

1 Einleitung

1.1 Die Familie der Epidermal Growth Faktor-Rezeptoren (EGF-Rezeptoren)

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden zahlreiche Mediatoren der Signalvermittlung für die Kontrolle der verschiedensten Zellvorgänge entdeckt und erforscht (Faumann und Saper 1996; Robinson und Cobb 1997). Lokal wirkende Peptide zur Regulation von Zellteilung und Differenzierung bezeichnet man als Wachstumsfaktoren. Die epidermalen Wachstumsfaktoren und ihre Rezeptoren stehen am Anfang wichtiger Regulationsketten. Sie wirken in so komplexen Prozessen wie der Regulation von Zellwachstum, Migration, Zelldifferenzierung und Zelltod (Chen et al. 1994; Wells 1999).

Zur "epidermal growth factor receptor" (EGFR) Familie gehören vier Mitglieder: der zuerst entdeckte „Stammrezeptor“ - **Human epidermal growth factor receptor -HER1/ EGFR/ c-ErbB1** (Ullrich et al. 1984), **HER2/c-ErbB2** ohne bekannte spezifische Ligandenbindung (Schechter et al. 1985), **HER3/c-ErbB3** mit verminderter intrinsischer Aktivität (Kraus et al. 1989) und **HER4/c-ErbB4** (Plowman et al. 1993).

1.1.1 Molekularer Aufbau

Fast alle Protein-Tyrosinkinase-Rezeptoren der EGFR-Gruppe sind strukturell ähnlich (Songyang et al. 1993). Es handelt sich um monomere transmembrane Typ-I-Tyrosinkinasen mit der Fähigkeit Dimere zu bilden (Abb. 1). Sie bestehen aus einer N-terminalen extrazellulär lokalisierten Domäne (für die Ligandenbindung), einer kurzen Transmembrandomäne und einer zytosolischen Kinasendomäne mit enzymatischer Aktivität (Wells 1999). Daran gekoppelt ist eine carboxyterminale Region hoher Sequenzheterogenität mit fünf Tyrosin-autophosphorylierungsmotiven (Mason und Gullick 1995). Diese dienen als Andockstellen für verschiedene zytoplasmatische Signalproteine mit src-Homologie-2 (SH2).

Die phylogenetisch hochkonservierte Signalkaskade wurde zunächst bei der fetalen Lidöffnung als direkt EGF-abhängig beschrieben (Mendel 1990). Die Evolution vom originären Urliganden in dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* (Chang und Sternberg 1999) ent-

wickelte sich über vier Liganden für einen Rezeptor in *Drosophila melanogaster* (Schweitzer 1997) bis zum Menschen mit zehn Liganden für vier Rezeptoren (Birchmeier 1993).

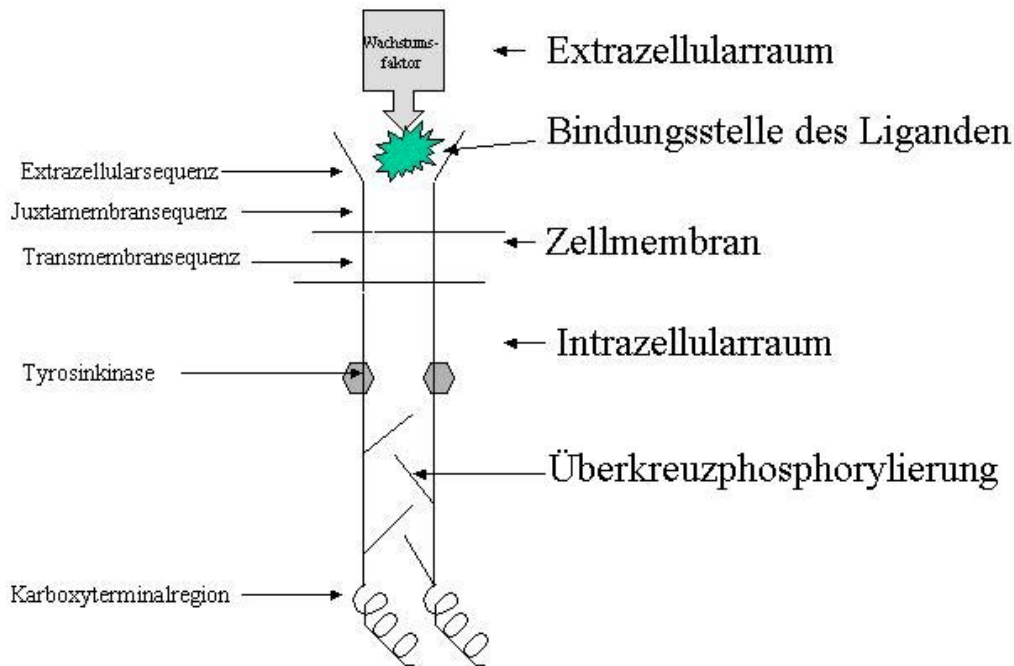


Abbildung 1: Schematischer Aufbau eines EGF-Rezeptors

1.1.2 Rezeptorwechselwirkung mit den EGF-verwandten Peptiden

Die zahlreichen EGF-verwandten Peptide besitzen gemeinsam ein oder mehrere sogenannte Motive. Dabei handelt es sich um eine Sequenz von sechs konservierten Zysteinen in definierten Positionen einer ca. 40 Aminosäuren umfassenden Region (Campbell und Bork 1993). Die Ausbildung von drei intramolekularen Disulfidbrücken bedingt die typische dreischleifige Sekundärstruktur (Salomon et al. 1995). Diese stellen das EGF-Motiv dar, welches für Rezeptorbindung und Rezeptoraktivität für biologischen Aktivitäten essentiell ist (Riese et al. 1998).

Tabelle 1: Liganden der EGF-Familie mit Rezeptoraffinität, + für Aktivierung, - für negative Bindung, 0 für Bindung ohne Rezeptoraktivierung, Angaben in Klammern für geringere Intensität (Chang et al. 1997; Riese et al. 1996; Salomon et al. 1995; Sweeney et al. 2000; Beerli und Hynes 1996; Graus-Porta et al. 1997; Nagy et al. 1999)

Liganden und Rezeptoren der EGF-Familie in epithelialen Gewebe und entsprechende Rezeptoraffinität im Menschen											
Wachstumsfaktor	Abkürzung	HER1	HER2	HER3	HER4	HER1/2	HER1/3	HER1/4	HER2/3	HER2/4	HER3/4
Epidermal growth factor	EGF	+	-	-	-	++	++	+(+)	--	--	--
Transforming growth factor α	TGF α	+	-	-	-	++	++	+(+)	--	--	--
Heparin-binding EGF	HB-EGF	+	-	-	+	++	++	++	--	++	-+
Amphiregulin	AR	+	-	-	-	++	++	+(+)	--	--	--
Betacellulin	BTC	+	-	-	+	++	++	++	--	++	-+
Epiregulin	EPR	+	-	-	+	++	++	++	--	++	-+
Neuregulin 1 (α -Heregulin)	NRG	-	-	0	+	--	++	(+)-	++	++	(+)+
Neuregulin 2 (β -Heregulin)	NRG1	-	-	0	+	--	++	(+)-	++	++	(+)+
Neuregulin 3	NRG3	-	-	+	+	--	--	-+	--	++	(+)+
Neuregulin 4	NRG4	-	-	-	+	--	--	-+	--	++	(+)+

Zahlreiche Liganden können zu c-ErbB-rezeptorvermittelten Reaktionen führen, welche wiederum in Intensität und Dauer die jeweilige Wirkung modulieren (Riese et al. 1998). Es wurden spezifische Liganden für einzelne Rezeptoren oder Rezeptorkombinationen gefunden (Tab. 1). Weitere Proteine aus der sogenannten EGF-CFC-Familie verfügen über molekulare Ähnlichkeiten zu EGF-Peptiden, wie zum Beispiel Cripto-1 (Brandt et al. 1994) oder Cryptic (Shen et al. 1997) mit deutlich verändertem Signaling (Kannan et al. 1997).

1.1.3 Dimerisierung als Wirkmechanismus

Die isolierten, monomeren Rezeptoren sind in der Zellmembran normalerweise ohne Enzymaktivität. Verschiedene Liganden wie EGF, TGF- α oder Neureguline binden an die extrazelluläre Domäne und führen über Konformationsänderungen zur Bildung von Homo- und/oder Heterodimeren. Tyrosinresiduen des einen Rezeptors werden vermutlich kreuzphosphoryliert mit den Tyrosinresiduen des Partnermonomers. So entstehen neue Bindungsstellen für zytoplasmatische Enzyme und Adapterproteine. Die Assoziation dieser Komplexe führt zur Aktivierung von Effektorproteinen mit spezifischen zytoplasmatischen Bindungsstellen, wie z.B. der p42/44 "mitogen activated protein kinase (MAPK)", der Phosphoinositol-3-kinase (PI-3-kinase), der antiapoptotischen Kinase (Akt) und verschiedenen Transkriptionsregulatoren (Yarden und Sliwkowski 2001). Yarden (2001) beschreibt das epidermal growth factor-Netzwerk als mehrschichtiges Modell (Abb. 2). Über die Regelung der Enzymaktivität von Phospholipase C (PLC) können Hydrolyseprodukte von Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat (PIP₂), einem Bestandteil der inneren Zellmembran, als second messenger der Protein-Tyrosinkinasen wirken. PLC spaltet PIP₂ in Inositol 1,4,5-triphosphat (IP₃) und Diacylglycerin (DAG) sowie Aktin modifizierendes Protein (AMP). Diese Reaktion kann durch G-Proteine via PLC β oder über SH2-Domänen in PLC von aktivierten Rezeptor-Protein-Tyrosinkinasen gesteuert werden (Songyang et al. 1993). DAG aktiviert Protein-Serin-/Threoninkinasen, welche zur Familie der Protein C Kinasen (PKC) zählen. Selbigen werden wichtige Rollen in der Kontrolle von Zellwachstum und Differenzierung zugeordnet (Xie et al. 1998). IP₃ kann von der Membran ins Zytosol gelangen. Über spezifische IP₃-rezeptorgesteuerte Kanäle am Endoplasmatischen Retikulum ist ein Einstrom von Kalziumionen (Ca²⁺) ins Zytosol möglich. Im kalziumionenreichen Milieu ändern sich Konformationen und Affinitäten von Proteinkinasen, so dass weitere Reaktionen möglich werden.

Die Zytokinrezeptoren führen direkt über Protein-Tyrosinkinasen (JAK) und Bindung von SH2-Homologa des STAT-Komplexes zur Transkription (Robinson und Cobb 1997).

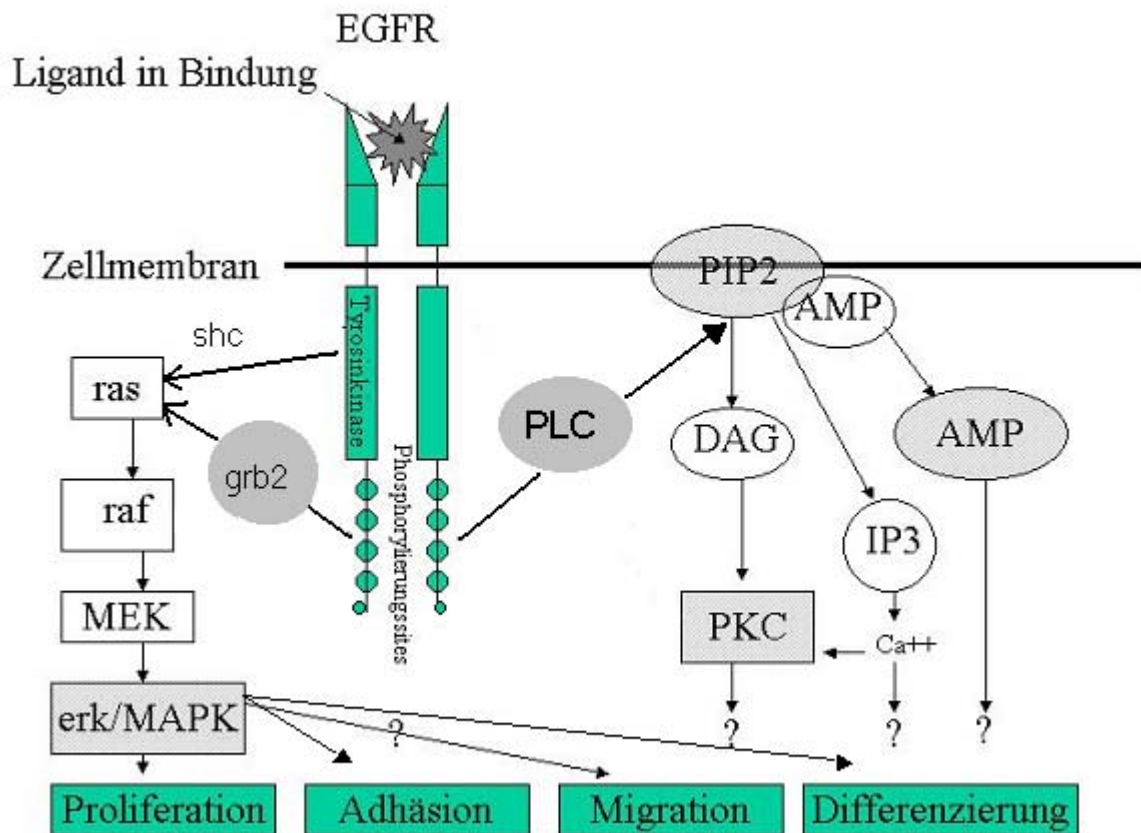


Abbildung 2: Mehrschichtiges Modell des epidermal-growth-factor-Netzwerk's (Yarden 2001).

In der ersten, juxtamembranen Ebene erfolgt die Annahme der Information. Unterschiedliche Liganden binden an Rezeptorkombinationen mit transmembraner Weiterleitung des Signals. In der zweiten, zytoplasmatischen Ebene reagieren spezifische Adapterproteine, wie Phospholipase C- γ (PLC γ), mit intrazellulären Abschnitten der aktivierten transmembranen Rezeptoren. Im Resultat führt beispielsweise PLC γ -vermittelte Hydrolyse von Phosphatidylinositol (4,5)-biphosphat (PIP₂) zu Inositol 1,4,5-triphosphat (IP3), Diacylglycerin (DAG) sowie Aktin modifizierendem Protein (AMP). ProteinkinaseC (PKC) und die IP3-Kalzium (Ca⁺⁺)-Kaskade führen ebenso wie AMP über weitere Schritte zu Migration und Differenzierung. Die Proliferation wird über die im folgenden Abschnitt 1.1.4 beschriebene Kaskade der mitogen-activated protein kinasen (MAPK) vermittelt.

1.1.4 Intrazelluläre Signaltransduktion

Unter den verschiedenen intrazellulären Signaling-Netzwerken sind Phosphorylierungskaskaden, insbesondere Proteinkinasen der „mitogen-activated protein kinase“ (MAPK), sehr häufig (Brunet und Pouyssegur 1997). Alle MAPK-Module folgen einem hochkonservierten

Modell. Es besteht aus einer Serin-/Threoninkinase (MAP Kinase Kinase Kinase oder MKKK), die eine dualspezifische Threonin-und/oder Thyrosinkinase (MAP Kinase Kinase oder MKK) phosphoryliert. Diese aktivierte MKK phosphoryliert eine Serin-/Threonin-Kinase an zwei Stellen eines Motivs nahe dem enzymatischen Zentrum (Hanks et al. 1988). Die aktivierten MAPK sind Prolin-gerichtete Proteinkinasen mit der Fähigkeit, vielfältige Substrate die ein Motiv mit Prolin/beliebige Aminosäure enthalten, zu phosphorylieren (Songyang et al. 1996).

Die Phosphorylierung des p42/p44 MAPK-Moduls ist in Abb. 3 dargestellt. Die Rezeptordimerisierung der Rezeptortyrosinkinasen (RTK) führt zur Thyrosinphosphorylierung in SH2-Domänen des Adapterproteins Shc. Das aktivierte Shc interagiert mit SH2-Domänen in GRB2 (Guanin-Releasing Binding protein 2). GRB2 moduliert Ras (GDP/GTP bindende Guanosin-triphosphatase).

Wahrscheinlich werden von Ras bestimmte Effektormoleküle, wie SOS (Son-of-sevenless - Guaninnukleotidaustauschmolekül), aus dem Zytoplasma rekrutiert und an die innere Zellmembran angenähert (Blenis 1993). SOS beschleunigt den Austausch von GDP zu GTP in Ras und aktiviert es so. Dies ist ebenso über G-Proteine möglich (Brunet und Pouyssegur 1997). Ras lokalisiert Raf vermutlich näher an die innere Zellmembran mit ihren Phosphorylierungsmöglichkeiten und aktiviert es somit (Burgering und Bos 1995). Raf in seiner Funktion als MKKK phosphoryliert die MKK1/2 (Alessi et al. 1994). Beide eng verwandten MAPK werden auch als ERK2 (extrazellular regulierte Kinase2) und ERK1 (extrazellular regulierte Kinase1) bezeichnet (Boulton et al. 1991). MAP-Kinasen können viele verschiedene Substrate phosphorylieren und somit regulativ an verschiedenen Stellen wirken. So führt die Aktivierung des Transkriptionsfaktors Elk1 über Induktion der c-fos-Genexpression zu Änderungen in Zellwachstum und Differenzierung (L'Allemain 1994).

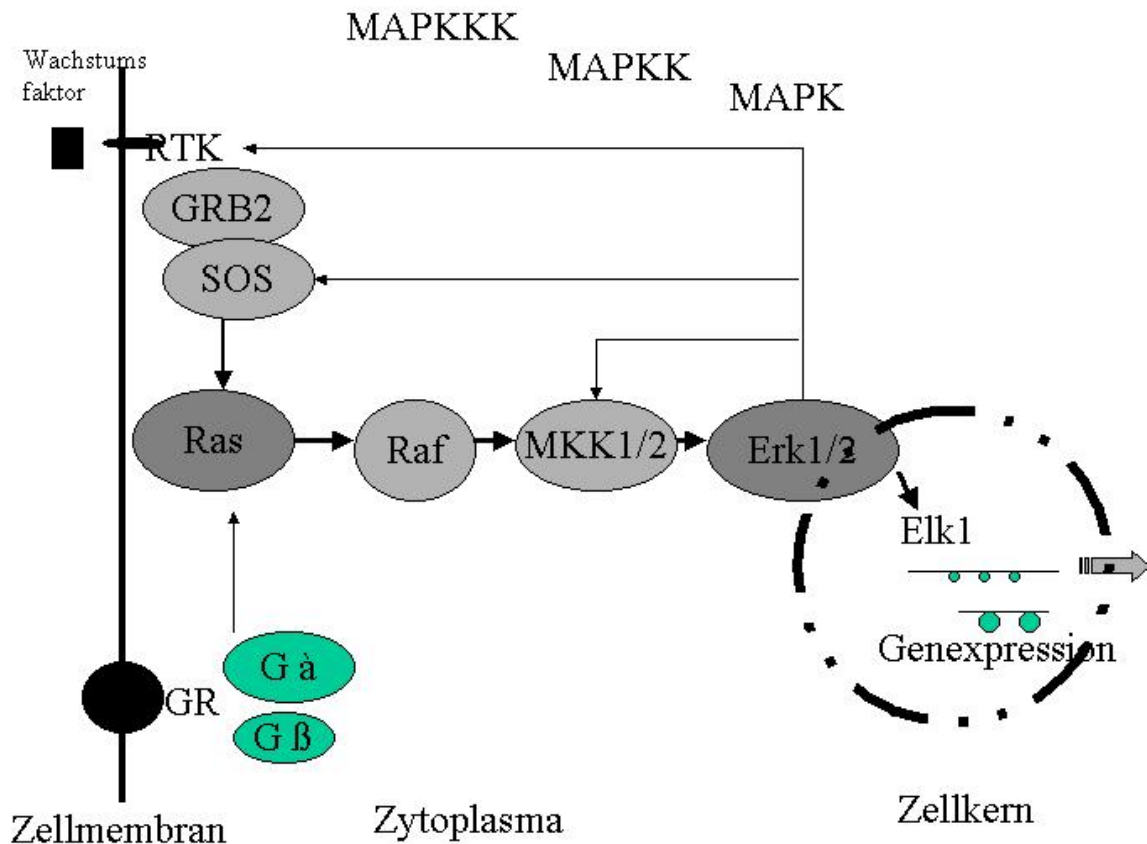


Abbildung 3: Phosphorylierung des p42/p44 MAPK-Moduls.

Nach Rezeptortyrosinkinaseaktivierung (RTK) durch einen Liganden wird GRB2 über SH2-Bindungsstellen aktiviert. Die Annäherung von Nucleotid-austauschern (SOS) an die Zellmembran aktiviert Ras. Die Signaltransduktion wird über Raf zur „MAPkinase/ ERK-activating kinase1/2 (MKK1/2) getragen, welche letztlich via Erk1/2 als mitogen-activated-Proteinkinase (MAPK) die Genexpression im Zellkern reguliert und über feedback das Signaling direkt modulieren kann.

1.1.5 Signalverstärkung/-abschwächung, Signalverlängerung

Die Signaldauer wird hauptsächlich durch Endozytose gesteuert. Nach Internalisierung der aktivierten Rezeptoren in clathrin-coated pits der Zellmembran sind sowohl die lysosomale Degradierung als auch das Recycling möglich (Wells 1999). Während die Anwesenheit der Ligase Cbl zur Rezeptorzerstörung führt, kehrt der Rezeptor bei Abwesenheit der Ligase Cbl in die Zellmembran zurück (Levkowitz 1998). V-Cbl, die viral-onkogene Form von Cbl, recycelt ebenfalls den Rezeptor (Levkowitz 1998).

Eine noch höhere Dimension der Komplexität bewirkt die Bildung von Homo- und Heterodimeren der Rezeptoren (Pinkas-Kramarski et al. 1996). Innerhalb dieses Informationsnetzes bildet HER2 den wichtigsten Partner für HER1 (Graus-Porta et al. 1997). Verschiedene Mechanismen bedingen die Stärke des Heterodimers HER1/HER2 (Tzahar et al. 1996). Durch stabilere Oberflächenbindungen von HER2 an die Membran und geringere Caveolae-ausschleusungen wurde eine prolongierte Informationsvermittlung nachgewiesen, welche ebenso durch pH-abhängige HER2-basierte Dissoziation des Heterodimers modifiziert wird (Karunagaran et al. 1996). Die zeitlich gestreckte Signalübermittlung resultiert in einer verstärkten Informationsvermittlung (Muthuswamy 1999). Ebenso wurde die geringere Endozytose von HER2-Heterodimeren gegenüber HER1-Homodimeren gesichert (Lenferink 1998). Zusätzlich werden mehr HER1/HER2-Heterodimere als HER1-Homodimere recycelt, womit es über erneute Rezeptorendarbitung nach Recycling zur Signalverstärkung kommt (Yarden und Sliwkowski 2001).

1.1.6 Biologische Konsequenzen

Das EGFR-Signalingsystem spielt eine essentielle Rolle in der Morphogenese (Threadgill et al. 1995). So führt in transgenen Mäusen ohne HER1 die gestörte Entwicklung epidermaler Gewebe zu vorzeitigem Tod durch Versagen von Organen epithelialen Ursprungs (Sibilia und Wagner 1995). Die Differenzierung enteraler Zellen bleibt aus (Birchmeier und Birchmeier 1993). Die Aufzweigung und Größe der Brustdrüsengänge in der fortgeschrittenen Schwangerschaft wird ebenfalls über HER1 geregelt (Wiesen et al. 1999). Gegenüber dem oft letalen Effekt einer HER1-Depletion wurden bei homozygot $TGF\alpha$ -depletierten Mäusen fertile Exemplare mit geringen Änderungen der Augen und Haarfollikel gefunden (Mann et al. 1993). Das Fehlen eines Rezeptors ist mit wesentlich gravierenderen Folgen als das Fehlen eines Liganden verbunden (Luetteke et al. 1993).

Mehrere Autoren untersuchten die Verteilung von Wachstumsfaktoren und Rezeptoren der EGF-Gruppe. Carson zeigte den kontinuierlich von der 6. Schwangerschaftswoche (SSW) bis zum Ende der Schwangerschaft ansteigenden Anteil von EGF und HER1 in normalen Plazenten (Carson 1983). Eine ausgeprägte Dezidua- und villöse Zytotrophoblastenexpression von HER1 gegenüber einer isolierten starken HER2-Expression an intermediären

Trophoblasten fanden Wang und Mitarbeiter (1992) in acht Plazenten des 1. Trimenons. Demgegenüber konnte im 3. Trimenon (drei Plazenten) nur eine geringere Expression von HER1 in Synzytiotrophoblasten (SZT) und in Stromazellen sowie eine geringe HER2-Expression in intermediären Trophoblasten dargestellt werden (Wang et al. 1992). In einer aktuellen Arbeit wurde jedoch eine nahezu gleichbleibend hohe Konzentration von HER1 in Zytotrophoblasten (ZT) und SZT während der gesamten Schwangerschaft nachgewiesen (Kita et al. 2003).

Im Vergleich von 18 normalen Plazenten des ersten Trimesters mit 17 Plazenten mit partiellen (Median 8,4 SSW) und 25 Plazenten mit kompletten Blasenmolen (Median 9,9 SSW) sowie sowie 11 Chorionkarzinomen fand man ausschliesslich eine mäßige zellmembrangebundene Expression in HER2 in extravillösen Zytotrophoblasten (EVT) bei komplett negativer Expression in SZT (Fulop et al. 1998). Später wurde diese Untersuchung an elf Plazenten der 8.-12. SSW zur bisher einzigen Darstellung aller vier EGF-Rezeptoren in vergleichbaren SSW ergänzt (Tuncer et al. 2000). Die frühen SSW zeigen demnach eine starke Expression von 82% HER1 in EVT und eine schwache Expression in Zytotrophoblasten (91%) und Synzytiotrophoblasten (81%). HER4 weist in 64% eine starke Expression in Zytotrophoblasten und in 82% eine schwache Expression in Synzytiotrophoblasten sowie in 64% in EVT auf. HER3 zeigt in ca. 55% eine starke und 45% eine schwache Expression in allen drei Subpopulationen des Trophoblasten (Tuncer et al. 2000). Der villöse Zytotrophoblast wurde von Fulop et al. (1998) nicht beurteilt.

Der Vergleich von Plazentagewebe von Patientinnen mit hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft (HES) gegenüber Gesunden zeigte eine höhere Expression von HER1 mit inverser Korrelation des HER1-Gehalts zum Schwangerschaftsalter bei Frauen mit HES (Ferrandina et al. 1995). Bei der häufig mit HES vergesellschafteten intrauterinen Wachstumsretardierung zeigten sich in 12 von 14 Plazenten (36 SSW) erniedrigte HER-1-Phosphorylierungsraten (Fondacci et al. 1994). Bei den hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen sind die teilweise abrupt auftretenden Veränderungen der Spätschwangerschaft auf Fehlanpassungen in der Frühschwangerschaft zurückzuführen (Brosens et al. 1972). Dementsprechend sind exakte histologisch gestützte Untersuchungen mit großen Patientenkollektiven aus ethischen Gründen nur selten erfolgt (Fisher 2000). Trotz relativ lange bekannten Arteriolenwandveränderungen, durch verminderte Invasivität der extravillösen

Trophoblasten bleibt die Umwandlung in dilatierte utero-plazentare Arterien aus, sind die Ursachen der verminderten Trophoblastenaktivität nicht geklärt (Redman et al. 1999). Verschiedene Arbeiten weisen weniger auf EGF als vielmehr auf die EGF-Rezeptoren der Trophoblastenpopulationen als entscheidende Glieder in der Regulationskette der physiologischen Plazentaentwicklung hin (Faxen et al. 1998). In der aktuellen Literatur konnte keine zusammenhängende Untersuchung aller vier HER an Patientinnen im 2. und 3. Trimenon gefunden werden. Bisher fehlen ebenso Vergleichsdaten in ausreichend großen Normalkollektiven.

1.2 Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen

Gemeinsames Merkmal der hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft ist ein arterieller Hypertonus. Wird die Blutdruckerhöhung erst nach der 20. Schwangerschaftswoche diagnostiziert und besteht der Hypertonus nur kurzfristig über das Ende der Schwangerschaft hinaus, handelt es sich um eine Gestationshypertonie. Beim Hinzutreten einer Proteinurie ist die Diagnose einer Präeklampsie zu stellen (Rath 2000). Nach Wallenburg (2002) ist die Präeklampsie die wichtigste Ursache der maternalen Mortalität und Morbidität. In Deutschland beträgt die Gesamthäufigkeit der hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft nach Angaben der Deutschen Perinatalstatistiken 2-7% (Faridi 2002). Wegen der erhöhten perinatalen Mortalität, bei schwerer Präeklampsie/ Eklampsie bis zu 20%, und der mütterlichen Gefährdung handelt es sich um eine schwerwiegende Schwangerschaftskomplikation (Heilmann et al. 1998).

1.2.1 Definition

Die verwendete Einteilung der HES erfolgt nach der Empfehlung der AG Schwangerschaftshochdruck/ Gestose der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (Rath et al. 2002) in Anlehnung an die Klassifikation der International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (Brown 2001). Eine Hypertension in der Schwangerschaft liegt bei

wiederholt gemessenem systolischen Blutdruck von ≥ 140 mmHg oder diastolischen Wert von ≥ 90 mmHg (Brown 2001) vor. Eine Proteinurie in der Schwangerschaft ist definiert als Eiweißausscheidung von 0,3g und mehr im 24-Stunden-Urin (Faridi 2002).

1.2.2 Einteilung

Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen werden in Gestationshypertonie, Präeklampsie, Chronische Hypertonie und Propfpräeklampsie eingeteilt. Schwere Verlaufsformen mit lebensbedrohlichen Komplikationen stellen die Eklampsie und das HELLP-Syndrom dar (Tab. 2).

Tabelle 2: Klassifizierung der hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft

<u>Gestationshypertonie</u>	Hypertonie, die weder vor der 20. SSW bestand, noch länger als 6 Wochen nach der Geburt anhält: Hypertonie ohne Proteinurie
<u>Chronische Hypertonie</u>	Hypertonie vor Eintritt der Schwangerschaft, zumindest vor der 20. SSW oder postpartal länger als 6 Wochen anhaltend
<u>Präeklampsie</u>	Hypertonie und Proteinurie nach der 20. SSW, postpartal nicht länger als 6 Wochen anhaltend. Es können verschiedene Symptome wie epigastrische Schmerzen, Kopfschmerzen und Sehstörungen auftreten.
<u>Propfpräeklampsie</u>	Auftreten einer Proteinurie bei Schwangeren mit chronischer Hypertonie.
<u>Eklampsie</u>	Schwere Verlaufsform der Präeklampsie mit generalisierten tonisch-klonischen Krämpfen
<u>HELLP-Syndrom</u>	Schwangerschaftskomplikation bei 1:1000 Geburten mit hoher Koinzidenz zur Präeklampsie, charakterisiert durch akut pathologische Laborparameter: Hämolyse , Erhöhte Leberenzyme und Low Platelets (Thrombozyten $< 100000/\mu\text{l}$)

1.2.3 Ätiologie

Bei der klinischen Manifestation einer HES kommt es zu einer Vielzahl von pathophysiologischen Veränderungen der mütterlichen, fetalen und plazentaren Regulationsmechanismen (Redman et al. 1999). Bisher sind die Ursachen der mütterlichen Immuntoleranz gegenüber dem immunologisch differenten Feten nicht bekannt. Während der Synzytiotrophoblast frei von Histokompatibilitätsantigenen ist, konnten zwei Arbeitsgruppen zeigen, dass auf der Oberfläche des invasiven extravillösen Trophoblasten minimalpolymorphe HLA-G (Human Leucocyte Antigene-G) vorhanden sind (Ellis et al. 1990; Kovats et al. 1990). Auf Grund seines minimalen Polymorphismus wird dieser Substanz eine Immuntoleranz vermittelnde Wirkung zugeschrieben. In weiteren Studien sind Unterschiede in der Ausprägung von minimalpolymorphen HLA-G bei präeklampsischen und gesunden Frauen gefunden worden (Goldman-Wohl et al. 2000). Trotz unterschiedlicher, teils gegensätzlicher Ergebnisse stimmen alle Autoren darin überein, dass es bei präeklampsischer Symptomatik zu einer verstärkten immunologischen Antwort der Mutter mit reduzierter Trophoblasteninvasivität kommt (Talosí et al. 2000).

Die Präeklampsie ist an schwangerschaftsspezifische Veränderungen im Plazentagewebe, jedoch nicht an eine intakte uterine Gravidität gebunden (Piering et al. 1993). Insgesamt resultiert eine sehr komplexe Dysregulation, deren kausale Zusammenhänge nur ansatzweise bekannt sind. Als eine allgemein akzeptierte Hypothese gilt die verminderte invasive Potenz extravillöser Trophoblasten und eine überschießende maternale Immunabwehr mit Zerstörung dieser Trophoblasten als Primer (Pijnenborg et al. 1998). Die gestörte Trophoblasteninvasion in die Wand der Spiralarterien hat zur Folge, dass die Endstrecken der uteroplazentaren Arterien nicht dilatieren und die vasomotorische Kontrolle der Mutter in diesen Gefäßabschnitten erhalten bleibt (Moll et al. 1988). Unphysiologische Druckverhältnisse, Zirkulationsstörungen im Intervillosum und ein pathologischer Sauerstoffpartialdruck könnten die Folge sein (Kingdom und Kaufmann 1997). Die Minderperfusion und plazentare Hypoxie induzieren Abläufe, deren noch weitgehend ungeklärte Mechanismen zur Aktivierung des Endothels führen (Redman et al. 1999). Eine entscheidende Bedeutung für die Endothelaktivierung wird dem Oxidationsstress zugesprochen, einem Übergewicht oxydierender Substanzen wie Superoxidanionen, Hydroxylionen und anderen, Sauerstoff enthaltenden, reaktionsfreudigen Molekülen (Davidge 1998). Mit der Oxidation mehrfach

ungesättigter Fettsäuren der Zellmembran von Endothelien oder Lipoproteinen kommt es zu einer Veränderung der Zellfunktion, zur Inaktivierung von Stickstoff-Monoxid (NO) und zu signifikant erhöhten Spiegeln von Lipidperoxiden (Walsh et al. 1995). Die erhöhte Plasmakonzentration oxidierender Substanzen bei der Präeklampsie könnte auf die Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten bei der Passage durch den intervillösen Raum (Roberts 1998) und auf die vermehrte Freisetzung von Tumor-Nekrose-Faktor- α (Stark 1993) zurückgeführt werden. Die in erhöhter Konzentration nachweisbaren Lipidperoxide hemmen die Aktivität der Prostacyclin-Synthase (Salmon et al. 1978) und stimulieren die Thromboxan-Synthase (Marshall et al. 1987), so dass es zu einer erhöhten Sensitivität auf vasopressorische Signale und zu einer Erhöhung der Thrombozytenaggregabilität kommt. Diese als endotheliale Dysfunktion beschriebenen Veränderungen führen zu einer Störung der Balance zwischen endothelialen Vasodilatoren und Konstriktoren, zur Vasokonstriktion und Organminder-perfusion, zu einer Störung der Barrierefunktion des Endothels und zur Aktivierung der Gerinnung (Roberts 1998). Bisher besteht jedoch kein schlüssiges Konzept einer Verbindung von inadäquater Trophoblasteninvasion, pathologischen Veränderungen der Plazentabettgefäße (Brosens et al. 1967), Apoptose und konsekutiver generalisierter Endotheldysfunktion (Talosí et al. 2000). Auch die Ursache für die mit Präeklampsieserum induzierbare Endothelaktivierung ist nicht ausreichend geklärt. Möglicherweise sind freie Radikale (Davidge 1998), deportierte fetale (Holzgreve et al. 1998) oder trophoblastäre Bestandteile (Smarason et al. 1993) dafür verantwortlich. Das Hauptproblem der Präeklampsieforschung besteht darin, adäquate uteroplazentare Gewebsproben aus der ersten Schwangerschaftshälfte zu gewinnen. Dort liegen nach allgemeiner Annahme die pathomorphologischen Ursachen der Erkrankung (Reister und Kaufmann 2002).

1.2.4 Präeklampsie und Eklampsie

Die Präeklampsie tritt mit einer Inzidenz von 3-5% aller Nulliparae und 0,5% aller Multiparae in Europa auf (Redman 1991). Bei Erkrankung der Mutter oder einer Schwester erhöht sich das Risiko auf 25% (Niesert 1996). Auch bei Blasenmolen, Mehrlingschwangerschaften, Nierenerkrankungen, Diabetes mellitus und dem Antiphospholipidsyndrom wurde eine

erhöhte Präeklampsie-Inzidenz beobachtet (Sibai et al. 1995). Ein Übergang in ein HELLP-Syndrom ist bei 10-14% der Präeklampsieerkrankten zu erwarten (Dekker und Sibai 1998).

Wenn im Krankheitsverlauf generalisierte tonisch-klonische Krampfanfälle auftreten, spricht man von einer Eklampsie. Die Krampfanfälle können jedoch auch als Erstsymptom im Verlauf einer Präeklampsie auftreten (Rabe 1990). Als Prodromi gelten Kopfschmerzen, Sehstörungen und Hyperreflexie. Ausgelöst wird der eklamptische Anfall durch fokale neuronale Exzitationen, die hervorgerufen werden durch Vasospasmen mit Ischämien und Hämorrhagien sowie das begleitende Hirnödem, wenn der zerebrale Blutdruck die Grenzen der Autoregulation überschreitet (Kaplan 2002). Die sofortige intravenöse Gabe von Magnesium-Sulfat zur antikonvulsiven Therapie und die Blutdrucksenkung mit Dihydralazin gehören zu den ersten Maßnahmen, die einzuleiten sind, um die lebensbedrohliche Situation zu beherrschen und weitere Anfälle zu verhindern (Cotton 1997; Sibai 2003). Nach Limitierung der Krampfanfälle wird die sofortige Entbindung und eine intensivmedizinische Überwachung gefordert (Rath et al. 2002).

1.2.5 Hypothesen zur Ätiologie

Genetik

Schwere Präeklampsien treten familiär gehäuft auf. Verwandte ersten Grades besitzen ein fünffach erhöhtes Risiko, ebenfalls an einer Präeklampsie zu erkranken (Arngrimson et al. 1990). Bisher ist der Vererbungsmodus bei nachgewiesener genetischer Disposition noch unklar. Einen prägnanten Überblick gaben Dekker und Sibai (1998) in ihrem AJOG Review. Das Präeklampsie-Gen scheint am ehesten auf den Chromosomen 1, 3, 9 oder 18 positioniert zu sein. Eine erhöhte Korrelation zur Präeklampsie weist eine von Ward beschriebene Mutation des Angiotensinogen-Gens auf dem Chromosom 1 auf (Ward et al. 1993). Nach anderen Untersuchungen zeigen sich bei enger Verwandtschaft im HLA-System Interaktionsstörungen zwischen Mutter und alloimmunen fetalem Gewebe (Kilpatrick et al. 1990). Möglicherweise werden keine oder zu wenig blockierende Antikörper entwickelt.

Plazentationsstörung

Die mangelhafte endovaskuläre Invasion des Trophoblasten ist die früheste und regelmäßig nachweisbare Veränderung in der Pathophysiologie der Präeklampsie (Roberts 1998). Postuliert wird eine verminderte invasive Potenz der extravillösen Trophoblasten oder eine überschießende mütterliche Abwehrreaktion. Für einen erfolgreichen Schwangerschaftsverlauf ist das Einwandern von Trophoblastzellen in die Dezidua und das innere Myometrium-drittel unabdingbare Voraussetzung (Reister et al. 1998). Diese invasiven Zellen, der so genannte extravillöse Trophoblast, stellen zusammen mit dem villösen Trophoblasten, der die maternofetale Austauschfläche der Plazentazotten bildet, die beiden Subpopulationen des Trophoblasten dar. Im Rahmen der interstitiellen Invasion lösen sich Trophoblastzellen aus dem Bereich der Zellsäulen der Basalplatte, invadieren die Dezidua und das innere Drittel des Myometriums, und verankern so die Plazenta in der Uteruswand. Während der endovaskulären Invasion finden sich invasive Trophoblastzellen ab der 10. Schwangerschaftswoche in der Wand der Spiralarterien (Reister und Kaufmann 2002). Einige dieser Zellen drängen in die Media und ersetzen die mütterlichen glatten Muskelzellen, gleichzeitig bilden spezialisierte Trophoblasten eine endothelartige Gefäßauskleidung (Marzusch et al. 1999). Der Ersatz des Endothels der Spiralarterien, in Verbindung mit einer ausgeprägten Gefäßdilatation durch die trophoblastbedingte funktionelle Zerstörung der Media, kennzeichnet den Übergang der ursprünglichen Spiralarterien in die uteroplazentaren Arterien (Brosens et al. 1967). Diese Veränderungen führen zu einer Erweiterung des Arteriolengefäßdurchmessers auf das Vierfache mit einer resultierenden Verzehnfachung des uteroplazentaren Flows (Pijnenborg et al. 1983).

Durch verringerte Aktivität der invasiven Zytotrophoblasten erfolgt eine nur inkomplette Anpassung der Spiralarterien. Diese erfahren ihre Erweiterungen nur im dezidualen Bereich, während der myometriale Anteil durch die temporär und räumlich verminderte Trophoblasteninvasion nahezu unverändert bleibt (Brosens et al. 1972). Es resultiert ein um 60% verminderter Gefäßdurchmesser gegenüber dem Normalzustand in der Spätschwangerschaft, so dass im Ultraschall-Dopplerflussmuster der Aa. uterinae ein erhöhter Strömungswiderstand nachgewiesen werden kann (Bewley et al. 1991). Mit dem weiteren Wachstum des Feten kann es zu einer zunehmenden Störung der plazentaren Versorgung kommen, mit Auswirkungen auf das fetale Wachstum und die Sauerstoffversorgung. Die Minderperfusion und

plazentare Hypoxie induzieren Abläufe, deren noch weitgehend ungeklärte Mechanismen zur Aktivierung des Endothels führen (Redman et al. 1999).

Akute Atherose , Trophoblastendebriis

Das akute Auftreten von fibrinoiden Nekrosen mit perivaskulärer Lymphozyteninfiltration und Lipidanreicherungen in den Gefäßwänden wird als akute Atherose der uteroplazentaren Gefäße bezeichnet (Jones und Fox 1980; Khong 1991). Sie ist besonders häufig mit Lupus Erythematodes (Taylor et al. 1991) korreliert. Im Resultat kommt es zu Stenosen bzw. Verschlüssen in den Gefäßen der uteroplazentaren Blutzufuhr, zur Mangelversorgung im Intervillosum und letztlich zu Plazentainfarkten. Auch eine generalisierte inflammatorische Reaktion auf immunogene Zerfallsprodukte des Synzytiotrophoblasten wird diskutiert und von Redman als umfassendes Modell dargestellt (Johansen et al. 1999; Redman und Sargent 2000).

Endotheliale Dysfunktion

Die klinischen Leitsymptome der Präeklampsie können mit einer Störung der Endothelfunktion in Verbindung gebracht werden (Roberts 1998). Die komplexen Vorgänge am Endothel, initiiert durch mangelhafte Trophoblasteninvasion mit resultierender Minderperfusion und plazentarer Hypoxie, führen durch verstärkte Arteriolenkontraktion zum Hypertonus sowie zur Ödembildung durch gestörte Barrierefunktion des Endothels. Fibrinablagerungen und Endothelschwellung bewirken über vermehrte Proteindurchlässigkeit eine Proteinurie (Roberts 1998). Hier könnte die inkomplette Anpassung der epithelialen Fibrinstrukturen der Trophoblastenmembranen eine Rolle spielen. Gegenüber dem Endotheltyp (VE-cadherin, Integrin $\alpha_1\beta_1$), welcher bei kompletter Trophoblastenanpassung in den Deziduagefäßen nachweisbar ist, sind bei Frauen mit HES inkomplette Fibrinumwandlungen mit Epithelmarkern (E-cadherin, Integrin $\alpha_6\beta_4$) an den Membranoberflächen nachgewiesen worden (Zhou et al. 1997). Offensichtlich erfüllen endovaskuläre Trophoblastzellen bei Präeklampsie damit nur unvollkommen ihre Aufgabe als „Schwangerschaftsendothel“ (Reister und Kaufmann 2002). Über Thromboxanaktivierung können zahlreiche Mikrothromben entstehen mit Auswirkungen auf die Zirkulation bis hin zur disseminierten intravasalen

Gerinnung (Perry und Martin 1992). Die durch Vasokonstriktion und Thrombosierung zunehmende Hypoperfusion der villösen Räume der Plazenta führt zu Plazentainfarkten, fetaler Wachstumsretardierung und vorzeitiger Plazentalösung (Mires et al. 1998).

Wachstumsfaktoren

Das Plazentawachstum und die weitere Differenzierung wird unter anderem über Apoptoseregulation gesteuert (Genbacev et al. 1999). Daran sind zahlreiche Zytokine, Transkriptionsfaktoren, extrazelluläre Matrixmetallproteasen (MMP) und Wachstumshormone mit ihren unterschiedlich exprimierten Rezeptoren beteiligt (Tab. 3).

Tabelle 3: Wachstum und Differenzierung der Plazenta: Beteiligung von Interleukinen, Wachstumsfaktoren, Transkriptionsfaktoren und Extrazellulärmatrixproteasen

ERK1/2	Extrazellulär signal-regulated kinase1/2	(Kita et al. 2003)
TNF α	Tumornekrosefaktor α	(Pober und Cotran 1990)
IL1/2, IL6	Interleukin1/2 und 6	(Bulmer 1992)
c-myc und junB	Protoonkogene	Review in Morrish et al. (1998)
MMP1,2,3,9	Matrixmetallproteasen1,2,3 und 9	(Bischof et al. 2000)
IGF1+2 /IGFBP1-6	Insulinlike Growth factor und Rezeptoren 1-6	(Jones und Clemmons 1994)
Integrine (u.a. $\alpha_5\beta_1$)	Integrine, $\alpha_5\beta_1$	(Aplin et al. 2000)
PDGF	Platelet-derived growth factor	(Taylor et al. 1991)
VEGF	Vascular endothelial growth factor	(Cheung 1997)
EGF and EGFR	Epithelial growth factor und Rezeptor	(Maruo T. 1995)

Eine zentrale Rolle nehmen der Epidermal Growth Factor und die entsprechende Rezeptorfamilie ein (Faxen et al. 1998), deren Ausprägung im plazentaren Gewebe in dieser Untersuchung näher dargestellt werden soll.

1.2.6 HELLP-Syndrom

Das HELLP-Syndrom wurde als Entität von Weinstein (1982) mit den typischen laborchemischen Veränderungen einer Hämolyse, einem Anstieg der Transaminasen und dem Abfall der Thrombozyten unter $100000 / \mu\text{l}$ beschrieben. Bereits 1954 berichteten Pritchard et al., dass es bei Patientinnen mit der Symptomatik einer Präeklampsie zusätzlich zum Auftreten einer Hämolyse, einer Thrombozytopenie und epigastrischer Schmerzen kommen kann. Die derzeitigen pathogenetischen Vorstellungen auf endothelialer Ebene gehen bei der Präeklampsie und dem HELLP-Syndrom von einem Ungleichgewicht zwischen vasodilatatorischen, antiaggregatorischen und vasokonstriktorischen, aggregatorischen Substanzen aus (Egermann und Sibai 1999). Wird der Circulus vitiosus aus sich verstärkender Endotheldysfunktion und Mikrozirkulationsstörungen sowie intravaskulärer Gerinnungsaktivierung mit Thrombozytenverbrauch nicht unterbrochen, so kann eine klinisch manifeste intravasale Gerinnung mit der Folge einer Verbrauchskoagulopathie und tödlichen Blutungen sowie Multiorganversagen resultieren (Ebert und Hopp 2001). Das klinische Leitsymptom der Erkrankung ist der meist rechtsseitige Oberbauchschmerz, der der laborchemischen Manifestation der Erkrankung um Tage vorausgehen kann und durch Dehnung der Glissonschen Kapsel infolge Obstruktion des Blutflusses in den Lebersinusoiden entsteht (Hagen et al. 2001). Komplikationen wie Disseminierte intravasale Gerinnung (21%), akutes Nierenversagen (7,7%), Abrutio placentae (16%), Lungenödem (6%) und intrakranielle Blutungen (5%) sind zu Recht gefürchtet und ursächlich für die hohe und schwere mütterliche Morbidität (Saphier und Repke 1998). Die extreme Gefährdung des Kindes geht aus der hohen Frequenz vorzeitiger Plazentalösungen und fetaler Hypoxien hervor, in der Hälfte der Fälle auf dem Boden einer chronischen Plazentainsuffizienz mit intrauteriner Wachstumsretardierung (Egermann und Sibai 1999). Die geburtshilfliche Entscheidung, ob eine rasche Schwangerschaftsbeendigung notwendig oder ein expektatives Vorgehen möglich ist, hat den Schweregrad und die Dynamik der Erkrankung, die Stabilisierbarkeit des mütterlichen

Zustandes, die Organreife des Kindes und die fetale Zustandsdiagnostik zu berücksichtigen (Sibai 2003). Die Stabilisierung und Prolongation von Schwangerschaften unter 34 SSW, mit dem Ziel einer Reduktion der neonatalen Morbidität und Mortalität, kann unter therapeutischer Volumenexpansion und optimalem Monitoring von Mutter und Kind in über der Hälfte der Fälle bis zum Abschluss der Lungenreifeinduktion gelingen (Hagen et al. 2001). Nach Erstmanifestation eines HELLP-Syndroms liegt die Gesamthäufigkeit für eine hypertensive Schwangerschaft zwischen 27-48 % und das Wiederholungsrisiko für ein erneutes HELLP-Syndrom zwischen 3-19 %, so dass jede erneute Schwangerschaft engmaschig und intensiv überwacht werden muss (Sullivan et al. 1994; Sibai et al. 1995).

1.2.7 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression der EGF-Rezeptoren (HER1, 2, 3 und 4) in Plazentazotten von normalem Plazentagewebe und von Frauen mit hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft untersucht. Dazu waren folgende Fragen zu beantworten und Nachweise zu führen:

- Wird HER1 in normalem Plazentagewebe exprimiert? Trifft dies auch für HER2, HER3 und HER4 zu?
- Nachweis von HER-Expressionsmustern im Zytoplasma, im Zellkern und an der Zellmembran der villösen Trophoblastenpopulationen.
- Treten Kombinationen der Rezeptorexpression in unterschiedlichen Zellen zwischen den verschiedenen HER auf?
- Wird HER1 in Plazentagewebe von Frauen mit Präeklampsie oder HELLP-Syndrom exprimiert? Inwiefern trifft dies auch für HER2, HER3 und HER4 zu?
- Nachweis von HER-Expressionsmustern im Zytoplasma, im Zellkern und an der Zellmembran der villösen Trophoblastenpopulationen.
- Treten Kombinationen der Rezeptorexpression in unterschiedlichen Zellen zwischen den verschiedenen HER auf?