang II-Level in der Zirkulation und dem uteroplazentaren Gewebe untersucht. In dem Modell mit Ang II-Infusion waren lediglich in der Zirkulation erhöhte Ang II-Level detektiert worden. In der PE-Gruppe wurden erhöhte Ang II-Level in der Zirkulation und der Plazenta gemessen und in der OC-Gruppe lediglich in der Plazenta, aber nicht in der Zirkulation. Erhöhter Blutdruck und eine Albuminurie wurden analog zu der Ang II-Konzentration nur in den Modellen mit hohen Ang II-Spiegeln in der Zirkulation detektiert. Eine verstärkte Ang II gesteuerte Trophoblasteninvasion wurde wiederum nur in der PE- und der OC-Gruppe, wo es auch zu hohen Ang II-Konzentrationen im Gewebe kam, gefunden. Korrespondierend dazu konnte in *in vitro* Studien anhand von humanen, aus Plazenta isolierten Trophoblasten und an villösen Plazentaexplants aus dem ersten Trimester gezeigt werden, dass Ang II zu einer erhöhten Migration, Invasion und Motilität der Trophoblasten führt.

2.2.2 Erhöhtes Angiotensin II im mesometrialen Dreieck des transgenen Rattenmodells für Präeklampsie (*Increased angiotensin II in the mesometrial triangle of a transgenic rat model of preeclampsia*)

Brosnihan KB, Hering L, Dechend R, Chappell MC, **Herse F**. *Increased angiotensin II in the mesometrial triangle of a transgenic rat model of preeclampsia*. Hypertension. 2010 Feb;55(2):562-6. PMID: 20038747

<http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145656>

Trotzdem in beiden Rattenmodellen, dem PE und dem OC, dieselben Transgene (humanes Angiotensinogen und humanes Renin) vorliegen, kommt es lediglich, wie in Abschnitt 2.2.1 beschrieben, in der PE-Gruppe zu Blutdruckanstieg und einer Albuminurie. Dies scheint durch die unterschiedlichen Ang II-Konzentrationen in der Zirkulation begründet zu sein. Dieser Aspekt sollte hier näher untersucht werden, weshalb die lokalen Ang I und Ang II-Peptide in der uteroplazentaren Einheit analysiert wurden. Hierbei stellte sich heraus, dass lediglich in der PE-Gruppe signifikant erhöhte Ang I- und Ang II-Level im mesometrialen Dreieck, dem mütterlichen Teil der Plazenta, und der Plazenta auftraten. Ang II war ebenfalls in der OC-Gruppe in der Plazenta erhöht, jedoch nicht im mesometrialen Dreieck. Legt man das Augenmerk auf die Expression der beteiligten Transgene humanes Angiotensinogen und humanes Renin, so stellt man fest, dass das Substrat Angiotensinogen der limitierende Faktor sein muss, welcher die unterschiedlichen Ang I- und Ang II-Konzentrationen bestimmt. Von dem Rattenangiotensinogen und Rattenrenin, welches als Hintergrund in der Ratte vorliegt, aber nicht mit den humanen Transgenen kreuzreagieren kann, war lediglich das Rattenrenin in der PE- sowie der OC-Gruppe leicht dysreguliert. Diese Arbeit legt nahe, dass das AngII, welches im mütterlichen Teil, dem mesometrialen Dreieck, gebildet wird an der Pathologie der Präeklampsie beteiligt ist.

3 Diskussion

Die Präeklampsie steht schon seit langer Zeit im Fokus der Wissenschaft. Nicht nur Forscher aus dem Bereich der Geburtsmedizin, sondern auch aus anderen Disziplinen sind an der Untersuchung dieses multifaktoriellen Syndroms beteiligt. Da sowohl Mutter wie Kind ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen im späteren Leben aufweisen,⁶ ist ebenfalls ein hoher sozioökonomischer Druck vorhanden entsprechende Therapien zu entwickeln. Zudem wird dem Aspekt der fetalen Programmierung als Konsequenz der Präeklampsie immer mehr Bedeutung zugestanden. Zur Entstehung der Präeklampsie gibt es eine Vielzahl an Hypothesen und Theorien,¹¹¹ jedoch hat noch kein Ansatz zur endgültigen Aufklärung und damit zur kausalen Therapie von Mutter und Kind geführt. Wie in der Einleitung bereits beschrieben, findet sich eine breite Akzeptanz gegenüber einer Entwicklung in drei Stufen, worin das uteroplazentare Syndrom und seine Translation zu einem maternalen Syndrom durch zirkulatorische Faktoren eine zentrale Rolle spielen.¹⁰ So ist die Präeklampsie verbunden mit einer gestörten Trophoblastenfunktion und einem abnormalen Umbau der maternalen Spiralarterien, was zu einer gestörten Perfusion der Plazenta und weiterhin zur Expression und Freisetzung von einem oder mehreren Faktoren in die maternale Zirkulation führt.^{11, 112} Diese veränderte Ausschüttung von zirkulierenden Faktoren begründet die bereits beschriebenen maternalen klinischen Symptome wie Hypertension und Albuminurie.¹¹³ In Anlehnung an dieses Stufenmodell sind mehrere Faktoren beschrieben worden, wie z.B. Trophoblastenfragmente, das sFlt1 oder das lösliche Endoglin.^{83, 114, 115} Diese Arbeit befasst sich ebenfalls mit der Dysregulation in der präeklampsischen uteroplazentaren Einheit und der einhergehenden Ausschüttung von zirkulierenden Faktoren. Hier wurden vornehmlich das RAS und das CYP-System beleuchtet und ein entsprechendes Rattenmodell charakterisiert und deren Therapierbarkeit behandelt.

In der in Abschnitt 2.1.1 behandelten Arbeit konnten wir zeigen, dass der AT1-R in der präeklampsischen Dezidua um den Faktor 5 erhöht exprimiert wurde im Vergleich zu Kontrollen. Des Weiteren konnten die AT1-AA in der maternalen und in der fetalen Zirkulation detektiert werden. In der maternalen Zirkulation kam es ebenfalls bei der Plasma-Renin Aktivität zu einer Dysregulation. Die Aktivität in der Präeklampsiegruppe entsprach nur ungefähr einem Drittel der Aktivität in der

Kontrollgruppe. Die Genexpressionen der weiteren RAS-Komponenten war zwar nicht pathologisch dysreguliert, jedoch war ein großer Unterschied zwischen dem mütterlichen Gewebe der uteroplazentaren Einheit, der Dezidua, und dem fetalen Teil, der Plazenta, zu erkennen. So waren beide Enzyme des Systems (Renin und ACE) sowie das Substrat Angiotensinogen höher in der Dezidua als in der Plazenta exprimiert. Der AT1-R war hingegen 10-fach höher in der Plazenta exprimiert. Dass die Plasma-Renin Aktivität in präeklampsischen Schwangeren erniedrigt ist, wurde bereits von anderen Gruppen in früheren Arbeiten gezeigt und von uns bestätigt.¹¹⁶ Während der normalen Schwangerschaft kommt es zu einem Anstieg der Plasma-Renin Aktivität, was nicht nur auf das erhöhte Angiotensinogen, sondern vielmehr auf den erhöhten Natriumbedarf der Frau während der Schwangerschaft zurückzuführen ist.^{117, 118} Interessanterweise ist die Aldosteronkonzentration in Korrelation zu der Plasma-Renin-Aktivität bei präeklampsischen Frauen erhöht.¹¹⁹ Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass Frauen die eine Präeklampsie entwickeln, in der Schwangerschaft eine erhöhte Sensitivität gegenüber Ang II zeigen. Während der normal verlaufenden Schwangerschaft ist die Sensitivität gegenüber Ang II stark erniedrigt im Vergleich zu nicht-schwangeren Frauen. Dieser Effekt ist während der Präeklampsie jedoch herabgesetzt.^{25, 120} Dies könnte auf der Tatsache beruhen, dass der AT1-R auf den Thrombozyten von präeklampsischen Frauen erhöht ist.¹²¹ In unserer Arbeit haben wir einen weiteren Faktor beschrieben, der zu einer erhöhten Ang II-Sensitivität führen könnte, die Hochregulation des AT1-Rs in der präeklampsischen Dezidua. In einer weiteren Arbeit konnten wir ebenfalls zeigen, dass die AT1-AA eine Auswirkung auf die Sensitivität gegenüber Ang II haben.³⁷ Hier konnten wir zeigen, dass die gleichzeitige Gabe von AT1-AA und Ang II in trächtige Ratten zu einer Erhöhung des Blutdruckes und zu einer Wachstumsrestriktion der Feten führt und somit die Existenz von autoimmunen-induzierten Rezeptoren unterstützt. In der in Abschnitt 4.1.1 beschriebenen Arbeit haben wir ebenfalls den Nachweis erbracht, dass die AT1-AA nicht nur in der Zirkulation der Mutter, sondern auch im Fetus detektierbar und aktiv sind. Eine weitere pathophysiologische Relevanz wurde nicht untersucht, jedoch lässt sich spekulieren, dass es zu einer ähnlichen Zellaktivierung kommt was bereits in anderen Arbeiten unserer und auch weiterer Gruppe beschrieben wurde. Hier wurde zumeist an Trophoblasten eine Aktivierung des MAPK/ERK-Signalweges, der AP-1 und NF- κ B-Bindungsstelle, des *tissue factor*, des PAI-1 und der NADPH Oxidase beschrieben.^{32-34, 122} Auch an

weiteren Zelltypen wurde gezeigt dass es zur Aktivierung des Kalziumsignalweges und zu chronotropen Effekten kommt.^{29, 123} Interessanterweise wurde bereits das RAS in Verbindung mit oxidativem Stress als möglicher Mechanismus für die im Uterus stattfindende Programmierung von späteren Erkrankungen postuliert.¹²⁴ Wir beschreiben mit den AT1-AA eine weitere mögliche Verbindung zwischen der Präeklampsie und des epidemiologisch ermittelten erhöhten Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen im späteren Leben. Dies wird auch bekräftigt durch unsere Arbeit von 2007, in der wir zeigen konnten, dass die AT1-AA auch noch ein Jahr nach Entbindung in präeklampsischen Frauen detektierbar sind.³⁰

Eine Problematik, welche generell bei Studien mit plazentarem oder deziduaem Gewebe auftritt, ist die der unterschiedlichen Gewinnung dieses Gewebes. In einer Studie von Shah wurde eine erhöhte Expression von Renin in der *Decidua vera* beschrieben, welche wir in der im Abschnitt 2.1.1 vorliegenden Arbeit zwar ebenfalls ermitteln, jedoch nicht als statistisch signifikant belegen konnten.²² Im Gegensatz zu der Studie von Shah et al, bei der Plazenten nach der Entbindung mikrodissiziert und *decidua basalis*, *chorionic villi*, und *Decidua vera* isoliert wurden, wurde in unserer Studie die Dezidua mittels speziell entwickelter Vakuumabsaugung des Plazentabettes gewonnen.¹²⁵ Diese Methode gewährleistet eine Probengewinnung aus einem Bereich der Dezidua, welcher während eines normalen Geburtsverlaufs, oder aber auch während eines Kaiserschnittes, in der Gebärmutter verbleibt. Wir untersuchten nur Gewebe, das im Rahmen von Kaiserschnitten gewonnen wurde, die vor Eintreten von Geburtsbestrebungen durchgeführt worden waren. Diese Wahl verhindert, dass es zu einer Aktivierung des Gewebes durch den undefinierten oxidativen Stress während der Geburt kommt.¹²⁶ Die großen Unterschiede, welche wir zwischen der Dezidua und der Plazenta für Renin, Angiotensinogen und ACE ermittelt haben, wurden auch von Shah et al beschrieben.¹²⁷ Hier konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Dezidua eine Hauptquelle für die Reninproduktion ist.

Teil der Arbeit aus Abschnitt 2.1.1 war ebenfalls eine Analyse von Plazenta mittels *microarray*. Hier wurden neben den ebenfalls in der Pathologie der Präeklampsie beschriebenen Genen für sFlt1, Endoglin und CRP^{83, 115, 128} auch Leptin als hochreguliert gefunden. Die Expression und Sekretion der Adipozytokine Adiponektin und Leptin wurden in der in Abschnitt 2.1.2 beschriebenen Arbeit eingehender untersucht. Hier konnten wir zeigen, dass die Adiponektinkonzentrationen während

des normalen Schwangerschaftsverlaufes ansteigen, wohingegen die Leptinkonzentrationen absinken. Dieser Effekt ist in der präeklampsischen Schwangerschaft gestört. Die Adiponektinkonzentrationen im Plasma der schwangeren Frauen korrelierten invers mit dem BMI, welcher vor der Schwangerschaft ermittelt wurde. Dieser Effekt wurde bereits beschrieben und durch unsere Arbeit bestätigt.¹⁰⁶ Wir konnten zeigen, dass in der präeklampsischen Schwangerschaft diese Korrelation nicht gegeben ist. Auch weitere Arbeiten konnten die Annahme bestärken, dass es einen Zusammenhang zwischen einer Hypoadiponektinomie und der Entwicklung einer Hypertonie in der Schwangerschaft gibt.^{129, 130} Die Leptinkonzentrationen im Plasma und mRNA Expression in der Plazenta wurden in präeklampsischen Frauen bereits als erhöht beschrieben.¹³¹⁻¹³³ Diesen Effekt konnten wir ebenfalls bestätigen. Darüber hinaus haben wir in der vorliegenden Arbeit ebenfalls den maternalen Teil der uteroplazentaren Einheit, die Dezidua, untersucht und konnten zeigen, dass hier eine deutlich hohe Expression von Leptin vorliegt. Ebenso kam es in Fettgewebe von präeklampsischen Frauen zu einer erhöhten Expression von Leptin. Unsere Daten weisen zusammenfassend darauf hin, dass das Fettgewebe und die uteroplazentare Einheit für die erhöhten Leptinkonzentrationen im Plasma von präeklampsischen Frauen verantwortlich sein könnten.

In der im Abschnitt 2.1.3 beschriebenen Arbeit haben wir ein weiteres System beschrieben, welches sich folgend der Hypothese, dass sich die Präeklampsie in der uteroplazentaren Einheit entwickelt und sich durch Translation im maternalen Syndrom manifestiert, beschreiben lässt. Wir konnten darlegen, dass es zu einer TNF α -induzierten CYP2J2-Hochregulation in Trophoblasten kommt und die Freisetzung von spezifischen Metaboliten (EET und DHET) in die Zirkulation der Mutter dadurch erhöht wird. Diese und weitere Folgemetabolite sind dazu befähigt chronotrope Effekte und die Aktivierung von kalziumaktivierenden Kaliumkanälen (KCa) auszulösen, welche hier als *in vitro*-Modelle zur Erforschung der kardiovaskulären Aktivierung gewählt wurden. Wie bereits beschrieben ist die Sensitivität gegenüber dem extrem vasoaktiven Peptids Ang II in der Präeklampsie erhöht.²⁵ In diesem Zusammenhang wurden ebenfalls schon die auftretenden AT1-AA und die Hochregulation des AT1-Rs diskutiert.^{37, 121, 134} Als weiteren Faktor führen wir nun die CYP-Metabolite, insbesondere das 5,6-EET und das daraus resultierende

5,6-epTXA1 an. In unserer Arbeit wurde deutlich gezeigt, dass ein synergistischer Effekt auf die Kontraktilität der Kardiomyozyten vorliegt, was die erhöhte Sensitivität bei der Präeklampsie erklären könnte. KCa modulieren das Membranpotential von Zellen und regulieren die kalziumabhängige Kontraktion, was sie zu wichtigen Mediatoren in der Regulierung des Blutdruckes machen. Tiermodelle und *single nucleotide polymorphism* (SNP)-Analysen haben dies bestätigt.¹³⁵ Eine Einbindung dieser Kanäle als Funktionsassays bei der Erforschung der Präeklampsie ist damit sinnvoll. Die KCa1.1 sind die am häufigsten exprimierten KCa in VSMC und sind bereits im Zusammenhang mit CYP-Metaboliten beschrieben worden.^{135, 136} In der hier vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, dass 5,6-EET zu einer thromboxanrezeptorvermittelten Erniedrigung der KCa1.1 Aktivität führte, was die Theorie stützt, dass die Inhibition von KCa zu einer Blockade des *endothelium-dependent hyperpolarizing factor* (EDHF) führt. Die Annahme, dass EDHF zu dem vasodilatatorischen Mechanismus während der Schwangerschaft beiträgt ist passend zu unseren Daten. Studien mit EET zur Regulation von kardiovaskulären und renalen Funktionen zeigen zumeist eine protektive Rolle der EET, da sie Vasodilatation vermitteln und als antihypertensive Metabolite beschrieben werden.^{61, 137-140} Weiterhin kommt es in der normalen Schwangerschaft zu einer verstärkten EET-Produktion und die Inhibition von CYP führt zu Hypertension und zu Nierenversagen in „normal“ trächtigen Ratten.^{67, 141} Weiterhin vermitteln EET antiapoptotische und antiinflammatorische Effekte, welche zur Protektion von Gewebe beitragen.¹³⁷ Eine Überexpression von CYP2J2 oder Zugabe von EET führt in Endothelzellen ebenfalls zu protektiven Effekten gegenüber Zytokinen oder Hypoxie.^{53, 142} Ein weiterer wichtiger Teil der Arbeit im Abschnitt 2.1.3 sind die Interventionsstudien mit dem CYP-Inhibitor MSPPOH in den Rattenmodellen für Präeklampsie. Hierdurch konnte der Mechanismus des CYP-Systems *in vivo* in der Pathologie der Präeklampsie näher untersucht werden. Tiermodelle in der Erforschung von Pathologien der Schwangerschaft sind unabdingbar, führen aber auch, wie in der Einleitung beschrieben, einige Risiken mit sich, welche Raum für Fehlinterpretationen schaffen. Um die Gesamtheit der präeklampsischen Pathologie zu untersuchen und zu beschreiben ist es von großer Bedeutung, dass mehrere Untersuchungsmethoden und Techniken miteinander kombiniert werden. So wurden in der in Abschnitt 2.1.3 beschriebenen Arbeit neben Charakterisierungen von Patientenmaterial (Plazenta, Dezidua, Serum) auch Funktionsstudien *in vitro* (Zellkultur mit Zelllinien und primären

Zellen), *ex vivo* (isolierte Arterien) und Tierstudien durchgeführt. Diese Interventionsstudien in Rattenmodellen mit präeklampsieähnlichem Phänotyp bekräftigten ebenfalls die bedeutende Rolle des CYP-Systems in der Pathologie der Präeklampsie. So konnte in dem RUPP Rattenmodell, indem $TNF\alpha$ ein entscheidender Faktor ist,¹⁴³ der maternale, sowie fetale Phänotyp durch die Behandlung mit dem CYP-Inhibitor MSPPOH verbessert werden. Ebenfalls in dem transgenen Rattenmodell für Präeklampsie konnte der erhöhte Blutdruck, sowie die Albuminurie durch die Behandlung gemindert werden. Unsere Ergebnisse scheinen zunächst schwer mit den bislang beschriebenen Daten in Einklang zu bringen, da eher von einem kompensatorischen Mechanismus zur Abschwächung der Präeklampsie auszugehen war. Zwar haben wir ebenfalls zeigen können, dass eine CYP-Inhibition zu einer Blutdruckerhöhung während einer normalen Schwangerschaft bei Ratten führte, jedoch führte sie während der präeklampsischen Schwangerschaft, wie oben beschrieben, zu einem protektiven Effekt. Es muss hierbei also klar zwischen einer gesunden Schwangerschaft und einer pathologischen, präeklampsischen Schwangerschaft unterschieden werden. Wir konnten zeigen, dass die Trophoblasten die höchste CYP2J2 Expression aufwiesen und diese wiederum während der präeklampsischen Erkrankung erhöht war. In der normalen Schwangerschaft wurde die Produktion von EET in der Niere und den Gefäßen beschrieben.^{67, 141} Es ist also eine Verschiebung der Syntheseorte zu beachten. Des Weiteren ist aufgrund der vorliegenden Ergebnisse davon auszugehen, dass die pathologischen Konzentrationen von $TNF\alpha$ zu einer Hochregulation von CYP2J2 in der präeklampsischen uteroplazentaren Einheit führen. Eine wichtige Rolle spielt auch die Tatsache, dass die EET in verschiedenen Regioisomeren auftreten. So konnten wir keine Unterschiede bei den 8,9- und 11,12-EET detektieren, jedoch zeigten 5,6- und 14,15-EET deutliche Unterschiede zwischen Kontrollen und Präeklampsien. Beide Regioisomere sind die Hauptmetabolite von CYP2J2 und 5,6-EET stellt ebenfalls das meist gebildete Regioisomer in Trophoblasten und intrauterinem Gewebe dar.^{65, 144} Viele der bereits beschriebenen protektiven Effekte der EET werden der Gesamtheit aller EET-Regioisomeren zugeschrieben, jedoch sind die zugrunde liegenden biologischen Mechanismen eindeutig regioselektiv. Die Besonderheit von 5,6-EET liegt darin, dass es durch Cyclooxygenasen und die Thromboxansynthase weiter zu einem Thromboxananalog metabolisiert werden kann und somit stark vasoaktiv ist.¹⁴⁵ Eine

Prostaglandin-Thromboxan-Dysbalance wurde bereits bei der Präeklampsie beschrieben.¹⁴⁶

Wie bereits in der Einleitung beschrieben und oben diskutiert, spielen adäquate Tiermodelle eine große Bedeutung und tragen einen Beitrag zur Erforschung der Pathologie der Präeklampsie bei. In Abschnitt 2.2.1 und 2.2.2 haben wir den Einfluss von Ang II in der uteroplazentaren Einheit und der Zirkulation von trächtigen Ratten näher charakterisiert und die Auswirkungen auf die Pathologie der Präeklampsie untersucht. Hierbei trat hervor, dass neben dem zirkulierenden Ang II auch das uteroplazentare Ang II eine entscheidende Rolle spielt und beide Systeme zusammen für die Ausbildung des präeklampsieähnlichen Syndroms in dem transgenen Rattenmodell notwendig sind. Weder eine Ang II-Gabe, was zu erhöhten zirkulierenden Ang II-Spiegeln führte, noch die umgekehrte Kreuzung der Transgene, resultierend in erhöhten uteroplazentaren Ang II-Spiegeln ohne Beeinflussung der Zirkulation, führten zu ähnlich robusten Symptomen. Die Bedeutung des uteroplazentaren RAS wurde bereits in der Präeklampsie diskutiert. So wurde passend zu dem von uns beschriebenen transgenen Rattenmodell auch im Mensch gezeigt, dass es im maternalen Plazentabett und in den villösen Zotten bei der Präeklampsie zu erhöhten Ang II-Spiegeln kommt.^{147, 148} Ebenfalls zeigen die Ergebnisse aus der in Abschnitt 2.2.1 vorliegenden Arbeit eine gesteigerte Invasivität und Migration von Trophoblasten nach Stimulation mit Ang II. Dieses Ergebnis bestätigt unsere Spekulationen aus der in Abschnitt 2.1.1 vorgestellten Arbeit, dass es zu einer Regulation der Trophoblastenfunktion durch den vorherrschenden Ang II-Gradienten zwischen Dezidua und Plazenta kommt. Die Arbeit aus 2.2.2 bekräftigt ebenfalls, dass das lokale RAS in Dezidua und Plazenta getrennt betrachtet werden muss. Beide hier vorliegende Studien in dem transgenen Rattenmodell zeigen außerdem, dass es zu einer uteroplazentaren Autoregulation des RAS kommt. So war das Rattenrenin in dem transgenen Rattenmodell im Vergleich zu der SD Kontrollgruppe vermindert exprimiert. Auch weitere Arbeiten konnten zeigen, dass deziduale Zellen Renin und Angiotensinogen exprimieren und spekulierten, dass diese Zellen das lokale RAS im Endometrium regulieren.¹⁴⁹ Das Ang II die Migration reguliert ist auch aus anderen Zelltypen bekannt, wie z. B. dendritische Zellen und VSMC's.¹⁵⁰ Allerdings gibt es in der Auswirkung auf Trophoblasten kontroverse Ansichten. Es wurde anhand von Trophoblastzelllinien gezeigt, dass es zu aktivierenden aber auch inhibierenden Funktionen bei der Migration kommt.^{151, 152}

Ang II kann ebenfalls regulatorisch auf das endotheliale Cadherin und weitere Adhäsionsmoleküle wirken, welche bei der endovaskulären Invasion von Trophoblasten und der Plazentation eine große Rolle spielen.¹⁵³

4 Ausblick

Trotz großen Forschungsanstrengungen auf dem Gebiet der Präeklampsie stellt diese komplexe und multifaktorielle Erkrankung die Geburtsmedizin auch weiterhin vor die schwerwiegende Entscheidung der vorzeitigen Entbindung und der damit verbundenen Schwierigkeiten für das Kind im weiteren Leben. Ebenfalls für die Mutter stellt die Präeklampsie einen einschneidenden, negativen Einfluss während des Schwangerschaftsverlaufes und darüber hinaus auf das weitere Leben dar. Hierin liegt der große Bedarf an geeigneten Therapien, welche sowohl das Leiden der Mutter, als auch die Auswirkungen auf das Kind während der Schwangerschaft aber auch im weiteren Leben berücksichtigen. Eine grundlegende Charakterisierung der Ursachen und Mechanismen dieses Syndroms sind dafür unabdingbar. Die Einbeziehung des RASs und des CYP-Systems liegt auf Grund ihrer Assoziation zum Bluthochdruck- und kardiovaskulären Erkrankungen auf der Hand. Die hier in diesem Gesamtwerk vorliegenden Arbeiten haben einen großen Anteil an der näheren Charakterisierung dieser Systeme in der Pathologie der Präeklampsie. Sie haben weiterhin gezeigt, dass eine enge Verknüpfung zwischen uteroplazentarer Einheit, dem Entstehungsort der Präeklampsie, und der maternalen Zirkulation besteht. Hierin sollte auch der Fokus für weitere Arbeiten zur Entstehung der Präeklampsie und deren Therapierbarkeit gelegt werden. Ganzheitliche Betrachtungen unter Einbeziehung von geeigneten Methoden wie Charakterisierungen von Patientenmaterial, *in vitro-* und *ex vivo* Funktionsstudien, sowie Tierstudien werden dabei helfen die komplexe, multifaktorielle Pathologie der Präeklampsie zu entschlüsseln. Eine Schlüsselrolle dabei könnte die gesteigerte Sensitivität gegenüber Ang II darstellen, weshalb Systeme und Faktoren wie z.B. die AT1-AA oder die CYP-Metabolite, welche diese Sensitivität begünstigen, eine große Bedeutung haben und in den nächsten Jahren weiter untersucht werden sollten.

5 Zusammenfassung

Die Schwangerschaftserkrankung Präeklampsie ist eine Multisystemerkrankung und die Hauptursache für mütterliche und kindliche Morbidität und Mortalität. Sie manifestiert sich ab der 20. Schwangerschaftswoche durch Anstieg des Blutdrucks, einhergehend mit einer Proteinurie, hat jedoch ihren Ursprung weit früher. Durch eine abnormale Plazentation kommt es zur Ausbildung eines uteroplazentaren Syndroms, welches sich dann zu einem maternalen Syndrom translatiert. Weltweit sind ca. 5-10 % aller Schwangerschaften betroffen und Mutter wie Kind tragen im weiteren Leben ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen. Zurzeit steht keine geeignete Therapie zur Verfügung, die sowohl die Gesundheit des Kindes als auch der Mutter gleichermaßen berücksichtigt. Eine grundlegende Charakterisierung der Ursachen und Mechanismen dieses Syndroms sind deshalb unabdingbar. Zielstellung dieser Arbeit ist es, grundlegende Arbeiten unserer Arbeitsgruppe zu beschreiben und die dargestellten Faktoren und Mechanismen in einen Zusammenhang zustellen. Fokus hierbei soll auf Systeme gelegt werden, die bei Bluthochdruck- und kardiovaskulären Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen, wie das Renin-Angiotensin-System (RAS), das Cytochrom P450 (CYP)-System und Adipozytokine. Die hier ausgewählten Originalarbeiten unserer Gruppe beschreiben diese Systeme und deren zugrunde liegenden Mechanismen in der Präeklampsie unter Einbeziehung von geeigneten Methoden wie Charakterisierungen von Patientenmaterial, *in vitro-* und *ex vivo* Funktionsstudien sowie Tierstudien. Das transgene Rattenmodell mit präeklampsieähnlichen Phenotyp soll hier ebenfalls näher betrachtet und das Zusammenspiel aus uteroplazentarer Einheit und maternaler Zirkulation eingehender diskutiert werden.

Die Originalarbeiten zeigen, dass das RAS in der Pathologie der Präeklampsie beteiligt ist und verdeutlichen ebenfalls die Bedeutung des uteroplazentaren RAS in der normal verlaufenden Schwangerschaft. Zudem geben die Daten Einblicke in das RAS im Kontext des präeklampsischen uteroplazentaren Syndroms und deren Translation zu einem maternalen Syndrom. Desweiteren wird das Zusammenspiel des maternalen Fettgewebes und der uteroplazentaren Einheit im Hinblick auf die Adipozytokine Leptin und Adiponektin in der Pathologie der Präeklampsie charakterisiert. Übergewichtigkeit stellt einen Risikofaktor für die Präeklampsie dar. Ein weiteres System das in der präeklampsischen uteroplazentaren Einheit dysreguliert ist und das Syndrom in die maternale Zirkulation translatiert, ist das

Cytochrom P450 (CYP)-System. Interventionsstudien an zwei Rattenmodellen mit präeklampsieähnlichem Phänotyp verdeutlichen diese Ergebnisse. Ein Rattenmodell aus diesen Studien basiert auf dem RAS und wird in zwei weiteren Arbeiten unserer Gruppe näher charakterisiert. Die Gesamtheit dieser Ergebnisse bietet Erklärungen für die Entstehung der gesteigerten Sensitivität gegenüber Ang II, was in der präeklampsischen Schwangerschaft zu beobachten ist und einen wichtigen Mechanismus der Präeklampsie darstellen könnte. Ebenfalls wird die Bedeutung des systemischen und lokalen RAS in der Pathologie der Präeklampsie verdeutlicht.

6 Literaturverzeichnis

1. Hypertension in pregnancy. Report of the american college of obstetricians and gynecologists' task force on hypertension in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2013;122:1122-1131
2. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. Summary of the nhlbi working group on research on hypertension during pregnancy. *Hypertension*. 2003;41:437-445
3. Fayyad AM, Harrington KF. Prediction and prevention of preeclampsia and iugr. *Early human development*. 2005;81:865-876
4. Barker DJ. Fetal origins of cardiovascular disease. *Ann Med*. 1999;31 Suppl 1:3-6
5. Barker DJ. Intrauterine programming of coronary heart disease and stroke. *Acta Paediatr Suppl*. 1997;423:178-182; discussion 183
6. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams DJ. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: Systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2007;335:974
7. Roberts JM, Gammill H. Pre-eclampsia and cardiovascular disease in later life. *Lancet*. 2005;366:961-962
8. Wolf G, Wenzel U, Stahl RA, Huneke B. [hypertensive disorders in pregnancy]. *Med Klin (Munich)*. 2001;96:78-86
9. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001;357:53-56
10. Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2010;63:534-543
11. Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: Recent insights. *Hypertension*. 2005;46:1243-1249
12. Kam EP, Gardner L, Loke YW, King A. The role of trophoblast in the physiological change in decidual spiral arteries. *Hum Reprod*. 1999;14:2131-2138
13. Redman CW. Current topic: Pre-eclampsia and the placenta. *Placenta*. 1991;12:301-308
14. Bumpus FM, Schwarz H, Page IH. Synthesis and pharmacology of the octapeptide angiotenin. *Science*. 1957;125:886-887
15. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D, Hilfiker A, Kovanen PT, Kaartinen M, Nussberger J, Harringer W, Drexler H. Expression of angiotensin ii and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: Potential implications for inflammation and plaque instability. *Circulation*. 2000;101:1372-1378
16. Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Suzuki Y, Mezzano S, Plaza JJ, Egido J. Role of the renin-angiotensin system in vascular diseases: Expanding the field. *Hypertension*. 2001;38:1382-1387
17. Griendling KK, Ushio-Fukai M, Lassegue B, Alexander RW. Angiotensin ii signaling in vascular smooth muscle. New concepts. *Hypertension*. 1997;29:366-373
18. Luft FC. The preeclampsia enigma and the renin-angiotensin system. *J Mol Med*. 2000;78:63-65
19. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. Xxiii. The angiotensin ii receptors. *Pharmacol Rev*. 2000;52:415-472
20. Shah DM. The role of ras in the pathogenesis of preeclampsia. *Current hypertension reports*. 2006;8:144-152
21. Herse F, Staff AC, Hering L, Muller DN, Luft FC, Dechend R. At1-receptor autoantibodies and uteroplacental ras in pregnancy and pre-eclampsia. *J Mol Med (Berl)*. 2008;86:697-703
22. Shah DM, Banu JM, Chirgwin JM, Tekmal RR. Reproductive tissue renin gene expression in preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2000;19:341-351

23. Hsueh WA, Luetscher JA, Carlson EJ, Grislis G, Frazee E, McHargue A. Changes in active and inactive renin throughout pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;54:1010-1016
24. Shah DM. Role of the renin-angiotensin system in the pathogenesis of preeclampsia. *American journal of physiology. Renal physiology.* 2005;288:F614-625
25. Gant NF, Daley GL, Chand S, Whalley PJ, MacDonald PC. A study of angiotensin ii pressor response throughout primigravid pregnancy. *The Journal of clinical investigation.* 1973;52:2682-2689
26. McLachlan SM, Rapoport B. Thyrotropin blocking autoantibodies and thyroid stimulating autoantibodies: Insight into the pendulum from hypothyroidism to hyperthyroidism or vice versa. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association.* 2012
27. Brucato A, Frassi M, Franceschini F, Cimaz R, Faden D, Pisoni MP, Muscara M, Vignati G, Stramba-Badiale M, Catelli L, Lojcono A, Cavazzana I, Ghirardello A, Vescovi F, Gambari PF, Doria A, Meroni PL, Tincani A. Risk of congenital complete heart block in newborns of mothers with anti-ro/ssa antibodies detected by counterimmunoelectrophoresis: A prospective study of 100 women. *Arthritis and rheumatism.* 2001;44:1832-1835
28. Out HJ, Bruinse HW, Christiaens GC, van Vliet M, de Groot PG, Nieuwenhuis HK, Derksen RH. A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *American journal of obstetrics and gynecology.* 1992;167:26-32
29. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jupner A, Baur E, Nissen E, Vetter K, Neichel D, Dudenhausen JW, Haller H, Luft FC. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin at1 receptor. *The Journal of clinical investigation.* 1999;103:945-952
30. Hubel CA, Wallukat G, Wolf M, Herse F, Rajakumar A, Roberts JM, Markovic N, Thadhani R, Luft FC, Dechend R. Agonistic angiotensin ii type 1 receptor autoantibodies in postpartum women with a history of preeclampsia. *Hypertension.* 2007;49:612-617
31. Walther T, Wallukat G, Jank A, Bartel S, Schultheiss HP, Faber R, Stepan H. Angiotensin ii type 1 receptor agonistic antibodies reflect fundamental alterations in the uteroplacental vasculature. *Hypertension.* 2005;46:1275-1279
32. Herse F, Lamarca B. Angiotensin ii type 1 receptor autoantibody (at1-aa)-mediated pregnancy hypertension. *Am J Reprod Immunol.* 2012
33. Dechend R, Homuth V, Wallukat G, Kreuzer J, Park JK, Theuer J, Juepner A, Gulba DC, Mackman N, Haller H, Luft FC. At(1) receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation.* 2000;101:2382-2387
34. Xia Y, Wen H, Bobst S, Day MC, Kellems RE. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation.* 2003;10:82-93
35. Zhou CC, Ahmad S, Mi T, Xia L, Abbasi S, Hewett PW, Sun C, Ahmed A, Kellems RE, Xia Y. Angiotensin ii induces soluble fms-like tyrosine kinase-1 release via calcineurin signaling pathway in pregnancy. *Circulation research.* 2007;100:88-95
36. Xia Y, Ramin SM, Kellems RE. Potential roles of angiotensin receptor-activating autoantibody in the pathophysiology of preeclampsia. *Hypertension.* 2007;50:269-275
37. Wenzel K, Rajakumar A, Haase H, Geusens N, Hubner N, Schulz H, Brewer J, Roberts L, Hubel CA, Herse F, Hering L, Qadri F, Lindschau C, Wallukat G, Pijnenborg R, Heidecke H, Riemekasten G, Luft FC, Muller DN, Lamarca B, Dechend

- R. Angiotensin ii type 1 receptor antibodies and increased angiotensin ii sensitivity in pregnant rats. *Hypertension*. 2011;58:77-84
38. Zhou CC, Irani RA, Zhang Y, Blackwell SC, Mi T, Wen J, Shelat H, Geng YJ, Ramin SM, Kellems RE, Xia Y. Angiotensin receptor agonistic autoantibody-mediated tumor necrosis factor-alpha induction contributes to increased soluble endoglin production in preeclampsia. *Circulation*. 2010;121:436-444
 39. Jensen F, Wallukat G, Herse F, Budner O, El-Mousleh T, Costa SD, Dechend R, Zenclussen AC. Cd19+cd5+ cells as indicators of preeclampsia. *Hypertension*. 2012;59:861-868
 40. York MR. Novel insights on the role of the innate immune system in systemic sclerosis. *Expert review of clinical immunology*. 2011;7:481-489
 41. Daikha-Dahmane F, Levy-Beff E, Jugie M, Lenclen R. Foetal kidney maldevelopment in maternal use of angiotensin ii type i receptor antagonists. *Pediatr Nephrol*. 2006;21:729-732
 42. LaMarca B, Wallace K, Herse F, Wallukat G, Martin JN, Jr., Weimer A, Dechend R. Hypertension in response to placental ischemia during pregnancy: Role of b lymphocytes. *Hypertension*. 2011;57:865-871
 43. Novotny SR, Wallace K, Heath J, Moseley J, Dhillon P, Weimer A, Wallukat G, Herse F, Wenzel K, Martin JN, Jr., Dechend R, Lamarca B. Activating autoantibodies to the angiotensin ii type i receptor play an important role in mediating hypertension in response to adoptive transfer of cd4+ t lymphocytes from placental ischemic rats. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2012;302:R1197-1201
 44. Capdevila J, Chacos N, Werringloer J, Prough RA, Estabrook RW. Liver microsomal cytochrome p-450 and the oxidative metabolism of arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:5362-5366
 45. Morrison AR, Pascoe N. Metabolism of arachidonate through nadph-dependent oxygenase of renal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:7375-7378
 46. Oliw EH, Oates JA. Oxygenation of arachidonic acid by hepatic microsomes of the rabbit. Mechanism of biosynthesis of two vicinal dihydroxyeicosatrienoic acids. *Biochim Biophys Acta*. 1981;666:327-340
 47. Croft KD, McGiff JC, Sanchez-Mendoza A, Carroll MA. Angiotensin ii releases 20-hete from rat renal microvessels. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2000;279:F544-551
 48. Ai D, Fu Y, Guo D, Tanaka H, Wang N, Tang C, Hammock BD, Shyy JY, Zhu Y. Angiotensin ii up-regulates soluble epoxide hydrolase in vascular endothelium in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104:9018-9023
 49. Zhao X, Pollock DM, Inscho EW, Zeldin DC, Imig JD. Decreased renal cytochrome p450 2c enzymes and impaired vasodilation are associated with angiotensin salt-sensitive hypertension. *Hypertension*. 2003;41:709-714
 50. Bonventre JV. Phospholipase a2 and signal transduction. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 1992;3:128-150
 51. Alexander LD, Ding Y, Alagarsamy S, Cui X. Angiotensin ii stimulates fibronectin protein synthesis via a gbetagamma/arachidonic acid-dependent pathway. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2014;307:F287-302
 52. Fisslthaler B, Popp R, Kiss L, Potente M, Harder DR, Fleming I, Busse R. Cytochrome p450 2c is an edhf synthase in coronary arteries. *Nature*. 1999;401:493-497

53. Node K, Huo Y, Ruan X, Yang B, Spiecker M, Ley K, Zeldin DC, Liao JK. Anti-inflammatory properties of cytochrome p450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science*. 1999;285:1276-1279
54. Yang S, Lin L, Chen JX, Lee CR, Seubert JM, Wang Y, Wang H, Chao ZR, Tao DD, Gong JP, Lu ZY, Wang DW, Zeldin DC. Cytochrome p-450 epoxygenases protect endothelial cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor-alpha via mapk and pi3k/akt signaling pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293:H142-151
55. Wang H, Lin L, Jiang J, Wang Y, Lu ZY, Bradbury JA, Lih FB, Wang DW, Zeldin DC. Up-regulation of endothelial nitric-oxide synthase by endothelium-derived hyperpolarizing factor involves mitogen-activated protein kinase and protein kinase c signaling pathways. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;307:753-764
56. Hercule HC, Schunck WH, Gross V, Seringer J, Leung FP, Weldon SM, da Costa Goncalves A, Huang Y, Luft FC, Gollasch M. Interaction between p450 eicosanoids and nitric oxide in the control of arterial tone in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:54-60
57. Loot AE, Popp R, Fisslthaler B, Vriens J, Nilius B, Fleming I. Role of cytochrome p450-dependent transient receptor potential v4 activation in flow-induced vasodilatation. *Cardiovasc Res*. 2008;80:445-452
58. Fleming I. Epoxyeicosatrienoic acids, cell signaling and angiogenesis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2007;82:60-67
59. Muller DN, Theuer J, Shagdarsuren E, Kaergel E, Honeck H, Park JK, Markovic M, Barbosa-Sicard E, Dechend R, Wellner M, Kirsch T, Fiebeler A, Rothe M, Haller H, Luft FC, Schunck WH. A peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator induces renal cyp2c23 activity and protects from angiotensin ii-induced renal injury. *Am J Pathol*. 2004;164:521-532
60. Imig JD. Epoxide hydrolase and epoxygenase metabolites as therapeutic targets for renal diseases. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289:F496-503
61. Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*. 2002;82:131-185
62. Suzuki S, Oguro A, Osada-Oka M, Funae Y, Imaoka S. Epoxyeicosatrienoic acids and/or their metabolites promote hypoxic response of cells. *J Pharmacol Sci*. 2008;108:79-88
63. Leaf A, Xiao YF, Kang JX, Billman GE. Prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Pharmacol Ther*. 2003;98:355-377
64. Marchioli R, Barzi F, Bomba E, Chieffo C, Di Gregorio D, Di Mascio R, Franzosi MG, Geraci E, Levantesi G, Maggioni AP, Mantini L, Marfisi RM, Mastrogiuseppe G, Mininni N, Nicolosi GL, Santini M, Schweiger C, Tavazzi L, Tognoni G, Tucci C, Valagussa F. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: Time-course analysis of the results of the gruppo italiano per lo studio della sopravvivenza nell'infarto miocardico (gissi)-prevenzione. *Circulation*. 2002;105:1897-1903
65. Zhang JH, Pearson T, Matharoo-Ball B, Ortori CA, Warren AY, Khan R, Barrett DA. Quantitative profiling of epoxyeicosatrienoic, hydroxyeicosatetraenoic, and dihydroxyeicosatetraenoic acids in human intrauterine tissues using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical biochemistry*. 2007;365:40-51
66. Catella F, Lawson JA, Fitzgerald DJ, FitzGerald GA. Endogenous biosynthesis of arachidonic acid epoxides in humans: Increased formation in pregnancy-induced hypertension. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87:5893-5897

67. Zhou Y, Chang HH, Du J, Wang CY, Dong Z, Wang MH. Renal epoxyeicosatrienoic acid synthesis during pregnancy. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;288:F221-226
68. Llinas MT, Alexander BT, Capparelli MF, Carroll MA, Granger JP. Cytochrome p-450 inhibition attenuates hypertension induced by reductions in uterine perfusion pressure in pregnant rats. *Hypertension*. 2004;43:623-628
69. Schmidt A, Morales-Prieto DM, Pastuszek J, Frohlich K, Markert UR. Only humans have human placentas: Molecular differences between mice and humans. *Journal of reproductive immunology*. 2015;108:65-71
70. Bainbridge SA, Roberts JM, von Versen-Hoyneck F, Koch J, Edmunds L, Hubel CA. Uric acid attenuates trophoblast invasion and integration into endothelial cell monolayers. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2009;297:C440-450
71. Hering L, Herse F, Geusens N, Verlohren S, Wenzel K, Staff AC, Brosnihan KB, Huppertz B, Luft FC, Muller DN, Pijnenborg R, Cartwright JE, Dechend R. Effects of circulating and local uteroplacental angiotensin ii in rat pregnancy. *Hypertension*. 2010;56:311-318
72. Herse F, Lamarca B, Hubel CA, Kaartokallio T, Lokki AI, Ekholm E, Laivuori H, Gauster M, Huppertz B, Sugulle M, Ryan MJ, Novotny S, Brewer J, Park JK, Kacik M, Hoyer J, Verlohren S, Wallukat G, Rothe M, Luft FC, Muller DN, Schunck WH, Staff AC, Dechend R. Cytochrome p450 subfamily 2j polypeptide 2 expression and circulating epoxyeicosatrienoic metabolites in preeclampsia. *Circulation*. 2012;126:2990-2999
73. Ganapathy R, Ayling LJ, Whitley GS, Cartwright JE, Thilaganathan B. Effect of first-trimester serum from pregnant women with high-resistance uterine artery doppler resistance on extravillous trophoblast invasion. *Hum Reprod*. 2006;21:1295-1298
74. Freitag N, Tirado-Gonzalez I, Barrientos G, Herse F, Thijssen VL, Weedon-Fekjaer SM, Schulz H, Wallukat G, Klapp BF, Nevers T, Sharma S, Staff AC, Dechend R, Blois SM. Interfering with gal-1-mediated angiogenesis contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110:11451-11456
75. Clark DA. The use and misuse of animal analog models of human pregnancy disorders. *Journal of reproductive immunology*. 2014;103:1-8
76. Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature reviews. Immunology*. 2006;6:584-594
77. Ahmed A, Singh J, Khan Y, Seshan SV, Girardi G. A new mouse model to explore therapies for preeclampsia. *PloS one*. 2010;5:e13663
78. Kanasaki K, Palmsten K, Sugimoto H, Ahmad S, Hamano Y, Xie L, Parry S, Augustin HG, Gattone VH, Folkman J, Strauss JF, Kalluri R. Deficiency in catechol-o-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. *Nature*. 2008;453:1117-1121
79. Doridot L, Passet B, Mehats C, Rigourd V, Barboux S, Ducat A, Mondon F, Vilotte M, Castille J, Breuiller-Fouche M, Daniel N, le Provost F, Bauchet AL, Baudrie V, Hertig A, Buffat C, Simeoni U, Germain G, Vilotte JL, Vaiman D. Preeclampsia-like symptoms induced in mice by fetoplacental expression of stox1 are reversed by aspirin treatment. *Hypertension*. 2013;61:662-668
80. Davison RL, Hoffmann DS, Butz GM, Aldape G, Schlager G, Merrill DC, Sethi S, Weiss RM, Bates JN. Discovery of a spontaneous genetic mouse model of preeclampsia. *Hypertension*. 2002;39:337-342
81. Faas MM, Slot K, Koiter TR, Schuiling GA. Corticosterone treatment of pregnant low dose endotoxin-treated rats: Inhibition of the inflammatory response. *Am J Reprod Immunol*. 2000;44:178-183

82. Faas MM, Schuiling GA, Baller JF, Valkhof N, Bakker WW. Aspirin treatment of the low-dose-endotoxin-treated pregnant rat: Pathophysiologic and immunohistologic aspects. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1997;130:496-508
83. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sflt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111:649-658
84. Zhou CC, Zhang Y, Irani RA, Zhang H, Mi T, Popek EJ, Hicks MJ, Ramin SM, Kellems RE, Xia Y. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce preeclampsia in pregnant mice. *Nature medicine*. 2008;14:855-862
85. Gilbert J, Dukes M, LaMarca B, Cockrell K, Babcock S, Granger J. Effects of reduced uterine perfusion pressure on blood pressure and metabolic factors in pregnant rats. *American journal of hypertension*. 2007;20:686-691
86. Gadonski G, LaMarca BB, Sullivan E, Bennett W, Chandler D, Granger JP. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: Role of interleukin 6. *Hypertension*. 2006;48:711-716
87. Granger JP, LaMarca BB, Cockrell K, Sedeek M, Balzi C, Chandler D, Bennett W. Reduced uterine perfusion pressure (rupp) model for studying cardiovascular-renal dysfunction in response to placental ischemia. *Methods in molecular medicine*. 2006;122:383-392
88. LaMarca BB, Bennett WA, Alexander BT, Cockrell K, Granger JP. Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: Role of tumor necrosis factor-alpha. *Hypertension*. 2005;46:1022-1025
89. Harmon A, Cornelius D, Amaral L, Paige A, Herse F, Ibrahim T, Wallukat G, Faulkner J, Moseley J, Dechend R, LaMarca B. Il-10 supplementation increases tregs and decreases hypertension in the rupp rat model of preeclampsia. *Hypertension in pregnancy*. 2015:1-16
90. Cornelius DC, Hogg JP, Scott J, Wallace K, Herse F, Moseley J, Wallukat G, Dechend R, LaMarca B. Administration of interleukin-17 soluble receptor c suppresses th17 cells, oxidative stress, and hypertension in response to placental ischemia during pregnancy. *Hypertension*. 2013;62:1068-1073
91. Brewer J, Liu R, Lu Y, Scott J, Wallace K, Wallukat G, Moseley J, Herse F, Dechend R, Martin JN, Jr., LaMarca B. Endothelin-1, oxidative stress, and endogenous angiotensin ii: Mechanisms of angiotensin ii type i receptor autoantibody-enhanced renal and blood pressure response during pregnancy. *Hypertension*. 2013;62:886-892
92. Novotny S, Wallace K, Herse F, Moseley J, Darby M, Heath J, Gill J, Wallukat G, Martin JN, Dechend R, LaMarca B. Cd4 t cells play a critical role in mediating hypertension in response to placental ischemia. *Journal of hypertension : open access*. 2013;2
93. Dhillon P, Wallace K, Herse F, Scott J, Wallukat G, Heath J, Moseley J, Martin JN, Jr., Dechend R, LaMarca B. Il-17-mediated oxidative stress is an important stimulator of at1-aa and hypertension during pregnancy. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2012;303:R353-358
94. Parrish MR, Wallace K, Tam Tam KB, Herse F, Weimer A, Wenzel K, Wallukat G, Ray LF, Arany M, Cockrell K, Martin JN, Dechend R, LaMarca B. Hypertension in response to at1-aa: Role of reactive oxygen species in pregnancy-induced hypertension. *American journal of hypertension*. 2011;24:835-840
95. LaMarca B, Wallukat G, Llinas M, Herse F, Dechend R, Granger JP. Autoantibodies to the angiotensin type i receptor in response to placental ischemia and tumor necrosis factor alpha in pregnant rats. *Hypertension*. 2008;52:1168-1172

96. Dechend R, Gratze P, Wallukat G, Shagdarsuren E, Plehm R, Brasen JH, Fiebeler A, Schneider W, Caluwaerts S, Vercruyssen L, Pijnenborg R, Luft FC, Muller DN. Agonistic autoantibodies to the $\alpha 1$ receptor in a transgenic rat model of preeclampsia. *Hypertension*. 2005;45:742-746
97. Takimoto E, Ishida J, Sugiyama F, Horiguchi H, Murakami K, Fukamizu A. Hypertension induced in pregnant mice by placental renin and maternal angiotensinogen. *Science*. 1996;274:995-998
98. Bohlender J, Ganten D, Luft FC. Rats transgenic for human renin and human angiotensinogen as a model for gestational hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2000;11:2056-2061
99. Bodnar LM, Ness RB, Markovic N, Roberts JM. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. *Annals of epidemiology*. 2005;15:475-482
100. Haslam DW, James WP. Obesity. *Lancet*. 2005;366:1197-1209
101. Powell K. Obesity: The two faces of fat. *Nature*. 2007;447:525-527
102. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: Inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *The British journal of nutrition*. 2004;92:347-355
103. Caminos JE, Nogueiras R, Gallego R, Bravo S, Tovar S, Garcia-Caballero T, Casanueva FF, Dieguez C. Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90:4276-4286
104. Lappas M, Yee K, Permezel M, Rice GE. Release and regulation of leptin, resistin and adiponectin from human placenta, fetal membranes, and maternal adipose tissue and skeletal muscle from normal and gestational diabetes mellitus-complicated pregnancies. *The Journal of endocrinology*. 2005;186:457-465
105. O'Brien TE, Ray JG, Chan WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: A systematic overview. *Epidemiology*. 2003;14:368-374
106. Chappell LC, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, Mallet AI, Poston L. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187:127-136
107. O'Brien KO, Li S, Cao C, Kent T, Young BV, Queenan RA, Pressman EK, Cooper EM. Placental *cyp27b1* and *cyp24a1* expression in human placental tissue and their association with maternal and neonatal calcitropic hormones. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99:1348-1356
108. Muthalif MM, Benter IF, Uddin MR, Harper JL, Malik KU. Signal transduction mechanisms involved in angiotensin-(1-7)-stimulated arachidonic acid release and prostanoid synthesis in rabbit aortic smooth muscle cells. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1998;284:388-398
109. Capdevila JH, Falck JR, Harris RC. Cytochrome p450 and arachidonic acid bioactivation. Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *Journal of lipid research*. 2000;41:163-181
110. Schafer WR, Zahradnik HP, Arbogast E, Wetzka B, Werner K, Breckwoldt M. Arachidonate metabolism in human placenta, fetal membranes, decidua and myometrium: Lipooxygenase and cytochrome p450 metabolites as main products in hplc profiles. *Placenta*. 1996;17:231-238
111. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:1359-1375
112. Pijnenborg R, Aplin JD, Ain R, Bevilacqua E, Bulmer JN, Cartwright J, Huppertz B, Knofler M, Maxwell C, Vercruyssen L. Trophoblast and the endometrium--a workshop report. *Placenta*. 2004;25 Suppl A:S42-44
113. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:499-506

114. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *The New England journal of medicine*. 2004;350:672-683
115. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nature medicine*. 2006;12:642-649
116. Gordon RD, Parsons S, Symonds EM. A prospective study of plasma-renin activity in normal and toxæmic pregnancy. *Lancet*. 1969;1:347-349
117. Ganten D, Minnich JL, Granger P, Hayduk K, Brecht HM, Barbeau A, Boucher R, Genest J. Angiotensin-forming enzyme in brain tissue. *Science*. 1971;173:64-65
118. Weinberger MH, Kramer NJ, Grim CE, Petersen LP. The effect of posture and saline loading on plasma renin activity and aldosterone concentration in pregnant, non-pregnant and estrogen-treated women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1977;44:69-77
119. Symonds EM, Broughton Pipkin F, Craven DJ. Changes in the renin-angiotensin system in primigravidae with hypertensive disease of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1975;82:643-650
120. Talledo OE. O: Renin-angiotensin system in normal and toxemic pregnancies. Iv. Inactivation of angiotensin in toxemic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1968;101:254-256
121. Baker PN, Broughton Pipkin F, Symonds EM. Comparative study of platelet angiotensin ii binding and the angiotensin ii sensitivity test as predictors of pregnancy-induced hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 1992;83:89-95
122. Dechend R, Viedt C, Muller DN, Ugele B, Brandes RP, Wallukat G, Park JK, Janke J, Barta P, Theuer J, Fiebeler A, Homuth V, Dietz R, Haller H, Kreuzer J, Luft FC. At1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate nadph oxidase. *Circulation*. 2003;107:1632-1639
123. Thway TM, Shlykov SG, Day MC, Sanborn BM, Gilstrap LC, 3rd, Xia Y, Kellems RE. Antibodies from preeclamptic patients stimulate increased intracellular ca²⁺ mobilization through angiotensin receptor activation. *Circulation*. 2004;110:1612-1619
124. Khan IY, Lakasing L, Poston L, Nicolaides KH. Fetal programming for adult disease: Where next? *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2003;13:292-299
125. Harsem NK, Staff AC, He L, Roald B. The decidual suction method: A new way of collecting decidual tissue for functional and morphological studies. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2004;83:724-730
126. Rogers MS, Mongelli JM, Tsang KH, Wang CC, Law KP. Lipid peroxidation in cord blood at birth: The effect of labour. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:739-744
127. Shaw KJ, Do YS, Kjos S, Anderson PW, Shinagawa T, Dubeau L, Hsueh WA. Human decidua is a major source of renin. *J Clin Invest*. 1989;83:2085-2092
128. Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, Dudley JA, Dyer S, Gideon PS, Hall K, Ray WA. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ace inhibitors. *N Engl J Med*. 2006;354:2443-2451
129. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Giordano D, Di Benedetto A, Jasonni VM. Plasma adiponectin concentration in early pregnancy and subsequent risk of hypertensive disorders. *Obstet Gynecol*. 2005;106:340-344
130. Shinohara K, Wakatsuki A, Watanabe K, Ikenoue N, Fukaya T. Plasma adiponectin concentrations in women with preeclampsia. *Hypertension*. 2004;43:e17; author reply e17

131. Haugen F, Ranheim T, Harsem NK, Lips E, Staff AC, Drevon CA. Increased plasma levels of adipokines in preeclampsia: Relationship to placenta and adipose tissue gene expression. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism.* 2006;290:E326-333
132. Laivuori H, Gallaher MJ, Collura L, Crombleholme WR, Markovic N, Rajakumar A, Hubel CA, Roberts JM, Powers RW. Relationships between maternal plasma leptin, placental leptin mRNA and protein in normal pregnancy, pre-eclampsia and intrauterine growth restriction without pre-eclampsia. *Molecular human reproduction.* 2006;12:551-556
133. Meller M, Qiu C, Kuske BT, Abetew DF, Muy-Rivera M, Williams MA. Adipocytokine expression in placentas from pre-eclamptic and chronic hypertensive patients. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22:267-273
134. Herse F, Dechend R, Harsem NK, Wallukat G, Janke J, Qadri F, Hering L, Muller DN, Luft FC, Staff AC. Dysregulation of the circulating and tissue-based renin-angiotensin system in preeclampsia. *Hypertension.* 2007;49:604-611
135. Fernandez-Fernandez JM, Tomas M, Vazquez E, Orio P, Latorre R, Senti M, Marrugat J, Valverde MA. Gain-of-function mutation in the *kcmb1* potassium channel subunit is associated with low prevalence of diastolic hypertension. *J Clin Invest.* 2004;113:1032-1039
136. Kohler R. Single-nucleotide polymorphisms in vascular Ca^{2+} -activated K^{+} -channel genes and cardiovascular disease. *Pflugers Arch.* 2010;460:343-351
137. Spector AA, Norris AW. Action of epoxyeicosatrienoic acids on cellular function. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292:C996-1012
138. Campbell WB, Fleming I. Epoxyeicosatrienoic acids and endothelium-dependent responses. *Pflugers Arch.* 2010;459:881-895
139. Konkel A, Schunck WH. Role of cytochrome p450 enzymes in the bioactivation of polyunsaturated fatty acids. *Biochimica et biophysica acta.* 2011;1814:210-222
140. Imig JD, Hammock BD. Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for cardiovascular diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2009;8:794-805
141. Huang H, Chang HH, Xu Y, Reddy DS, Du J, Zhou Y, Dong Z, Falck JR, Wang MH. Epoxyeicosatrienoic acid inhibition alters renal hemodynamics during pregnancy. *Exp Biol Med (Maywood).* 2006;231:1744-1752
142. Yang B, Graham L, Dikalov S, Mason RP, Falck JR, Liao JK, Zeldin DC. Overexpression of cytochrome p450 *cyp2j2* protects against hypoxia-reoxygenation injury in cultured bovine aortic endothelial cells. *Mol Pharmacol.* 2001;60:310-320
143. Gutkowska J, Granger JP, Lamarca BB, Danalache BA, Wang D, Jankowski M. Changes in cardiac structure in hypertension produced by placental ischemia in pregnant rats: Effect of tumor necrosis factor blockade. *Journal of hypertension.* 2011;29:1203-1212
144. Zosmer A, Elder MG, Sullivan MH. The regulation of arachidonic acid metabolism in human first trimester trophoblast by cyclic amp. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2003;71:43-53
145. Balazy M. Metabolism of 5,6-epoxyeicosatrienoic acid by the human platelet. Formation of novel thromboxane analogs. *The Journal of biological chemistry.* 1991;266:23561-23567
146. Mills JL, DerSimonian R, Raymond E, Morrow JD, Roberts LJ, 2nd, Clemens JD, Hauth JC, Catalano P, Sibai B, Curet LB, Levine RJ. Prostacyclin and thromboxane changes predating clinical onset of preeclampsia: A multicenter prospective study. *Jama.* 1999;282:356-362
147. Anton L, Merrill DC, Neves LA, Diz DI, Corthorn J, Valdes G, Stovall K, Gallagher PE, Moorefield C, Gruver C, Brosnihan KB. The uterine placental bed renin-

- angiotensin system in normal and preeclamptic pregnancy. *Endocrinology*. 2009;150:4316-4325
148. Anton L, Merrill DC, Neves LA, Stovall K, Gallagher PE, Diz DI, Moorefield C, Gruver C, Ferrario CM, Brosnihan KB. Activation of local chorionic villi angiotensin ii levels but not angiotensin (1-7) in preeclampsia. *Hypertension*. 2008;51:1066-1072
149. Li C, Ansari R, Yu Z, Shah D. Definitive molecular evidence of renin-angiotensin system in human uterine decidual cells. *Hypertension*. 2000;36:159-164
150. Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, Shirai H, Frank GD, Eguchi S. Angiotensin ii signal transduction through the at1 receptor: Novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112:417-428
151. Xia Y, Wen HY, Kellems RE. Angiotensin ii inhibits human trophoblast invasion through at1 receptor activation. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277:24601-24608
152. Ishimatsu S, Itakura A, Okada M, Kotani T, Iwase A, Kajiyama H, Ino K, Kikkawa F. Angiotensin ii augmented migration and invasion of choriocarcinoma cells involves pi3k activation through the at1 receptor. *Placenta*. 2006;27:587-591
153. Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, Damsky CH. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *The Journal of clinical investigation*. 1997;99:2139-2151

7 Danksagung

Mein Dank gilt allen, die mich auf dem Weg der Habilitation unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt dabei Herrn PD Dr. Ralf Dechend und Herrn Prof. Dr. Dominik Müller, die mich herzlichst in Ihrer Arbeitsgruppe aufgenommen haben und meinen bisherigen Werdegang mit viel Rat und Tat begleitet und gefördert haben. Hierbei haben sie mir immer die Freiräume zur Entwicklung meiner Forschung und Verwirklichung meiner Ideen gelassen. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Friedrich C. Luft bedanken, der mir immer eine große Inspiration in meiner Tätigkeit als Wissenschaftler war und der durch seine Bemühungen im Aufbau und der Verwirklichung des Experimental and Clinical Research Centers das Schaffen und Gelingen vieler Arbeitsgruppen hier im Haus geebnet hat.

Danken möchte ich auch der gesamten Arbeitsgruppe Müller/Dechend, deren viele Hände das tägliche Forschen erst ermöglichen und die stets bemüht sind alle Forschungsvorhaben in die Tat umzusetzen. Vielen Dank Gabriele N'Diaye, Jana Czychi, Ilona Kamer, May-Britt Köhler, Mathilde Schmidt, Jutta Meisel, Astrid Schiche, Heike Schenck, Dr. Sabine Bartel, Ralph Plehm, Reika Langanki, Ute Gerhard, Dr. Lajos Marko, Dr. Nicola Wilck, Dr. Andras Balogh für Eure großartige Unterstützung. Insbesondere möchte ich mich an dieser Stelle bei Frau Juliane Anders bedanken, deren unermüdlicher Einsatz und Freude entscheidend zum Gelingen unserer Forschungsprojekte beigetragen hat und mir stets ein freudiges Arbeiten möglich macht. Ebenfalls danken möchte ich unseren derzeitigen Doktoranden Lukasz Przybyl und Julianna Rugor, die mit viel Fleiß und Engagement die jüngsten Forschungsprojekte mit Leben füllen.

Danken möchte ich auch Frau Dr. Maren Wellner, die mich meine ersten Jahre in der Wissenschaft geleitet und gefördert hat. Dr. Nadine Haase, Dr. Michaela Golic, Dr. Bastian Buschmeyer, Dr. Ulrike Maschke, Dr. Lydia Hering, Dr. Petra Gratze und Dr. Sandra Feldt möchte ich für die wissenschaftlich anregenden Gespräche und insbesondere für die freundschaftliche Unterstützung über viele Jahre im Labor-/Büroalltag danken. Herrn Dr. Jürgen Janke und Henning Damm danke ich ebenso für ihre langjährige Unterstützung und hilfreichen Ratschläge.

Mein Dank gilt auch allen Kooperationspartnern die mich in allen Forschungsprojekten begleitet und unterstützt haben. Besonderer Dank gilt hier Frau

Prof. Dr. Anne Cathrine Staff und ihrer Arbeitsgruppe in Oslo, Norwegen, die mich seit vielen Jahren in vielen Projekten hervorragend und freundschaftlich unterstützt haben. Herrn Dr. Harald Heidecke, Herrn Dr. Kai Schulze-Forster und dem gesamten Team der CellTrend GmbH danke ich für die jahrelange besondere Unterstützung meiner Arbeit. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. Gerd Wallukat und Herrn Dr. Wolf-Hagen Schunck und seiner Arbeitsgruppe vom MDC-Berlin, Herrn PD Dr. Stefan Verlohren aus der Charité und Frau Prof. Dr. Babbette LaMarca (Jackson, USA) für eine erfolgreiche und fruchtbare Kooperation.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Institutionen, die mich auf meinen bisherigen Weg finanziell, personell und administrative unterstützt haben, namentlich das Experimental and Clinical Research Center (ECRC), die Charité Universitätsmedizin Berlin, das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz Gemeinschaft (MDC) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG).

Mein größter und von ganzem Herzen kommender Dank geht an meine Eltern Brigitta und Günter und meine Frau Melanie, welche mich täglich bedingungslos unterstützen und den Weg für diese Arbeit und meine gesamte Karriere bereitet haben.

8 Eidesstattliche Erklärung

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, 26.08.2015

.....

Unterschrift