

## 4 Diskussion

### 4.1 Klinik und Therapie der hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen

Die diagnostischen und therapeutischen Entscheidungen bei der Betreuung einer Schwangeren mit einer Präeklampsie orientieren sich maßgeblich an den klinischen Symptomen Bluthochdruck, Proteinurie, Ödeme/Gewichtszunahme, an Prodromalsymptomen und den Komplikationen schwerer Verlaufsformen. Die Höhe des Blutdruckes und das Ausmaß der Proteinurie stehen in einem engen Zusammenhang mit der perinatalen Mortalität und den maternalen Komplikationen. Während die Entwicklung einer leichten Gestationshypertonie oder Präeklampsie in der Nähe des Entbindungstermins nur mit einer minimalen maternalen und neonatalen Morbidität assoziiert ist, geht eine schwere Gestationshypertonie oder schwere Präeklampsie vor der 35. SSW mit signifikant erhöhten maternalen und perinatalen Komplikationen einher (Sibai 2003). Hinweise für die Entstehung einer hypertensiven Erkrankung in der Schwangerschaft können sich aus dem Ultraschallscreening ergeben. In der Dopplersonographie besteht eine hohe Korrelation von hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft und erhöhten Strömungswiderständen des uteroplazentaren Kreislaufes (Bewley et al. 1991). Richtungsweisend ist vor allem eine bilaterale Strömungsreduktion mit Notching in den Aa. uterinae und als Ausdruck einer hochgradigen Gefährdung des Kindes der enddiastolische Flowverlust oder die Flußumkehr (Mires et al. 1998). Mit der Diagnose Gestationshypertonie oder Präeklampsie wird eine engmaschige Überwachung des mütterlichen und fetalen Zustands für die Dauer der Schwangerschaft gefordert. Bei schwerer Erkrankung ist die Einweisung in eine Klinik erforderlich. Schwangere mit schwerer Hypertonie oder schwerer Präeklampsie sind medizinische Notfälle, deren Behandlung als Akutmaßnahme ablaufen muss (Rath 2000). Um eine zerebrovaskuläre Komplikation und eine eventuelle Abruption placentae zu verhindern, stehen die rechtzeitige Diagnosestellung und die unverzügliche stationäre Einweisung mit Einleitung antihypertensiver Maßnahmen im Vordergrund, da die Prognose von Mutter und Kind entscheidend von der Latenzzeit zwischen Diagnose und Stabilisierung des mütterlichen Zustandes abhängt. Es droht entweder eine zerebrale Blutung, ein Multiorganversagen oder eine akute Plazentainsuffizienz

(Heilmann et al. 1998). Das Leitsymptom ist der erhöhte Blutdruck, der bei schwerer Hypertonie systolisch  $\geq 160$  mmHg und/oder diastolisch  $\geq 110$  mmHg für mindestens 6 Std. gemessen wurde (Sibai 2003). Es besteht eine generelle Übereinkunft, dass so stark erhöhte Blutdruckwerte unter stationärer Überwachung medikamentös gesenkt werden müssen, um mütterliche zerebrovaskuläre Komplikationen zu verhindern. Dabei ist ein Zieldruck zwischen 140 und 170 mmHg systolisch sowie 90 und 110 mmHg diastolisch anzustreben (Sibai und Frangieh 1996). Mit einer medikamentösen Therapie wird die Stabilisierung der Mutter und des Kindes angestrebt, bis eine Geburt erfolgreich eingeleitet werden kann. Neben der antihypertensiven Behandlung sind die Flüssigkeitszufuhr und die antikonvulsive Therapie die tragenden Säulen der Behandlung der schweren Präeklampsie (Heilmann et al. 1998). Die therapeutische Volumenexpansion leitet sich aus der Verminderung des Plasmavolumens, einer Hämokonzentration und einer Hypoproteinämie bei schwerer Präeklampsie ab. Bei schweren Präeklampsien wird von Coetzee et al. (1998) in Auswertung einer randomisierten Studie die prophylaktische parenterale Gabe von Magnesiumsulfat empfohlen, weil sich das Risiko eines eklamptischen Anfalls signifikant vermindert. Auch von Sibai (2003) wird zur Prävention eklamptischer Anfälle bei schwerer Präeklampsie Magnesiumsulfat bis mindestens 24 Stunden nach der Geburt gefordert. Der besondere Aufwand bei der intravenösen Magnesiumtherapie liegt in der sorgfältigen Überwachung der Toxizitätszeichen, weil es in hoher Dosierung zu erheblichen Nebenwirkungen kommen kann. In Abhängigkeit von der Magnesiumsulfatkonzentration im Serum drohen der Verlust des Patellarsehnenreflexes, die Verringerung der Atemfrequenz bis hin zum Atemstillstand und Herzrhythmusstörungen (Rath et al. 2002). Die einzige kausale Therapie der hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft ist die Entbindung. 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). Bei schweren hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft vor vollendeten 32 SSW besteht Übereinstimmung darüber, dass eine antihypertensive und antikonvulsive Therapie unter intensivmedizinischen Bedingungen eingeleitet werden muss (Sibai und Frangieh 1996; Cotton 1997). Gelingt die Stabilisierung des Zustandes der Mutter und eine Prolongierung der Schwangerschaft, reduziert die medikamentöse Lungenreifenduktion mit Kortikosteroiden bei Schwangerschaften zwischen 24 und 34 SSW die neonatale

Mortalität und Morbidität signifikant (Sibai 2003). Unter Berücksichtigung der Studien von Sibai et al. (1994) und Odendaal et al. (1990) zeigte sich, dass die sofortige Entbindung verglichen mit einem expektativen Vorgehen Magee et al. (1999) eine vergleichbare mütterliche Morbidität, weniger wachstumsretardierte Kinder und eine höhere neonatale Morbidität nach sich zieht. Auch Visser und Wallenburg (1995) beobachteten eine geringere neonatale Morbidität und Mortalität nach expektativem Vorgehen bei 254 Frauen mit schwerer Präeklampsie. Zusammengefasst ergibt sich, dass zwischen 24 und 32 SSW versucht werden sollte, die Schwangerschaft bei einer schweren Präeklampsie unter Intensivüberwachung von Mutter und Kind zu prolongieren (Olah et al. 1993) (Friedman et al. 1999; Sibai 2003). Alle Frauen mit schwerer, therapierefraktärer Präeklampsie oder Zeichen einer Verschlechterung des fetalen Zustandes sollten innerhalb von 24 Stunden unabhängig von Schwangerschaftsdauer und Lungenreife entbunden werden. Schwangere mit schwerer Präeklampsie und einer Schwangerschaftsdauer über 34 Wochen sind möglichst rasch zu entbinden (Rath et al. 2002).

## 4.2 Rezeptorexpression im Vergleich der Patientengruppen

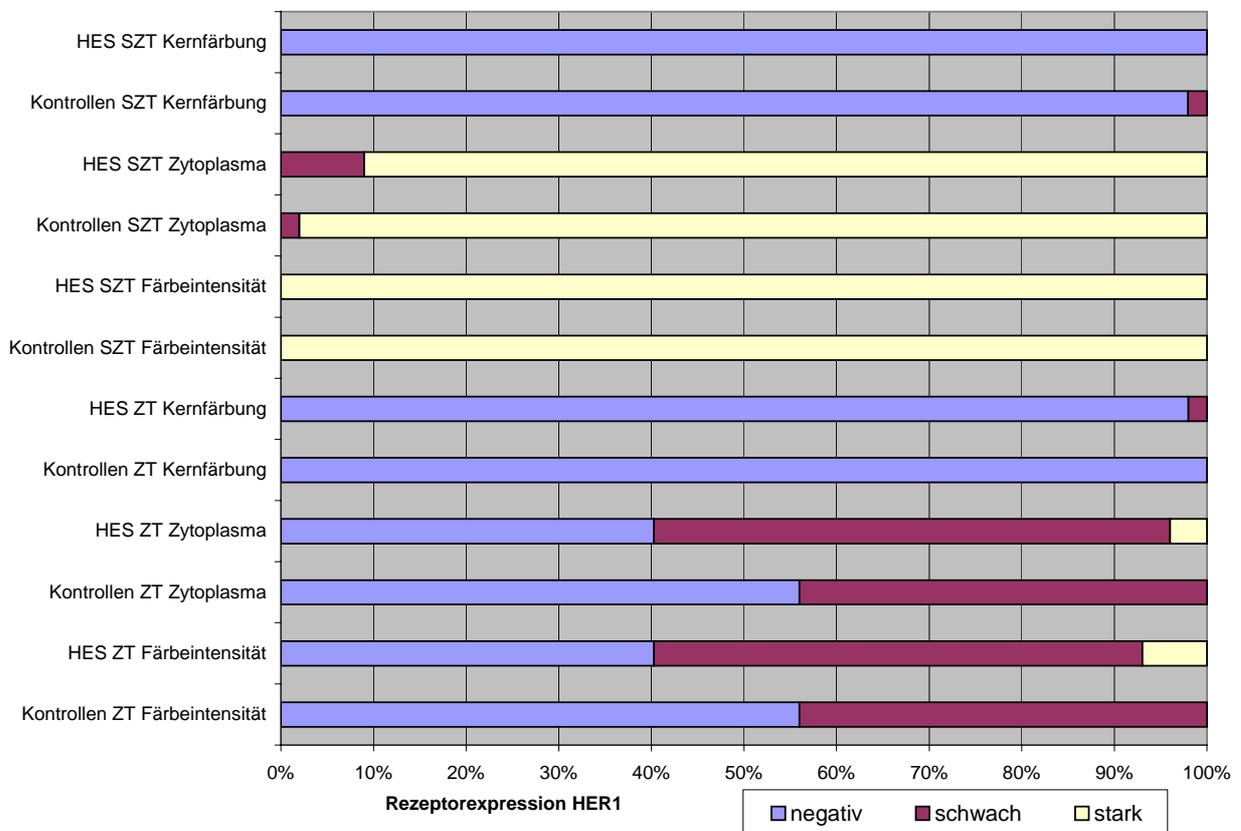
### 4.2.1 HER1

Im Vergleich der HER1-Expression von Normalkollektiv und HES-Gruppe waren in der Färbungsintensität graduelle Unterschiede in den **Zytotrophoblasten** nachweisbar. In der Normalgruppe zeigten 56% (27/48) keine Anfärbung gegenüber 40% (17/43) in der HES-Gruppe ( $p=0,078$ ). Eine starke Färbung war ausschließlich bei 7% (3/43) der Patientinnen mit HES nachzuweisen ( $p=0,078$ ). 44% (21/48) schwacher HER1-Anfärbung in der Kontrollgruppe standen 53% (23/43) in der HES-Gruppe gegenüber (Abb. 17). Die Zytoplasmafärbung der Zytotrophoblasten präsentierte sich nahezu identisch zur Färbeintensität. In der Gruppe der HES war ein um 12% höherer Anteil (56%; 24/43) an schwachen Färbungen ( $p=0,122$ ) gegenüber dem Normalkollektiv mit 44% (21/48) nachzuweisen und bei 4% (2/43) der Frauen mit HES traten starke Expressionen auf.

Die Kernfärbung der Zytotrophoblasten des Normalkollektivs war in 100% negativ und in 98% (42/43) negativ in der HES-Gruppe ( $p=0,473$  nach Fisher).

Die **Synzytiotrophoblasten** beider Gruppen (Abb. 17) zeigten bei der Beurteilung der Färbeintensität eine 100%ige starke Expression. Ähnliche Befunde waren auch für die Zytoplasmafärbungen mit 98% (47/48) der Kontrollen gegenüber 91% (39/43) stark positiven Färbungen in der HES-Gruppe und 2% (1/48; Kontrollen) zu 9% (4/43; HES) schwachen Expressionen nachzuweisen ( $p=0,185$  nach Fisher).

Eine negative Zellkernfärbung war bis auf 2% (1/43) schwache Expressionen in der Kontrollgruppe in allen Präparaten zu beobachten ( $p=0,527$  nach Fisher).



**Abbildung 17: HER1-Expression in SZT und ZT bei Kontrollen und Frauen mit HES ohne Membranfärbungen**

Der Anteil der apikalen und apikal betonten Membranfärbung (Tab. 8) beträgt für die Synzytiotrophoblasten der Kontrollgruppe 100% (48/48). In der HES-Gruppe stellte sich bei kompletter Membranexpression neben basalen Färbungen ein mit 96% (41/43) gering erniedrigter Anteil von apikaler bzw. apikal betonter Membranfärbung dar ( $p=0,314$ ).

Tabelle 8: Membranexposition HER1 in SZT und ZT

Membranexpression HER1	Kontrollen ZT	HES ZT	Kontrollen SZT	HES SZT
gleichmäßig	42%	60%	0%	2%
apikal	0%	0%	35%	23%
basal	2%	0%	0%	0%
bipolar, apikal betont	0%	0%	65%	73%
bipolar, basal betont	0%	0%	0%	2%
negativ	56%	40%	0%	0%

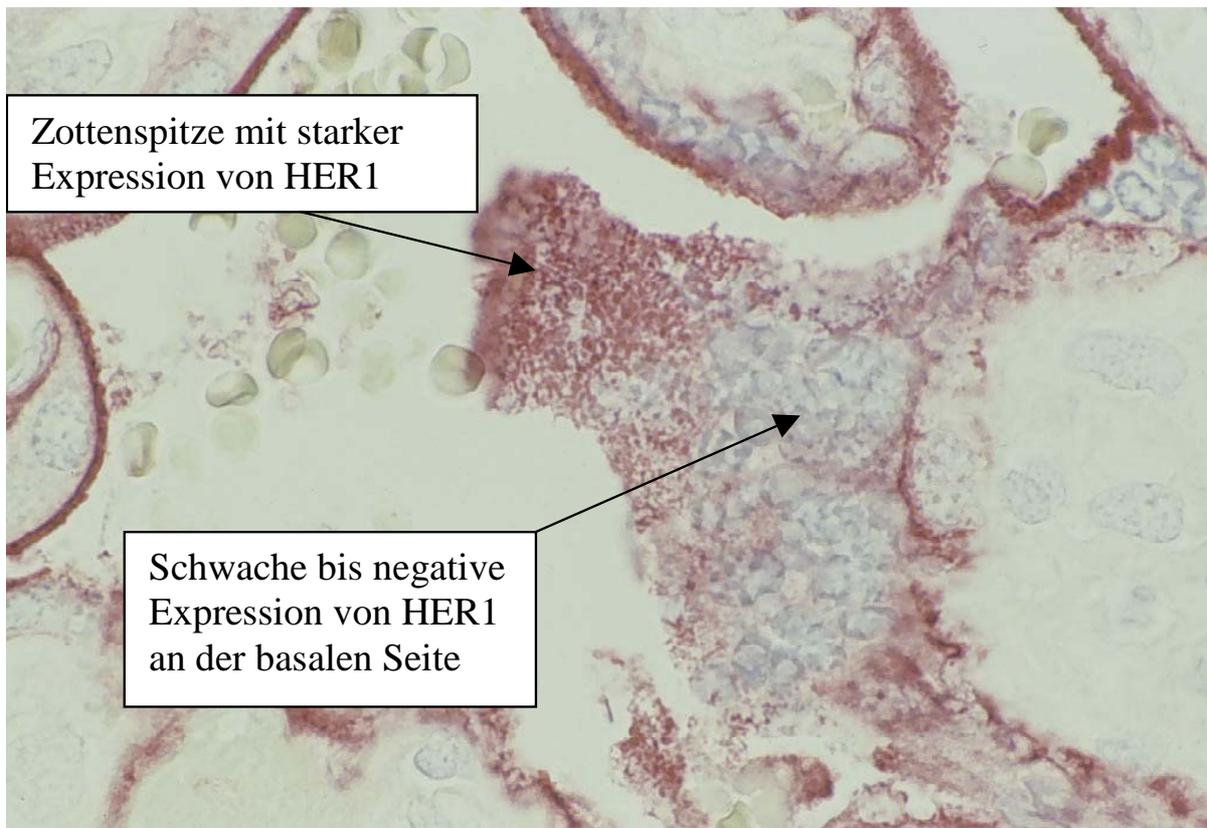


Abbildung 18: HER1-Expression: Gradient von basal schwach und apikal stark gefärbten Synzytiotrophoblasten (Zottenspitze, HES-Gruppe, Vergrößerung 1:1000)

Für die Zytotrophoblasten wurde in der Kontrollgruppe in 42% (20/48) eine gleichmäßige Membranfärbung gegenüber 60% (26/43) in der HES-Gruppe gefunden. Eine negative Expression lag für 56% (27/48) der Kontrollen und 40% (17/43) der Frauen mit HES vor. In der Kontrollgruppe war bei einer von 48 Frauen eine basale Expression nachzuweisen. Die Unterschiede in der Membranexpression von HER1 des Zytotrophoblasten waren statistisch nicht zu sichern ( $p=0,341$ ).

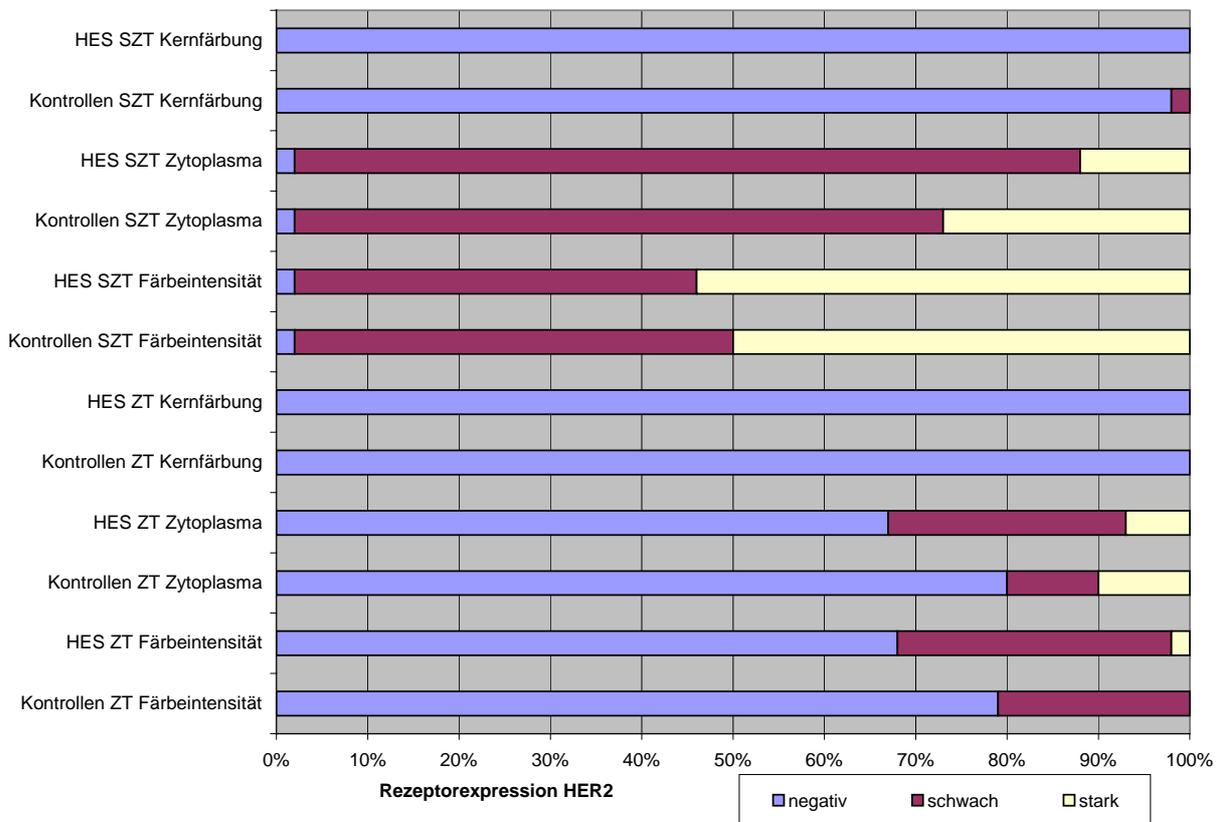
Auch die stärkere Expression von HER1 in Zytotrophoblasten der HES-Gruppe war statistisch nicht signifikant (Färbeintensität:  $p=0,078$ ; Zytoplasma:  $p=0,122$ ). Zusammenfassend ließ sich für HER1 eine insgesamt stärkere Expression in Zytotrophoblasten der HES-Gruppe feststellen. Statistisch signifikante Unterschiede für HER1 in Zytotrophoblasten und Synzytiotrophoblasten waren aber nicht zu sichern.

#### 4.2.2 HER2

In **Synzytiotrophoblasten** der Kontrollgruppe zeigte sich in der Gesamtfärbeintensität für HER2 eine starke Expression in 50% (24/48) und in 48% (23/48) eine schwache Expression. Ähnliche Färbeintensitäten waren in den HES-Präparaten mit 54% (23/43) starken und 44% (19/43) schwachen HER2-Expressionen nachzuweisen. Die Differenz von jeweils 4% starken und schwachen Färbungen war statistisch nicht signifikant ( $p=0,938$ ).

Die Zytoplasmaauswertung der SZT der Kontrollen zeigte in 27% (13/48) eine starke und in 71% (34/48) eine schwache HER2-Expression, während in der HES-Gruppe eine starke Färbung bei 12% (5/43) und eine schwache Ausprägung bei 86% (37/43) nachgewiesen wurde ( $p=0,181$ ). Insgesamt ergab sich in beiden Gruppen eine positive HER2-Expression von 98%. Die unterschiedlich kräftige Ausprägung mit einer Differenz von 15 % war statistisch nicht signifikant ( $p=0,181$ ).

Die HER2-Expression der Zellkerne von SZT war bis auf eine schwache Kernfärbung bei den Kontrollen negativ.



**Abbildung 19: HER2-Expression in SZT und ZT bei Kontrollen und Frauen mit HES ohne Membranfärbungen**

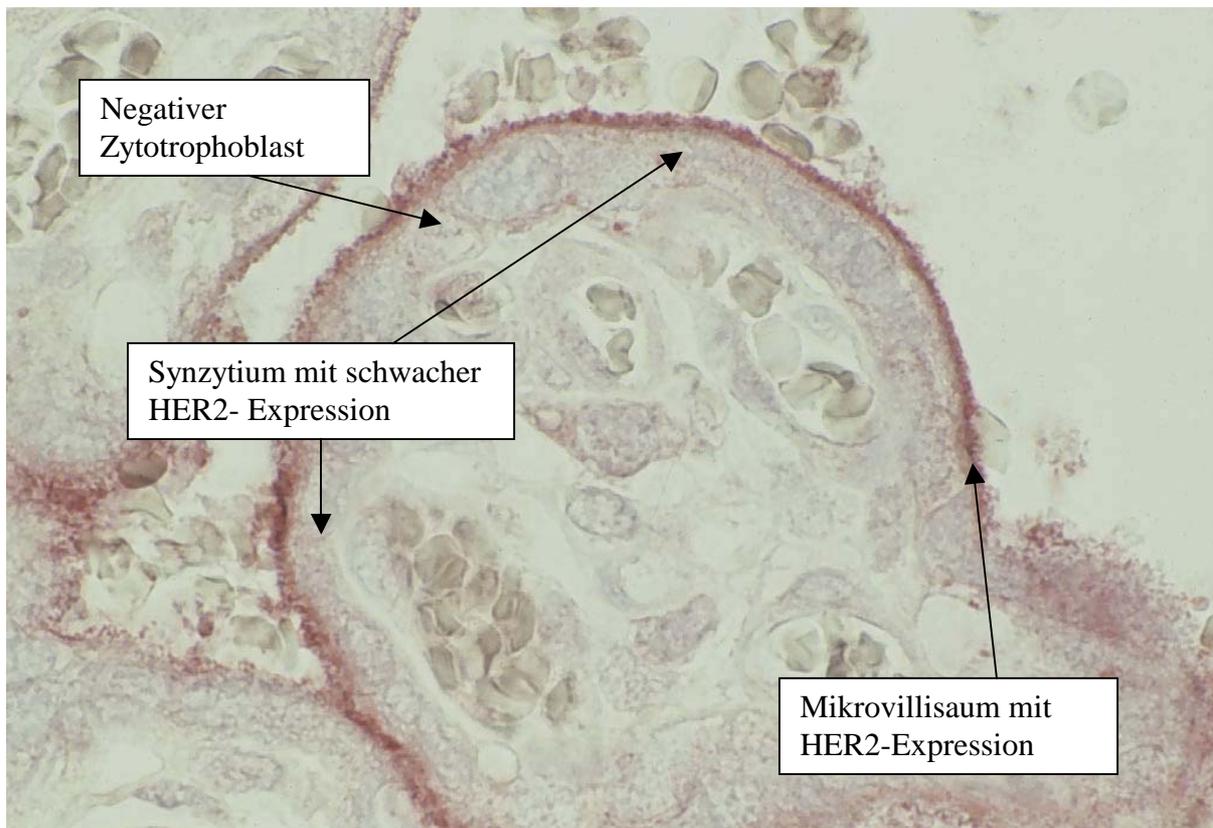
Die **Zytotrophoblasten** wiesen in der Kontrollgruppe für die Gesamtfärbeintensität (Abb. 19) 11% mehr negative HER2-Expressionen auf ( $p=0,312$ ). Diese Tendenz setzt sich in der Zytoplasmafärbung fort. Die HES-Gruppe zeigte in 26% (11/43) der Fälle eine schwache und in 7% (3/43) eine starke Färbung, während die Kontrollen in 10% (5/48) schwache und in 10% (5/48) starke Expressionen präsentierten. Daraus ergibt sich eine negative Rezeptorexpression für 38 der 48 Kontrollen und 29 der 43 HES-Präparate. Insgesamt überwiegt die positive HER2-Expression der HES-Gruppe mit 33% die der Kontrollgruppe mit 20% statistisch nicht signifikant ( $p=0,158$ ).

Kernfärbungen der Zytotrophoblasten waren in beiden Gruppen nicht nachzuweisen (Abb. 19). Die Membranfärbung der Synzytiotrophoblasten ließ in beiden Gruppen eine apikale Ausrichtung in 98% erkennen (Tab. 9). In Zytotrophoblasten der HES-Gruppe zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe eine um 11% höhere gleichmäßige Membranfärbung. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant ( $p=0,876$ ).

**Tabelle 9: Membranbezogene HER2-Expression in SZT und ZT**

Membranexpression	Kontrollen	HES	Kontrollen	HES
HER2	ZT	ZT	SZT	SZT
gleichmäßig	19%	30%	0%	0%
apikal	0%	0%	98%	98
negativ	81%	70%	2%	2%

Die Gesamtfärbeintensität des SZT mit 98% positiven Expressionen in beiden Gruppen (Abb. 19) präsentiert sich vor allem in der apikalen Färbung der Zellmembran. Insgesamt ist die Anfärbung schwach, wobei die Expression allein im Mikrovillisaum nachzuweisen war. Die



**Abb. 20: HER2-Expression: Mikrovillisaum von Synzytiotrophoblasten mit streng apikaler Ausrichtung der Zellmembranfärbung, negative Expression der Zytotrophoblasten (Normalgruppe, Vergrößerung 1:1000)**

Betrachtung der histologischen Schnitte bei kleinen Vergrößerungen bot zunächst ein negatives Bild, allenfalls konnte man einen Farbschimmer erkennen. Erst Vergrößerungen ab 1:500 ließen die deutliche Anfärbung des Mikrovillisaums erkennen (Abb. 20).

Für die Expressionen von HER2 in Zytoplasma und Zellkern sowie an der Zellmembran in SZT und ZT wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede gefunden.

Auffallend war die streng apikal ausgerichtete Rezeptorlokalisierung an der Membran des Synzytiotrophoblasten in beiden Untersuchungsgruppen.

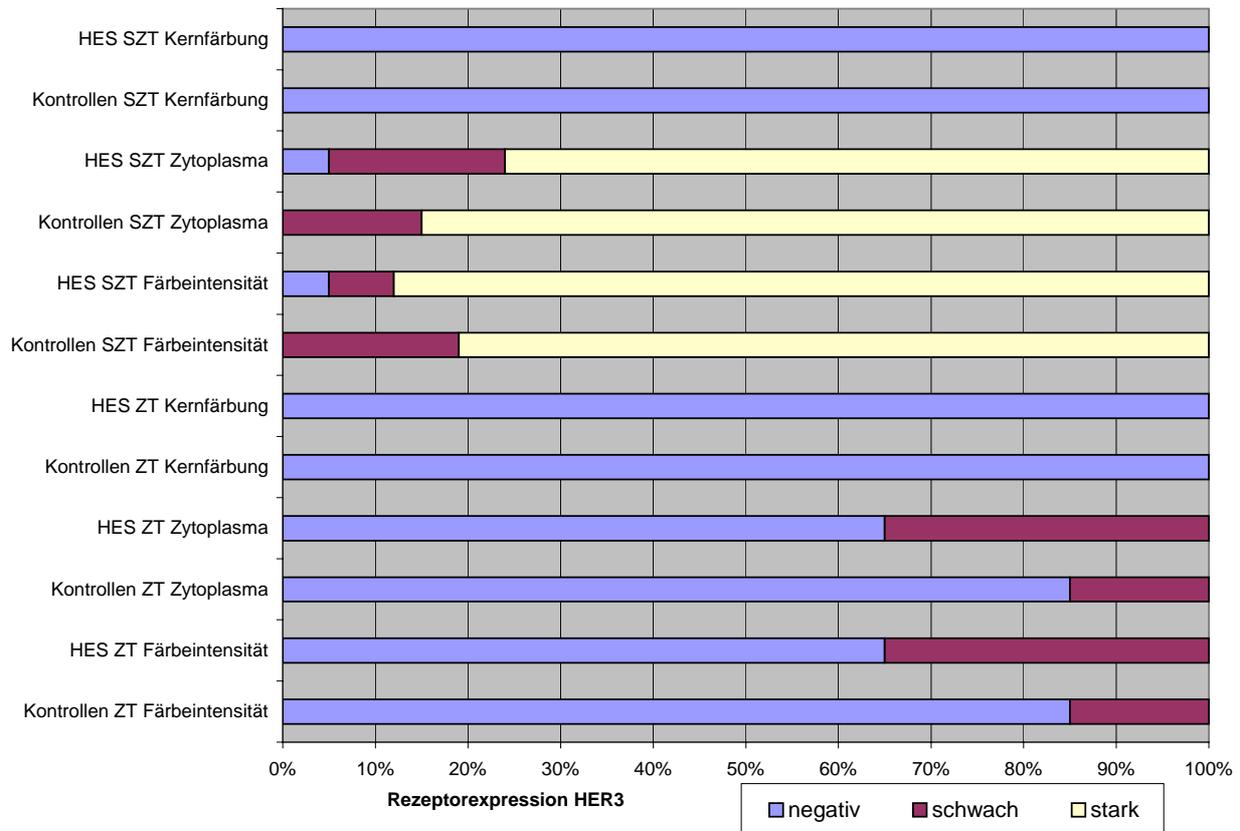
### 4.2.3 HER3

In **Synzytiotrophoblasten** der Kontrollgruppe lag die Färbeintensität für HER3 mit 19% (9/48) schwachen und 81% (39/48) starken Färbungen gering höher als in der HES-Gruppe mit 7% (3/43) schwachen und 88% (38/43) starken Expressionen ( $p=0,093$ ).

Die Zytotrophoblasten präsentierten in der Färbungsintensität 20% mehr Expressionen in der HES-Gruppe (35%; 15/43 HES-Präparate versus 15%; 7/48 Kontrollen), allerdings nur von schwacher Ausprägung (Abb. 21). Mit dem Chi-Quadratstest wurde dieser Unterschied statistisch gesichert ( $p=0,024$ ).

Auch die Zytoplasmafärbung der ZT zeigte 20% mehr schwache Expressionen in der HES-Gruppe (35%, 15/43). Im Vergleich zur Kontrollgruppe (15%; 7/48) ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,024$ ). Die Synzytiotrophoblasten wiesen nur minimale, nicht signifikante Unterschiede (5%;  $p=0,264$ ) für die Zytoplasmaexpression von HER3 beider Gruppen auf (Abb. 21).

Die Membranfärbung der SZT wies in der Kontrollgruppe in 100% und bei Frauen mit HES in 95% (41/43) eine gleichmäßige Färbung auf ( $p=0,131$ ). Für Zytotrophoblasten ergaben sich 20% mehr gleichmäßige Membranfärbungen (Tab. 10) in der HES-Gruppe (35%; 15/43) gegenüber der Kontrollgruppe (15%; 7/48) ( $p=0,024$ ).

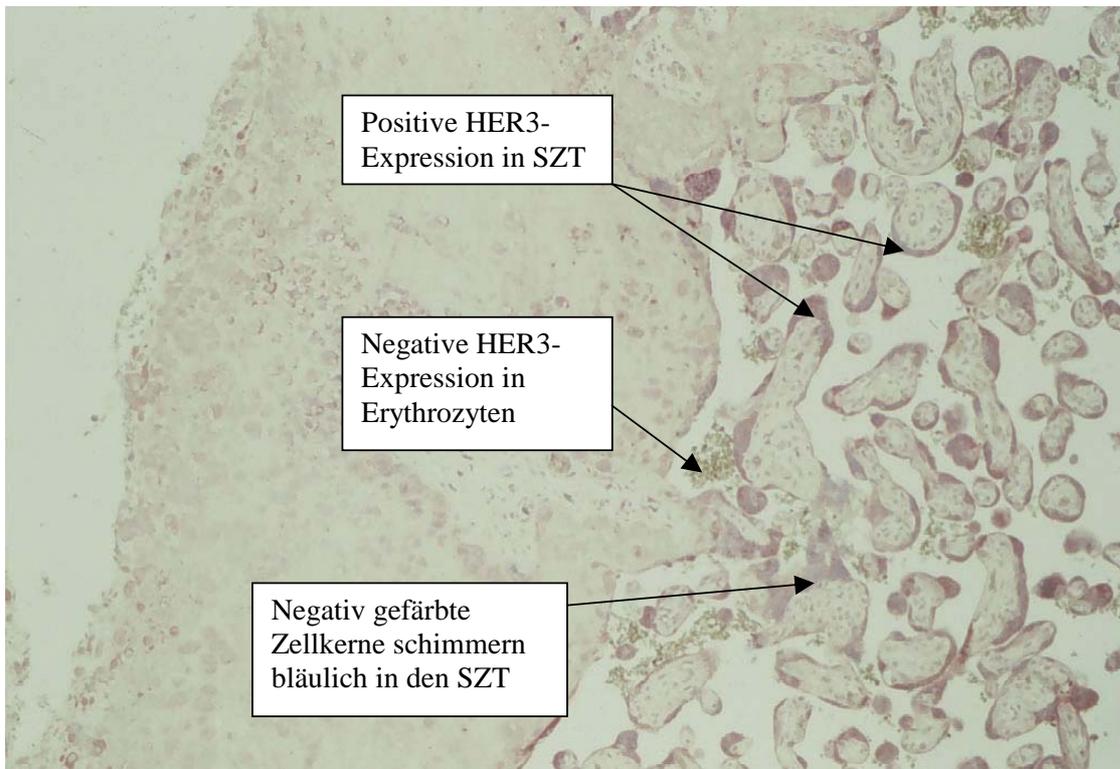


**Abbildung 21: HER3-Expression in SZT und ZT bei Kontrollen und Frauen mit HES ohne Membranfärbungen**

Die Kernexpression war sowohl in SZT als auch in ZT beider Gruppen negativ. Die Synzyotrophoblasten präsentierten in allen untersuchten Zellkompartimenten von Kontrollen und Frauen mit HES keine statistisch signifikanten Unterschiede. In ZT waren die Färbungsintensität, die Zytoplasmaexpression und die gleichmäßige Membrananfärbung in der HES-Gruppe statistisch relevant um 20% erhöht ( $p=0,024$ ).

**Tabelle 10: Membranbezogene HER3-Expression in SZT und ZT**

Membranexpression	Kontrollen	HES	Kontrollen	HES
HER3	ZT	ZT	SZT	SZT
gleichmäßig	15%	35%	100%	95%
negativ	85%	65%	0%	5%



**Abbildung 22: HER3-Expression, gleiches Motiv wie in Abb. 7 (HER1) und Abb. 8 (HER2) (Vergrößerung 1:100)**

#### 4.2.4 HER4

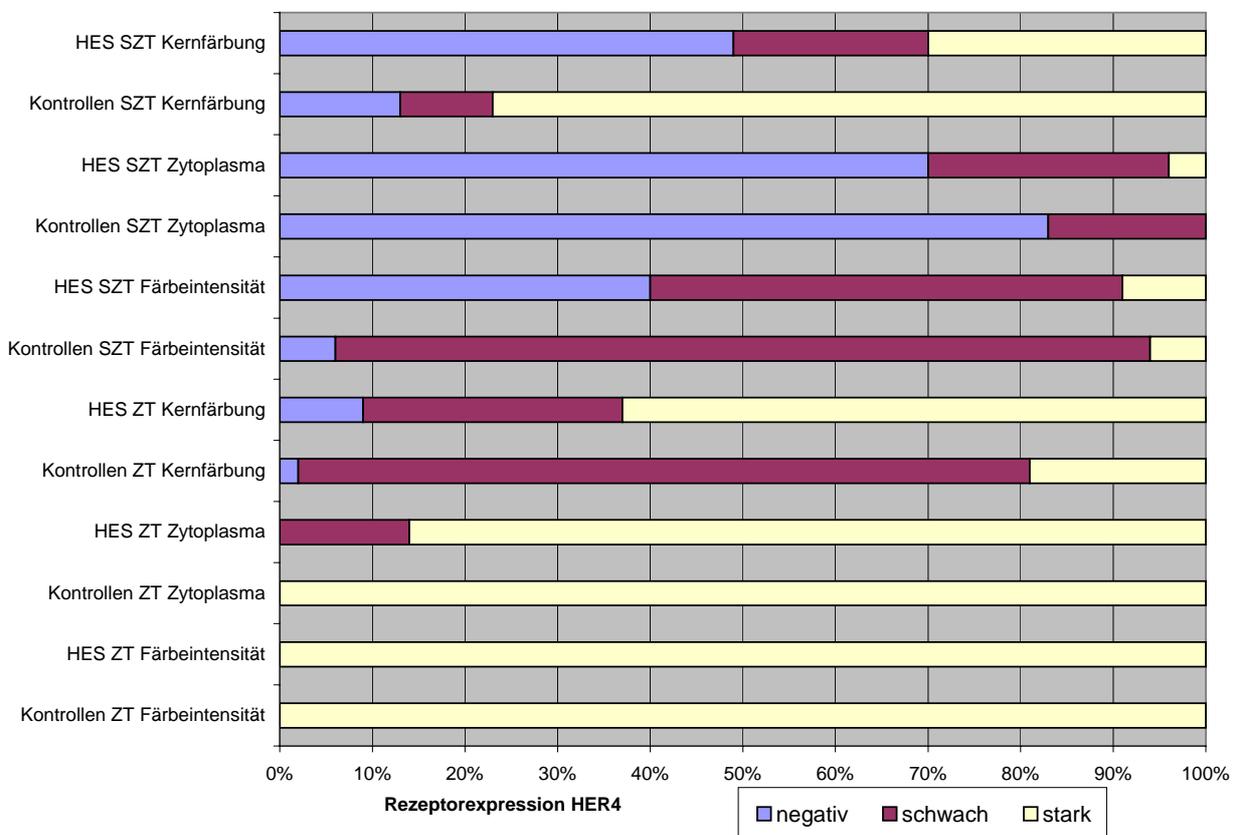
In allen Präparaten zeigte sich eine deutliche HER4-Expression (Abb. 23). In der Färbintensität der **Synzytiotrophoblasten** wies die HES-Gruppe mit 40% (17/43) gegenüber den Kontrollen mit 6% (3/48) mehr negative Expressionen auf ( $p=0,0003$ ).

Neben 88% (42/48) schwachen und 6% (3/48) starken Färbungen bei den Kontrollen traten in der HES-Gruppe 51% (22/43) schwache und 9% (4/43) starke Rezeptorexpressionen auf ( $p=0,0003$ ).

In der Zytoplasmafärbung der SZT weisen die HES-Präparate eine höhere HER4-Expression in der schwachen Färbung mit 26% (11/43) versus 17% (8/48) und in der starken Färbung mit 4% (2/43) versus 0% (0/48) auf. Der Unterschied von insgesamt 30% positiven Rezeptorexpressionen in der HES-Gruppe gegenüber 17% in der Kontrollgruppe ist ohne statistische Signifikanz ( $p=0,162$ ).

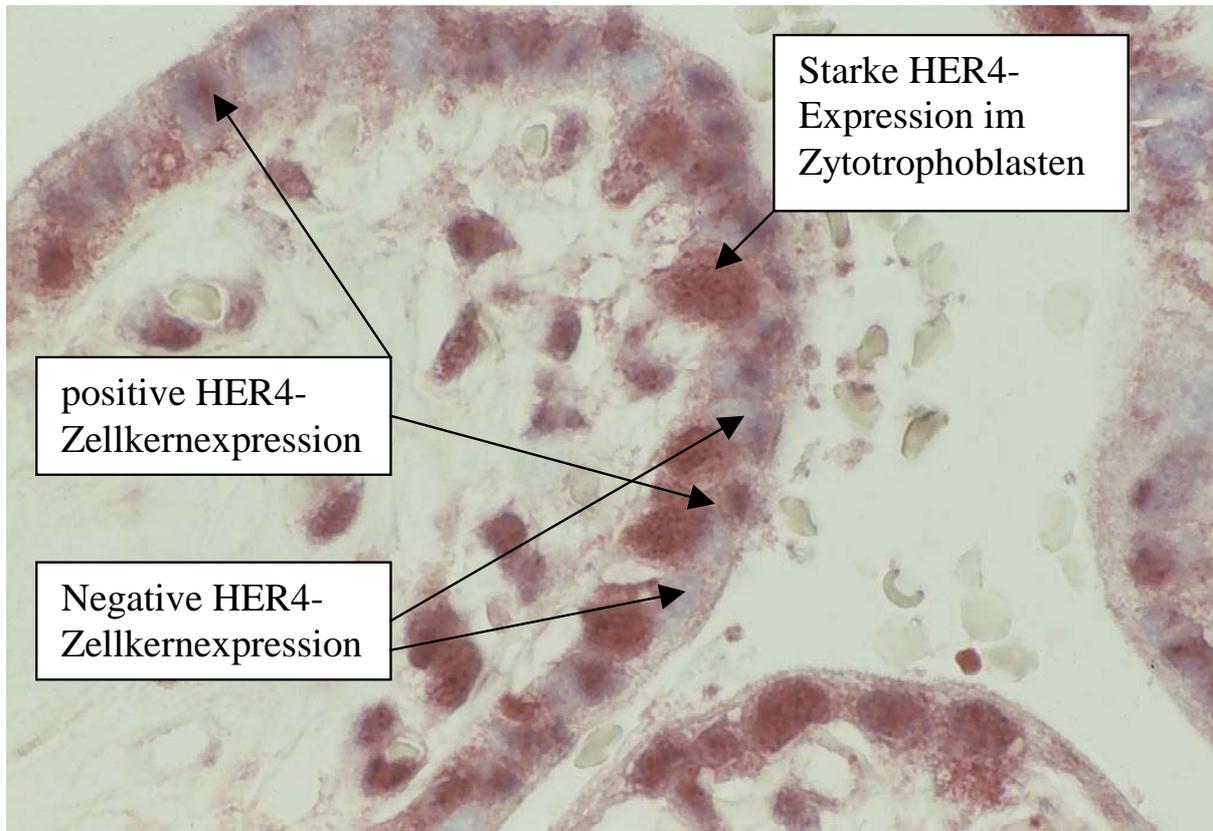
Die starke HER4-Expression im Zytoplasma der Zytotrophoblasten zeigte einen signifikanten Unterschied von 14% starken Expressionen zwischen HES (86%; 37/43) und Normalkollektiv (100%; 48/48) zugunsten des Normalkollektivs ( $p=0,007$ ).

Die Kernfärbung der Synzytiotrophoblasten ergab eine signifikante Differenz ( $p<0,001$ ) von 49% (21/43) negativen Expressionen in der HES-Gruppe zu 13% (6/48) der Kontrollfälle (Abb. 23). Eine hochsignifikante Differenz zeigte sich auch für die stark positiven nukleären Färbungen mit 77% (37/48) in der Kontrollgruppe gegenüber 30% (13/43) der HES-Präparate ( $p=0,000031$ ).



**Abbildung 23: HER4-Expression in SZT und ZT bei Kontrollen und Frauen mit HES ohne Membranfärbungen**

Die Kernfärbung der Zytotrophoblasten wies ein entgegengesetztes Ergebnis auf. Hier stehen 28% (12/43) schwachen und 63% (27/43) starken Färbungen in der HES-Gruppe, 79% (38/48) schwachen und 19% (9/48) starken Expressionen im Normalkollektiv gegenüber ( $p=0,0000058$ ).



**Abbildung 24:** Negative und positive Zellkernexpression für HER4 in SZT, starke Expression in ZT, Vergrößerung 1:1000

Die Zellmembran der Zytotrophoblasten beider Gruppen weist eine zu 100% gleichmäßige Expression auf. Für die SZT der HES-Gruppe ergaben sich 7% mehr negative Expressionen. Mit 93% (HES-Gruppe) gegenüber 98% (Kontrollen) gleichmäßigen Expressionen zeigten sich auch in der Membranfärbung der SZT keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p=0,116$ ).

**Tabelle 11: HER4 Zellmembranexpression**

Membranständige HER4-Expression	Kontrollen ZT	HES ZT	Kontrollen SZT	HES SZT
gleichmäßig	100%	100%	98%	93%
apikal	0%	0%	2%	0%
negativ	0%	0%	0%	7%

Zusammenfassend ist eine höhere HER4-Expression für Synzytiotrophoblasten des Normalkollektivs festzustellen. Insbesondere die stärkere Anfärbung, respektive Präsenz des Rezeptors am/im Zellkern der Kontrollgruppe war statistisch hoch signifikant.

Demgegenüber steht die ebenfalls statistisch hochsignifikante Differenz in der Kernanfärbung von Zytotrophoblasten zugunsten der HES-Gruppe.

Auffallend ist die unterschiedlich ausgeprägte Färbeintensität der Zellkerne in gleicher Region, teils direkt nebeneinander liegend (Abb. 24). In unserer Untersuchung fiel die ungewöhnliche Färbung der Zellkerne bei **HER4** mit teils direkt nebeneinander liegenden positiven und negativen Färbungen auf. Dies wurde auch an Präparaten von Mammakarzinomen beobachtet (persönliche Mitteilung). Eine entsprechende Erwähnung und schlüssige Erklärung findet sich in der Literatur nicht (Srinivasan et al. 1998). Eine Regelung der Expression im Sinne einer Reduktion der dargebotenen Rezeptoren als negatives Feedback ist vorstellbar.

### **4.3 Vergleich der Untersuchungsergebnisse mit der Literatur**

Die Bedeutung und der Einfluß von Wachstumsfaktoren, speziell von EGF, auf Entwicklung, Differenzierung und Größe der humanen Plazenta konnte von verschiedenen Autoren gezeigt werden (Han et al. 1995; Morrish et al. 1998).

Für EGF und HER1 wurde von Carson (1983) ein von der 6. SSW bis zum Ende der Schwangerschaft kontinuierlich steigender Anteil in Plazenten unauffälliger Schwangerschaften beschrieben. In der vorliegenden Arbeit konnten für HER1 in Synzytiotrophoblasten von gesunden Schwangeren 98% starke und 2% schwache Rezeptoranfärbungen des Zytoplasmas in der fortgeschrittenen Schwangerschaft (Median 37 SSW) nachgewiesen werden. An der Zellmembran zeigte sich eine zu 100% apikal ausgerichtete Expression. In Zytotrophoblasten war in 44% eine schwache Expression im Zytoplasma festzustellen. Die Zellmembran wies in 42% eine gleichmäßige Färbung auf. Bei Frauen mit hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft wurde für HER1 in SZT ebenfalls eine komplette Zytoplasmaexpression und eine Anfärbung der Zellmembran in 100%, bei einer apikalen Ausrichtung von 96%, gefunden. Für die ZT konnte in 60% eine positive Rezeptordarstellung des Zytoplasmas

gezeigt werden, bei nahezu komplett negativem Zellkern und in 60% gleichmäßig ausgerichteter Membranexpression. Die villöse Expression von HER1 bei Kontrollen versus Patientinnen mit HES zeigte nur in Zytotrophoblasten einen statistisch nicht zu sichernden geringfügigen Unterschied.

Während Wang et al. (1992) in acht Plazenten des 1. Trimenons eine ausgeprägte Dezidua- und Zytotrophoblastenexpression von HER1 sowie von HER2 in intermediären Trophoblasten fanden, war im 3. Trimenon bei drei untersuchten Plazenten nur eine minimale Expression von HER1 in SZT und Stromazellen nachzuweisen. Die unterschiedlichen Ergebnisse zur HER1-Expression im 3. Trimenon können möglicherweise auf die sehr unterschiedliche Fallzahl (3 vs. 48 Plazenten) und auf unterschiedliche Schwangerschaftswochen (unbekannt- nur Angabe 3. Trimenon gegen 36 SSW) zurückzuführen sein. Zytotrophoblasten wurden von Wang et al. (1992) in den drei Plazenten des 3. Trimenon nicht beschrieben.

Die bisher einzige Darstellung aller vier EGF-Rezeptoren gelang Tuncer et al. (2000) an elf Plazenten der 8.-12. SSW. Dabei wurde eine starke Expression von 82% HER1 in extravillösen Trophoblasten und eine schwache Expression in Zytotrophoblasten (91%) bzw. in Synzytiotrophoblasten (81%) nachgewiesen. Eine vergleichbar starke Expression für HER1 fanden wir in der Kontrollgruppe bei einem Gestationsalter von 21-41 SSW (Median 37) zu 98% in SZT sowie eine schwache HER1-Zytoplasmaexpression von 44% in ZT.

1995 analysierten Ferrandina et al. den Gesamtgehalt von HER1 in Plazenten und fetalen Membranen mit einer Radioimmunrezeptorfixierung. Je 25 Frauen mit unauffälliger Schwangerschaft und 25 Frauen mit HES wurden mit einem Gestationsalter von 28-41 SSW (Median 39) in die Untersuchung eingeschlossen. In der HES-Gruppe zeigte sich in den untersuchten Strukturen ein signifikant erhöhter HER1-Gehalt. Äquivalent zur Radioimmunrezeptorfixierung ist in der vorliegenden Untersuchung die Gesamtfärbungsintensität bestimmt worden. Diese wurde definiert als Summe aus den Expressionsintensitäten von Zytoplasma, Zellkern und Zellmembran. Während für die Färbeintensität von HER1 in SZT keine Differenzen gefunden wurden, ergab sich in ZT für die Kontrollen eine gering erhöhte Färbeintensität (60% vs. 44%), ohne dass der Unterschied statistisch gesichert werden konnte. Von Meden et al. (1997) wurde im peripheren Blut von 24 Frauen mit HES die gelöste extrazelluläre Domäne von HER1 kurz vor der Entbindung mittels ELISA bestimmt.

Nachgewiesen wurden signifikant erhöhte Level für Frauen mit Präeklampsie ( $p < 0,001$ ) und HELLP ( $p < 0,05$ ).

Eine HER2-Expression fanden Wang et al. (1992) ausschließlich in extravillösen Trophoblasten. Auch Fulop et al. (1998) berichteten nach einer vergleichenden Untersuchung von 18 Plazenten des 1. Trimesters mit unauffälliger Schwangerschaft und 53 Plazenten mit partiellen und kompletten Molen (6-16 SSW) über eine HER2-Expression in extravillösen Trophoblasten. In der vorliegenden Untersuchung gelang der Nachweis einer HER2-Expression im Zytoplasma von ZT in 20% sowie einer gleichmäßigen Färbung von 19% der Zellmembran der Kontrollen. Die SZT normaler Plazenten präsentierten in 98% eine streng apikale betonte Färbung, im Sinne einer alleinigen Expression von HER2 in den Mikrovilli. Im Zytoplasma dieser Zellen fand sich ebenfalls eine Expression von 98%. Auch bei Frauen mit HES präsentierte sich HER2 im Zytoplasma von SZT in 98%, gleichzeitig kam es in 98% zu apikalen Membranfärbungen. Die semiquantitative Auswertung bei graduell nur gering unterschiedlicher Intensität der Färbungen birgt in sich die Fehlerproblematik der falschen Zuordnung von Präparaten. Die festgestellten Differenzen sind als prädiktive Aussagen nur gering belastbar. Die positive Gesamtexpression von jeweils 98% war aber eindeutig. In der HES-Gruppe wurde in ZT in 33% eine Zytoplasmaanfärbung und in 30% eine gleichmäßige Membranexpression gefunden. Für die Expression von HER2 in Zytoplasma und Zellkern sowie an der Zellmembran von SZT und ZT waren keine statistischen Unterschiede in Plazenten von Kontrollen und hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen nachzuweisen. Auffallend war die streng apikal ausgerichtete Rezeptorlokalisierung an der Membran der SZT in beiden Untersuchungsgruppen. HER3 wird nach Tuncer et al. (2000) in SZT und ZT früher Schwangerschaftswochen in 45% stark und in 55% schwach exprimiert. Wir fanden im Zytoplasma von ZT der Kontrollen eine schwache Expression in 15%, während Synzytiotrophoblasten in 85% starke Zytoplasmafärbungen und in 15% schwache Färbungen aufwiesen. Sowohl die Kontrollen als auch die HES-Gruppe wiesen gleichmäßige Membranexpressionen (100% vs. 95%) auf. Die ZT der Patientinnen mit HES wiesen in 35% eine schwache Zytoplasmaexpression und eine gleichmäßige Membranexpression in gleicher Höhe auf. Damit konnte in Zytotrophoblasten sowohl für die Membranfärbung ein statistisch gesicherter Unterschied, eine um 20% erhöhte gleichmäßige Anfärbung als auch für die Zytoplasmaexpression ein statistisch gesicherter, gleich hoher Unterschied zu Gunsten der HES-Gruppe nachgewiesen werden. Gegenüber den Ergebnissen von Tuncer et al. (2000) in

der Frühschwangerschaft (9,5 SSW) ist eine Abnahme der HER3-Zytoplasmaexpression in ZT von 100% auf 15% im 3. Trimenon (Median 37 SSW) zu konstatieren, während in SZT die 100%ige Expression im Zytoplasma erhalten bleibt, mit einem Anteil der starken Expression von 85%.

Für HER4 wiesen Tuncer et al. (2000) in den 8.-12. SSW in 64% eine starke Expression in ZT, in 82% eine schwache Expression in SZT sowie in 64% der extravillösen Trophoblasten nach. In unseren Präparaten zeigte sich für HER4 eine 100%ige starke Zytoplasmafärbung der ZT und eine schwach positive Färbung von 17% in SZT der Kontrollen. Auch die HES-Gruppe wies in ZT eine Zytoplasmafärbung von 100% auf, während in SZT die Zytoplasmaexpression von 30% die der Kontrollen um 13% überschritt, jedoch war dieser Unterschied statistisch nicht zu sichern. Die Zellmembranexpression von HER4 wies in ZT und in SZT eine gleichmäßige Färbung von über 95% sowohl bei den Kontrollen als auch in der HES-Gruppe auf. Für die stark positiven nukleären Färbungen der SZT ergab sich mit 77% der Kontrollen und 30% der HES-Gruppe ein statistisch gesicherter Unterschied. In Zytotrophoblasten kam es mit 63% starken Kernanfärbungen in der HES-Gruppe gegenüber 19% der Kontrollen zu einem entgegengesetzten Ergebnis. Auch dieser Unterschied ist statistisch gesichert.

Für die villöse Expression von Rezeptoren der EGF-Familie konnten in der vorliegenden Untersuchung, dem Vergleich von Plazentauntersuchungen von Gesunden und Patientinnen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen des dritten Trimenons, signifikante Unterschiede für die Zytoplasmaexpression und Membrananfärbung von HER3 in Zytotrophoblasten sowie für die nukleäre Expression von HER4 in ZT und SZT nachgewiesen werden.

Von Genbacev und Miller (2000) konnte gezeigt werden, dass Zellinseln eine zusätzliche Quelle für invasive Zytotrophoblasten darstellen. Nachgezüchtete Zytotrophoblasten auf Matrigel sezernierten wie invasive extravillöse Trophoblasten „matrix-type fibrinoid“ (Huppertz et al. 1996) und ähnelten somit den Zytotrophoblasten von der Spitze der Trophoblastensäulen. Zur Aktivitätsminderung der invasiven Zytotrophoblasten sind verschiedene Hypothesen aufgestellt worden (Genbacev et al. 1996). Eine veränderte Sauerstoffspannung soll mit verändertem Sauerstoff-Gewebegradienten zur Störung der Trophoblasteninvasion im Sinne eines fehlenden Anreizes führen (Genbacev et al. 1999). In verschiedenen Arbeiten konnte der fördernde Einfluss auf die Migration durch eine Sauer-

stoffgewebesättigung von 2- 4% gegenüber 20% gezeigt werden (Genbacev und Miller 2000; Levy und Nelson 2000). Gleichzeitig konnte der günstigere Verlauf der Differenzierung von invadierten Trophoblasten zu Zytotrophoblasten mit Endothelmarkern (Zhou et al. 1997) bei hoher Sauerstoffgewebesättigung dargestellt werden. Das spricht für einen der Schwangerschaft angepassten Verlauf, mit früher invasiver Migration unter den Bedingungen einer niedrigen Sauerstoffgewebesättigung und späterer Differenzierung der extravillösen Trophoblasten (Graham et al. 2000). Ähnliche Ergebnisse fanden auch Levy und Nelson (2000) unter besonderer Berücksichtigung von EGF und Bcl2 als antiapoptotische Faktoren.

Von Maruo konnte in einer der wenigen Untersuchungen, welche EGF-Rezeptoren an humanem Plazentagewebe nachgewiesen haben, die proliferationsfördernde Wirkung der Kombination von EGF/HER1 in Zytotrophoblasten bis zur 6. SSW nachgewiesen werden (Maruo 1995). Der Nachweis von EGF und vor allem HER1 ab der 6. SSW führt nach Mochizuki et al. (1998) in Zytotrophoblasten zu einer verstärkten Proliferation ohne Änderung der Sekretion von humanem Prolaktin und HCG. Demgegenüber konnten in Synzytiotrophoblasten der 6.-12. SSW überwiegend HER1/EGF nachgewiesen werden, wodurch die Sekretion von humanen Prolaktin und HCG gefördert wurde. Auch Morrish et al. (1998) bewiesen die fördernde Wirkung von EGF auf die extensive Synzytiumbildung. Diese Feststellungen stimmen mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung im fortgeschrittenen Gestationsalter (Median 37 SSW) überein. In unseren Präparaten zeigte sich eine durchgehend starke HER1-Expression in SZT mit fehlender bis schwacher HER1-Expression in ZT.

Die aktivitätsmodulierende Wirkung von EGF auf die MAP-Kinasen konnte von verschiedenen Arbeitsgruppen gezeigt werden. Die phosphorylierten Level von Erk- und p38-MAPK nehmen unter Einwirkung von EGF zu. Anteile der Prolaktinsynthese und -freisetzung werden über die EGF-vermittelte Kaskade geregelt (Peters et al. 2000). Die Gruppe um Konishi fand HER1 in allen SSW in SZT und ZT. Jedoch konnte die MAPK ERK1/2 nur in den Zytotrophoblasten nachgewiesen werden. Die aktivierte (phosphorylierte) Form war gemeinsam mit einer kräftigen Expression von c-met nur in den ersten 12 SSW nachzuweisen (Kita et al. 2003). Daraus folgerten sie, dass ein durch MAPK-ERK1/2 vermitteltes Signaling via c-met als Rezeptor von Hepatozytenwachstumsfaktor (HGF) in den ersten 12 SSW an der kräftigen Proliferation der Zytotrophoblasten beteiligt ist. Die Regulation der SZT scheint

über andere Wege zu erfolgen, weil die aktivierte Form der MAPK ERK1/2 nicht in den SZT nachgewiesen wurde.

Unter den Untersuchungen zur Pathogenese der Präeklampsie findet sich auch eine Arbeit zur Downregulation einer MAP-Kinase. Entgegen den Erwartungen sind jedoch nicht die Aktivitäten oder Mengen von p38-MAPK und ERK1 oder 2-MAPK reduziert (Hannke-Lohmann et al. 2000). Betroffen von einer reinen Aktivitätsminderung ist nur JUN-aminoterminalen Kinase (JNK), wobei auch bei dieser die Proteinexpression unverändert ist. Effektor könnten die über JUN verminderten MMP9-Level sein, welche im Rahmen der Anheftung an die extrazelluläre Matrix benötigt werden (Lim et al. 1997). Bei Untersuchungen mit unterschiedlichen Sauerstoffsättigungen wurde unter chronischer Hypoxie eine verminderte Aktivität von JUN beobachtet (Gum et al. 1997).

Im Review von Bischof (Bischof et al. 2000) sind die Zusammenhänge der bisher bekannten Differenzierungen des Trophoblasten und entsprechend unterschiedlichen Sekretionsprofilen dargelegt. Der invasive Trophoblast verfügt über ein Repertoire von Matrixmetalloproteinasen. Die wichtigsten Vertreter sind MMP1, 3 und 9. Die Aktivität der letztgenannten MMPs werden von Interleukin 6, EGF und Kollagen1 aus der extrazellulären Matrix gefördert. Im Hinblick auf die hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen ist auf die Reduktion der Aktivität von MMP9 über reduzierte JUN-kinase hinzuweisen (Lim et al. 1997). Interessanterweise sind jedoch MMP9-Knock out Mäuse weiterhin fertil, so dass die nachgewiesene reduzierte Aktivität von MMP9 nur ein Teilaspekt der multifaktoriellen Genese der HES sein kann (Itoh et al. 1999).

Aboagye-Mathiesen et al. (1997) beschrieben den reduzierenden Einfluß von trophoblast-induzierten Interferonen  $\alpha$  und  $\beta$  auf den Gehalt von HER1 und HER2 in Synzytiotrophoblasten und invasiven Trophoblasten. HER1 und EGF fördern Zellwachstum und Differenzierung der Synzytiotrophoblasten zum Synzytium und EGF steigert die Invasivität der extravillösen Trophoblasten bei hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (Morrish et al. 1998).

In Plazenten von Präeklampsiepatientinnen und in Fällen von intrauterinen Wachstumsretardierungen wurde neben normalem HER1 (RNA-transkript 5.8 und 10.5 kb) ein erhöhter Anteil von verändertem HER1 (RNA-transkript 1.8 kb) mit einer identischen extra-/juxtamembranen Bindungsstelle ohne intracytoplasmatische Kinase festgestellt (Ilekis et al.

1995; Faxen et al. 1998). Der RNA-Level für HER1 ohne intracytoplasmatische Kinase war bei Frauen mit HES signifikant erhöht (Faxen et al. 1998). Neben einer negativen Korrelation des verkürzten Transskripts mit den beiden längeren Varianten ist ein regulierender Einfluss des veränderten HER1 im Sinne einer Konkurrenz der Bindungsstelle für EGF postuliert worden (Ilekis et al. 1997). Ebenso ist ein direkter Einfluß des veränderten Rezeptors auf den normalen HER1 (RNA-transkript 5.8 und 10.5 kb) in der Regulation von Wachstum und Differenzierung vorstellbar (Faxen et al. 1998).

HER1 scheint auf allen epithelialen und stromalen Zellen sowie einigen Gliazellen und glatten Muskeln exprimiert zu werden (Wells 1999). In polarisierten epithelialen Zellen soll HER1 überwiegend basolateral lokalisiert sein, somit kann HER1 epithelial-stromale Interaktionen über fibroblastengeneriertes TGF- $\alpha$  unterstützen und parakrines Signaling limitieren (Marti 1989). In der vorliegenden Arbeit fand sich eine zu 100% apikale oder allenfalls bipolare, überwiegend apikal ausgerichtete Membranexpression von HER1.

Zur Verteilung der EGF-Rezeptoren gibt es nur wenige Arbeiten. So zeigten Duello et al. (1994) die dominante Verteilung von HER1 in Synzytiotrophoblasten und eine geringere Expression in Zytotrophoblasten des ersten Trimenons, während in den wenigen Plazenten von Reifgeburten (n=3) kein HER1 in SZT und nur vereinzelt in ZT nachgewiesen werden konnte. Evain-Brion und Alsat (1994) wiesen einen kontinuierlichen Anstieg des Levels an HER1 im Schwangerschaftsverlauf nach. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigte sich in unserer Untersuchung eine sehr kräftige Expression von HER1 und eine schwächere für HER2 in Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten von Plazenten der fortgeschrittenen Schwangerschaft. Bereits 1993 wurde ein Konzentrationsgradient der HER2-Expression von der Basis zur Spitze von Trophoblastensäulen nachgewiesen (Mühlhauser et al. 1993). Die meisten extravillösen, invasiven Trophoblasten stammen offensichtlich aus der apikalen Region (Kaufmann 1997), während der Nachweis von HER1 an der mehr chorionwärts gelegenen Basis der Trophoblastsäulenspitzen gelang (Mühlhauser et al. 1993). In mehreren Studien wurde ein kontinuierliches Spektrum von proximal gelegenen proliferierenden Zytotrophoblasten zu ausdifferenzierten, invasiven Trophoblasten an der distalen Säulenspitze gefunden (Bulmer et al. 1989).

Im dritten Trimenon waren HER1 und HER2 in der apikalen Zellmembran des Synzytiotrophoblasten nachzuweisen (Mühlhauser et al. 1993). Übereinstimmend mit den hier präsentierten Ergebnissen zeigten Mühlhauser et al. (1993) die Doppelfärbung der Zellmemb-

ran der SZT mit apikalem und leicht schwächer gefärbtem basalen Anteil für HER1. In der gleichen Arbeit wurde auch die Ausprägung von HER2 als „stark“ für Synzytiotrophoblasten und „fehlend“ für Zytotrophoblasten beschrieben. Im Gegensatz dazu zeigten sich in unserer Untersuchung wenige schwach positive Expressionen für HER2 in ZT bei Gesunden und der Patientinnen mit hypertensiven Erkrankungen in der Schwangerschaft.

**Tabelle 12: Verteilung der EGF-Rezeptoren im Verlauf der Schwangerschaft**

Rezeptoren	1. Trimenon		3. Trimenon	Literatur
	4.- 6. SSW	7.-12. SSW	> 25 SSW	
HER1	SZT>>ZT		SZT, selten ZT	(Duello 1994)
HER1	SZT basal>apikal ZT basal		SZT apikal>basal ZT kaum basal	(Mühlhauser et al. 1993)
HER2	SZT apikal, ZT negativ			(Mühlhauser et al. 1993)
HER1	SZT, ZT, Stroma, Glia, glatte Muskeln			(Wells 1999)
HER1	SZT und ZT			(Kita et al. 2003)
HER1	ZT>>SZT, EVT		Nur SZT und EVT, kein ZT gefunden	(Wang et al. 1992)
HER3	Chorionca.		SZT	(Lee und Maihle 1998)
HER4	ZT>>SZT, EVT pos.		-----	(Tuncer et al. 2000)
HER2	Nur EVT, ab 27. SSW kein ZT gefunden			(Wang et al. 1992)
HER1	ZT>>SZT	SZT>ZT	SZT>>ZT	(Mochizuki et al. 1998)

Der Vorgang der Apoptose dient unter anderem der selektiven Eliminierung von funktions-eingeschränkten Zellen (Ashkenas und Werb 1996; Krammer 2000). Genbacev und Mitarbeiter (1999) wiesen nach, dass insbesondere der epithelartige Typ der invasiven Trophoblasten der Apoptose unterliegt. Im Gegensatz zum Kompartiment der flottierenden Vili ohne Apoptose zeigten die Ankerzotten und insbesondere die invasiven Trophoblasten bei Frauen mit Präeklampsie eine erhöhte Apoptoserate gegenüber Frauen mit unauffälliger

Schwangerschaft (DiFederico et al. 1999). Zusätzlich konnten relativ viele Zellen im gleichen frühen Apoptosestadium nachgewiesen werden, so dass ein Zusammenhang zu dem relativ plötzlichen Beginn der Präeklampsiesymptome vermutet wird (Genbacev et al. 1999). Gleichzeitig scheint ein Ungleichgewicht zwischen apoptosehemmenden und apoptosefördernden Prozessen vorzuliegen (Levy und Nelson 2000).

Die untersuchten Populationen von Zytotrophoblasten und Synzytiotrophoblasten zeigten in der Mehrheit keine Apoptosemarker (Ratts 1998). Dazu stehen die Daten von Mochizuki et al. (1998) im Widerspruch, die apoptotische DNA-Fragmentationen in den ZT der frühen SSW und in den SZT der späten SSW nachwies. Diese Befunde stimmen überein mit der kräftigen Proliferation der Zytotrophoblasten in der Frühschwangerschaft und den Veränderungen im Synzytium der Spätschwangerschaft, wobei dann auch Bcl-2 in Synzytiotrophoblasten nachgewiesen wurde (Mochizuki et al. 1998). In Regionen mit Verletzung des Synzytiums konnten jedoch TUNEL-positive Kerne (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labelling Methode) und ein erhöhter Anteil von Bcl-2 nachgewiesen werden (Levy und Nelson 2000). In einer weiteren Studie berichteten Genbacev et al. (1999) über eine wesentlich erhöhte Apoptoserate bei Patientinnen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen. Interessanterweise betraf die mehrfach erhöhte Apoptoserate mit positivem Nachweis von Apoptosemarkern in 15-50% aller Zellen nur die Subpopulation der extravillösen, invasiven Zytotrophoblasten im Uterusgewebe, jedoch nicht Zytotrophoblasten im Plazentagewebe. Auch die villösen Synzytiotrophoblasten und Zytotrophoblasten erschienen im Vergleich zum Normalkollektiv unverändert. Zusätzlich wurde eine deutlich reduzierte bis nicht nachweisbare Menge von Bcl-2 in allen invasiven Zytotrophoblasten mit Apoptosemarkern bestätigt (Genbacev et al. 1999). Die anderen Subpopulationen der Plazentazelllinien waren im Hinblick auf die Expression dieser Proteine nicht verändert. Von EGF ist über mindestens zwei unterschiedliche Aktionswege ein hemmender Einfluß auf die Apoptose bekannt (Garcia-Lloret 1996). EGF wirkt wie die meisten Mitglieder seiner Familie als Survivalfaktor (Salomon et al. 1995).

Bei häufig mit HES vergesellschafteter intrauteriner Wachstumsretardierung zeigten 12 von 14 Plazenten (36 SSW) erniedrigte Phosphorylierungsraten von HER1 (Fondacci et al. 1994), was auf einen Aktivitätsverlust dieses Signaltransduktionsweges hinweisen könnte.