

Medizinische Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
aus der Klinik für Gynäkologie mit Hochschulambulanz
Direktor Prof. Dr. med. Achim Schneider

**Die Expression der EGF-Rezeptor-Familie (HER-1, HER-2, HER-3, HER-4) im
extravillösen Trophoblasten im Vergleich zwischen normalen humanen
Plazenten und Plazenten von Frauen mit hypertensiven
Schwangerschaftserkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von: Diane Kappelmayer
aus: Essen

Erstgutachter: Professor Dr. med. Dr. phil. Dr. h. c. Andreas Ebert
Zweitgutachter: Professor Dr. med. Ekkehard Schleußner

Tag der mündlichen Prüfung:
05.Juni 2007

1. EINLEITUNG.....	4
1.1. Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen (HSE)	4
1.1.1. Definition der HSE	4
1.1.2. Einteilung der HSE	5
1.1.3. Klinik der Präeklampsie	5
1.1.4. Klinik des HELLP-Syndroms.....	6
1.1.5. Pathogenese der Präeklampsie.....	8
1.1.6. Die gestörte Plazentation als Ursache der Präeklampsie	10
1.1.6.1. Aufbau der Plazenta	10
1.1.6.2. Pathologische Plazentation	11
1.1.7. Ätiologie der Präeklampsie	13
1.1.7.1. Immunologische Mangelanpassung	14
1.1.7.2. Genetische bzw. familiäre Disposition	15
1.1.7.3. Wachstumsmediatoren	16
1.2. Die EGF-Rezeptor-Familie.....	16
1.2.1. Tyrosin-Kinase-Rezeptoren: molekularer Aufbau	17
1.2.2. Tyrosin-Kinase-Rezeptor vermittelte Signaltransduktion	18
1.2.2.1. Netzwerk der Signaltransduktion an EGF-Rezeptoren	20
1.2.2.2. Rezeptoren und Liganden	21
1.2.2.3. Signalverarbeitung und Zellantwort	23
1.2.3. Biologische Funktion der EGF-Rezeptoren.....	24
1.2.4. Expression der EGF-Rezeptoren im Plazentagewebe.....	25
1.3. Aufgabenstellung.....	26
2. MATERIAL UND METHODEN.....	28
2.1. Patienten- und Kontrollkollektiv	28
2.2. Weiterverarbeitung der Paraffinblöcke	29
2.3. Immunhistochemie	31
2.3.1. Grundlagen der APAAP Methode	31
2.3.1.1. Das Färbeverfahren für HER-1 / EGF-R.....	33
2.3.2. Grundlagen der Avidin-Biotin-Methode.....	35
2.3.2.1. Das Färbeverfahren für HER-2, Her-3 und HER-4	36
2.3.2.2. Das Färbeverfahren für Anti-Vimentin und Anti-Human Cytokeratin	38
2.3.3. Positiv- und Negativkontrollen	39
2.4. Auswertung und Dokumentation.....	41
2.4.1. Immunreaktiver Score.....	41
2.4.2. Statistische Analysen.....	42
2.4.2.1. Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test).....	43

2.4.2.2.	Test auf Binominalverteilung	44
2.4.2.3.	Graphische Darstellung	45
3.	ERGEBNISSE	47
3.1.	Patientenkollektiv	47
3.2.	Darstellung extravillöser Trophoblasten im Plazentagewebe.....	48
3.3.	HER-1-Expression.....	50
3.3.1.	Allgemeine Expression von HER-1 im Plazentagewebe.....	50
3.3.2.	Expression von HER-1 in EVT der Kontrollgruppe	51
3.3.3.	Expression von HER-1 im EVT bei HSE.....	53
3.4.	HER-2-Expression.....	56
3.4.1.	Allgemeine Expression von HER-2 im Plazentagewebe.....	56
3.4.2.	Expression von HER-2 in EVT der Kontrollgruppe	57
3.4.3.	Expression von HER-2 in EVT bei HSE.....	61
3.5.	HER-3-Expression.....	63
3.5.1.	Allgemeine Expression von HER-3 im Plazentagewebe.....	63
3.5.2.	Expression von HER-3 in EVT der Kontrollgruppe	65
3.5.3.	Expression von HER-3 im EVT bei HSE.....	67
3.6.	HER-4-Expression.....	69
3.6.1.	Allgemeine Expression von HER-4 im Plazentagewebe.....	69
3.6.2.	Expression von HER-4 in EVT der Kontrollgruppe	72
3.6.3.	Expression von HER-4 in EVT bei HSE.....	74
4.	DISKUSSION	77
4.1.	Der extravillöse Trophoblast (EVT) im Zentrum der Pathogenese der Präeklampsie	77
4.2.	HER-1-Expression in EVT	80
4.2.1.	Die Expression von HER-1 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen	80
4.2.2.	Die Expression von HER-1 in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (HSE).....	82
4.3.	HER-2-Expression in EVT	84
4.3.1.	Die Expression von HER-2 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen	84
4.3.2.	Die HER-2-Membranexpression in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen (HSE).....	86

4.3.3. Die zytosolische HER-2-Expression in EVT im Vergleich zu hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen	89
4.4. HER-3-Expression in EVT	94
4.4.1. Die Expression von HER-3 im EVT ausgereifter Plazenten gesunder Frauen und in HSE-Plazenten.....	94
4.5. HER-4-Expression in EVT	100
4.5.1. Die Expression von HER-4 in EVT in ausgereiften Plazenten gesunder Frauen und in Plazenten mit HSE.....	100
4.6. Methodenkritik	105
5. ZUSAMMENFASSUNG	107
6. LITERATURVERZEICHNIS	111

Abstract

The expression of the EGF receptor family in extravillous trophoblasts: a comparison of normal human placentae and those of women with pregnancy induced hypertension

Pregnancy induced hypertension (PIH) is a significant problem in maternal medicine. According to recent publications, insufficient invasion of extravillous trophoblasts into the myometrial parts of the spiral arteries may be responsible for this.

The vessel inadequately adapts to the increased perfusion uterus need during pregnancy and consequently, multiple vasodilatory mediators are released. This results in the clinical picture of endothelial dysfunction with hypertension, proteinuria and oedema.

The reason of this inadequate invasion of trophoblasts is unknown.

In order to identify the causative factors, we hypothesise that the trophoblasts invasion at the beginning of pregnancy is comparable with the growth of malignant tumours. The invasion of extravillous trophoblasts shows a breach of basal membranes and invasive growth. Therefore, growth factors and their receptors, in particular those of the EGF family could play a central role. They have already been researched extensively in relation to malignant tumours.

In this project, the expression of all 4 EGF receptors were demonstrated in the extravillous trophoblasts, using immunohistochemistry. In particular, a possible connection between the patterns of EGF receptors expression at the extravillous trophoblasts and PIH was investigated. For this, 75 placentae of patients with uncomplicated pregnancies were compared with 43 placentae of patients with PIH were compared in a retrospective case control study. The evaluation of the staining results was conducted using a immuno-reactive score, which was specifically

formulated for this study. The scores were linked with the clinical data using SPSS statistics program, cross-classified table and χ^2 -test.

In summary, all 4 EGF receptors were expressed in extravillous trophoblasts. The expression of HER-1 is very weak and mainly located on the cellmembrane. The expression of HER-2 is both based on the cellmembrane and in the cytoplasm. The expression of HER-3 is solely in the cytoplasm. HER-4 is the only receptor which was found in the cytoplasm as well as in the nuclear region, which generally was marked strong.

The pattern of expression of EGF receptors in patients with PIH is different to those of uncomplicated pregnancies. The examined samples of patients with PIH showed a reduced expression of membranous HER1 and HER2 and an increase in expression of HER2, HER-3 and HER-4 in the cytoplasm. A change in expression of the EGF receptor in the extravillous trophoblasts may lead to the development of this highly relevant morbidity. Larger prospective studies will have to follow in order to demonstrate statistical significance of these only partially significant results.

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

Danksagung

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei meinem Doktorvater Professor. Dr. med. Dr. phil. Andreas Ebert für die Überlassung des Themas und die fachkundliche Beratung bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Insbesondere danke ich ihm für seine zahlreichen ermutigenden und aufmunternden Worte, besonders wenn es schwierig war.

Weiter möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Heinz Pickartz herzlichst danken für die fachliche und großzügige Unterstützung in seinem Institut bei der Anfertigung der Schnitte als auch für die fachliche Unterstützung bei der Bearbeitung der Aufgabenstellung.

Ebenso danke ich meiner Familie und meinem Partner für die seelische und tatkräftige Unterstützung in den vielen zähen Zeiten.

Eidesstattliche Erklärung

Ich, Diane Kappelmayer, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Die Expression der EGF-Rezeptor-Familie (HER-1, HER-2, HER-3, HER-4) im extravillösen Trophoblasten im Vergleich zwischen normalen humanen Plazenten und Plazenten von Frauen mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

04.09.07

Datum

Diane Kappelmayer

Unterschrift