

2 Grundlagen

2.1 Zytokine

Der Begriff „Zytokine“ ist eine Sammelbezeichnung für eine Gruppe von strukturell und funktionell unterschiedlichen löslichen Proteinen und Peptiden. Es sind hormonähnliche Signalstoffe, von denen bisher mehr als 15 verschiedene Gruppen bekannt sind. Sie spielen als endogener Mediator bei vielen biologischen Prozessen eine Rolle, insbesondere bei der Immunmodulation und –regulation, der Inflammation und der Hämatopoese. Zytokine werden je nach Herkunft Interleukine, Monokine oder Lymphokine genannt. Sie sind an Prozessen der Zellaktivierung, -differenzierung, -proliferation und Zell-Zell-Interaktion beteiligt und beeinflussen sich gegenseitig in einem Netzwerk aus Inhibition und Induktion. Zytokine wirken autokrin, parakrin und endokrin.

Die Expression der Zytokine ist streng reguliert, das heißt die Faktoren werden hauptsächlich bei Bedarf als Reaktion auf physiologische Stimuli synthetisiert. Einige Zytokine wirken dabei autoregulatorisch auf ihre eigene Produktion, sie können die Produktion entsprechender Rezeptoren oder die Produktion anderer Zytokine modulieren (Ibelgauf, 1992).

2.1.1 Interleukin-6

IL-6 ist ein pleiotrop wirksames Zytokin. Es kann somit verschiedene Effekte an unterschiedlichen Zielzellen gleichzeitig hervorrufen. IL-6 ist ein zwischen 21,5 Kilo-Dalton (kDa) und 28 kDa schweres und aus 184 Aminosäuren aufgebautes glycosyliertes Protein. Der Genlocus ist auf Chromosom 7p21-p14 lokalisiert. Der IL-6-Rezeptor wird von aktivierten B-Zellen, peripheren Monozyten, Fibroblasten, Endothelzellen, Mastzellen, Gliazellen, Keratinozyten und einigen Tumorzellen exprimiert, die sich von Makrophagen und B-Zellen ableiten (Ibelgauf, 1992). IL-6 wird bei der antigenspezifischen Immunantwort, inflammatorischen Reaktionen und Gewebeverletzungen gebildet (Mitchell et al., 1991a; Kishimoto et al., 1995). Intrauterin wird IL-6 vor allem von placentaren Endothelzellen produziert (Steinborn et al., 1998).

Die wichtigsten Funktionen von IL-6 sind:

- Induktion der Akute-Phase-Proteine in den Hepatozyten
- Wachstum und Differenzierung von B-Lymphozyten
- Aktivierung von unreifen T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen
- Angiogenesefaktor
- Freisetzung von humanem Choriongonadotropin (HCG) aus Trophoblasten

Die physiologischen Stimuli zur IL-6-Freisetzung aus den Monozyten können IL-1, TNF α , bakterielle Endotoxine und platelet derived growth factor (PDGF) sein. In Fibroblasten erfolgt die Freisetzung nach Stimulation mit TNF α , Interferon- β , PDGF und Virusinfektionen. IL-6 wirkt ebenso wie IL-1 und TNF α durch das aus dem Hypothalamus kommende Releasing-Hormon (CRH) über Adenocorticotropin ACTH auf die Glucocorticoidsynthese.

IL-6 wird intrauterin von der fetomaternalen Einheit produziert. Ein Großteil dieses Zytokins scheint seinen Ursprung in der Eihaut zu haben, denn diese ist zur IL-6-Produktion in der Lage. Die Freisetzung erfolgt zum Beispiel nach einer Stimulation mit Lipopolysacchariden, einem Bestandteil der Zellwand gramnegativer Bakterien (May et al., 1988; Romero et al., 1990; Fortunato et al., 1996).

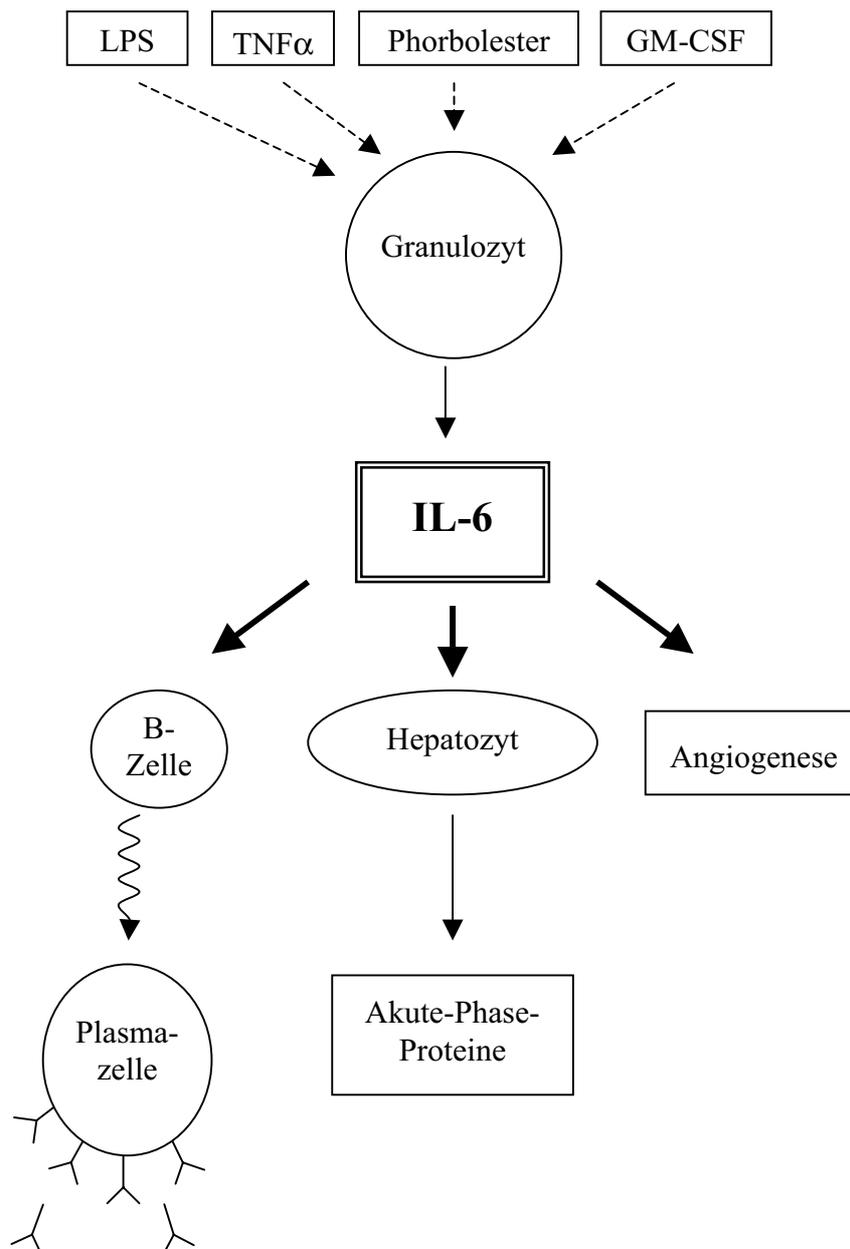


Abbildung 1: Funktionsweise von IL-6

Die Induktion von IL-6 wirkt zum einen auf die B-Zell-Differenzierung und Antikörperproduktion der Plasmazellen und zum anderen auf die Ausschüttung von Akute-Phase-Proteine durch Hepatozyten. Beides führt zur schnelleren Überwindung der Entzündung. Zusätzlich hat IL-6 eine aktivierende Wirkung auf die Angiogenese, (Darstellung: dünne Pfeile: Ausschüttung, dicke Pfeile: Aktivierung, gestrichelte Pfeile: Stimulierung, geschlängelter Pfeil: Differenzierung) LPS: Lipopolysaccharid, GM-CSF: Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor (Kirchner et al., 1993).

2.1.2 Interleukin-8

IL-8 ist ein ca. 8 kDa schweres und 72 Aminosäuren langes glycosyliertes Protein. Seine Genstruktur wurde auf Chromosom 4q12-21 gefunden. Es wird vor allem von aktivierten Makrophagen in Reaktion auf bakterielle Produkte gebildet. Aber auch andere Zelltypen wie Monozyten, Fibroblasten, Endothelzellen, Hepatozyten, Chondrozyten und einige Tumorzellen sind in der Lage, IL-8 zu produzieren (Ibelgauf, 1992). In vitro kann IL-8 von fetalen Membranen produziert werden (Fortunato et al., 1996). TNF α und IL-1 wirken stimulierend, Glucocorticoide und TGF- β hingegen inhibierend auf die Synthese. IL-8 wirkt in Kombination mit CD4⁺T-Zellen chemotaktisch auf Granulozyten. Die kombinierte Wirkung von IL-8 mit IL-3 an neutrophilen und basophilen Granulozyten kann wiederum zur Freisetzung von Histaminen und Leukotrienen führen. IL-8 hat keinen direkten Effekt auf die Prostaglandinsynthese, potenziert aber den stimulierenden Effekt von IL-6 und spielt somit eine Rolle in der Auslösung der Wehentätigkeit.

In der fetoplazentaren Einheit wird IL-8 von Granulozyten, Makrophagen und hämatopoetischen Zellen (in der Leber des Fötus) gebildet. (Stallmach et al., 1995). Im Fruchtwasser stammt es hauptsächlich von choriodezidualen Zellen und vom Fötus selbst (Shimoya et al., 1992). IL-8 induziert per Chemotaxis die Migration von neutrophilen Granulozyten, um gegen eingewanderte Bakterien zu wirken. Damit nimmt es eine zentrale Stellung ein bei der Regulation der Migration inflammatorischer Zellen in Infektionsherden. Außerdem spielt IL-8 eine Rolle bei der Zervixreifung (Mitchell et al., 1991a; Husslein and Egarter, 1994). Bei einer Chorioamnionitis oder einem Amnioninfektionssyndrom ist IL-8 im Fruchtwasser erhöht (Greig et al., 1993; Puchner et al., 1993; Steinborn et al., 1994). Der IL-8-Rezeptor (Typ I und II) zeigt eine physiologisch erhöhte Expression bei Wehentätigkeit (el Maradny et al., 1996).

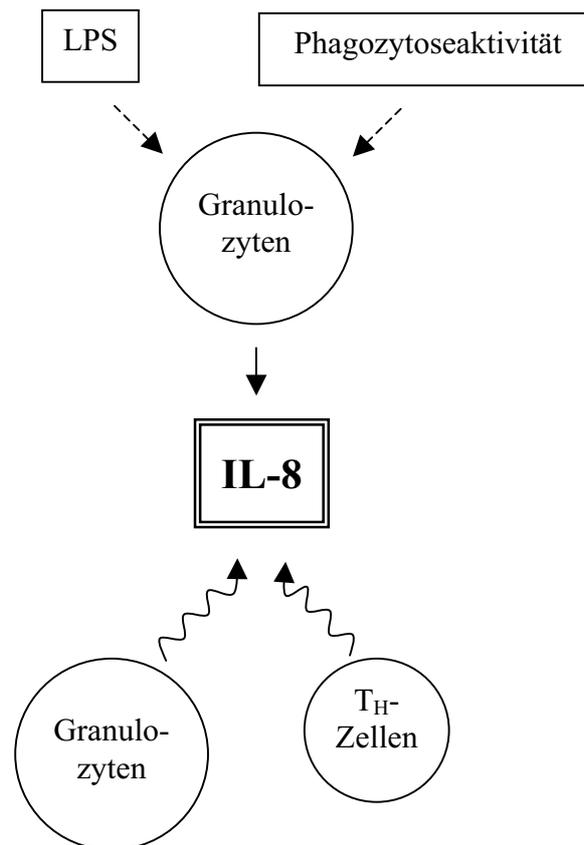


Abbildung 2: Funktionsweise von IL-8

Einige Erreger, wie gramnegative Bakterien, induzieren die Bildung und Ausschüttung von IL-8 in Granulozyten direkt über Lipopolysaccharide (LPS), Membranbestandteile der Zellwand, andere induzieren es indirekt über Phagozytose. IL-8 wirkt chemotaktisch auf Granulozyten und einige T-Zellen, (Darstellung: gestrichelte Pfeile: Stimulierung, gerade Pfeile: Ausschüttung, geschlängelte Pfeile: Anlockung) (Kirchner et al., 1993).

2.1.3 Tumor-Nekrose-Faktor α

TNF α ist ein 17 kDa schweres und 157 Aminosäuren langes, nicht glycosyliertes Protein. Seine Genstruktur ist auf Chromosom 6p23-6q12 lokalisiert. TNF α -Rezeptoren sind an allen somatischen Zellen exprimiert, mit Ausnahme der Erythrozyten. Es kann von Lymphozyten, Mastzellen, Astrozyten, glatten Muskelzellen, Fibroblasten und stimulierten neutrophilen Granulozyten gebildet werden. Das Zytokin kann Einfluss auf eine große Breite an physiologischen Vorgängen nehmen. Unter anderem wirkt TNF α auf:

- Die Regulation der Immunantwort
- Die Induktion der Akute-Phase-Reaktion und hat Einfluss auf den Protein- und Lipidstoffwechsel
- Modulation von Zellwachstum und -differenzierung
- Steuerung von Gerinnung und Angiogenese

TNF α induziert die Synthese von IL-6 und hemmt über negatives Feedback die eigene Synthese. Es wirkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und erhöht deren Fähigkeit zur Adhärenz (Ibelgauts, 1992; Kirchner et al., 1993). Genauso wie IL-6 und IL-1 stimuliert auch TNF α über CRH und ACTH die Glukokortikoidsynthese und stimuliert den Arachidonsäurestoffwechsel zur Prostaglandinproduktion E2. All diese Faktoren spielen eine wichtige Rolle bei der Auslösung der Geburt. Es wird vermutet, dass der TNF α -Anstieg im Fruchtwasser einen physiologischen Anteil des TNF α an der Entwicklung der normalen Wehentätigkeit widerspiegelt (Gomez et al., 1997). In der uteroplazentaren Einheit wird es von Makrophagen, Trophoblasten, Zellen des Amnionepithels und von Deziduazellen gebildet (Gauldie et al., 1987; Casey et al., 1989; Stallmach et al., 1995). Im Tierversuch kann die systemische oder intrauterine Administration von TNF α vorzeitige Wehentätigkeit und Frühgeburt auslösen (Romero et al., 1989b). Es konnte gezeigt werden, dass von den inflammatorischen Zytokinen nur TNF α in der Lage ist, Matrix-Metalloproteinasen-9 (MMP-9) aus den fetalen Geweben freizusetzen. Als Kollagenasen können MMPs maternales Gewebe angreifen und somit eine Frühgeburt und Blasensprung auslösen (Foulon et al., 1995; Menon et al., 2002)

2.1.4 Lipopolysaccharid-bindendes Protein

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) ist ein 58 kDa schweres glykosyliertes Protein. LBP gehört in die Gruppe der lipid-bindenden Proteine (Ibelgaufts, 1992). Es ist ein Akute-Phase-Protein und ein hilfreicher Marker für den Nachweis einer Störung der Homöostase innerhalb des Organismus. Vor allem Hepatozyten synthetisieren LBP, dem wichtigstem Mediator bei der Wirtsantwort auf eine Infektion mit gramnegativen Bakterien. Endotoxine sind Bestandteile der Mureinwand von gramnegativen Bakterien. Es sind hochmolekulare und thermolabile Lipopolysaccharide (LPS). Sie determinieren die Virulenz des Erregers und haben eine pyrogene und immunogene Wirkung. Nach Antibiotikatherapie einer Infektion mit gramnegativen Bakterien kann es durch Zerfall der Bakterienbestandteile zum „Endotoxin-Schock“ kommen, der auch als „Herxheimer Reaktion“ bekannt ist.

LBP bindet Lipopolysaccharide und bildet einen LBP-LPS-Komplex. Dieser Komplex kann die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen und somit die Immunantwort auf den Erreger induzieren (Laham et al., 1996; Schumann and Zweigner, 1999). Bindet LBP einen Komplex mit löslichem CD14 (sCD14), einem phosphatidylinositol-haltigen Glycoprotein, kann die Immunantwort bereits bei einer 1000fach geringeren LPS-Konzentration induziert werden (Gardella et al., 2001; Espinoza et al., 2002).

2.2 Frühgeburt

2.2.1 Definition

Die aktuelle Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) legt fest, dass ein Kind, das zwischen der 25+0 und 36+6 Schwangerschaftswoche post menstruationem (p.m.) geboren wird, mehr als 500 Gramm wiegt und Lebenszeichen, wie Herzschlag, Atmung oder Nabelschnurpulsationen zeigt, eine Frühgeburt ist. Bei Kindern, die zwischen der 37+0 und 42+0 Schwangerschaftswoche pm. geboren werden, spricht man von reif geborenen Kindern. 1972 empfahl die WHO Neugeborene entweder nach ihrem Geburtsgewicht (low birth weight \leq 2500g) oder nach dem Gestationsalter (vorzeitig \leq vollendete 37 SSW) zu beurteilen (Arias, 1994)

2.2.2 Hauptsymptome

Die Hauptsymptome der Frühgeburt sind zum einen die Zervixinsuffizienz mit einem meist nach der 12. Schwangerschaftswoche auftretenden, klaffenden, äußeren Muttermund und erweiterten Zervikalkanal mit tast- bzw. sichtbarer Fruchtblase; sie kann Ursache von Spätaborten und Frühgeburten ohne Einsetzen der Wehentätigkeit sein (Diedrich et al., 2000). Zum anderen kann der vorzeitige Blasensprung mit Abgang von Fruchtwasser durch Beschädigung der Fruchtblase ohne Einsetzen der Wehentätigkeit vor 36+6 Schwangerschaftswochen Ursache der drohenden Frühgeburt sein (Diedrich et al., 2000), aber auch die vorzeitigen Wehen mit uterine Kontraktionen (mindestens 3 in 30 Minuten) und Zervixverkürzung zwischen 20 SSW und der 36+6 SSW (Romero et al., 1994b) können in eine Frühgeburt münden.

2.2.3 Ursachen

Unterschiedliche pathologische Prozesse können Auslöser der Frühgeburt sein. Dazu zählen Infektionen an Chorion, Amnion oder Dezidua, Störungen der Plazentation (hypoxisch-ischämisch, Abruption placenta), pathologische Dehnungszustände am Uterus (Mehrlingsschwangerschaften, Polyhydramnion) oder primäre Fehlbildungen des Feten oder des Uterus (Romero et al., 1994b; Nathanielsz, 1998; Dijkstra et al., 1999; Lockwood and Kuczynski, 1999; Norwitz et al., 1999; Park et al., 2001).

Jede einzelne dieser Störungen kann zu vorzeitigen Wehen oder vorzeitigem Blasensprung führen und sie enden in der gemeinsamen Endstrecke der Aktivierung der maternalen, fetalen Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse. Im Hypothalamus kommt es zu einer vermehrten Synthese von Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH), welches über die Hypophyse erneut einen stimulierenden Effekt auf die Adenocorticotropin-(ACTH) Synthese hat. Diese wirkt auf die fetalen Nebennieren und es kommt zum Anstieg der Produktion von Cortisol und Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS). DHEAS wird in der Plazenta zu Östrogen metabolisiert und kann Einfluss auf die myometrane Aktivierung nehmen. Das gebildete Kortison hat zusätzlich einen aktivierenden Effekt auf die Cyclooxygenase-2 (COX-2) und somit auf die Produktion der wehenauslösenden Prostaglandine. Inflammatorische Zytokine können ihre weheninduzierende Wirkung zum einen direkt über die vermehrte Prostaglandinsynthese durch die Stimulation der COX-2 ausüben; zum anderen indirekt über die Anregung der CRH-Synthese

in Trophoblasten im Sinne einer parakrinen Wirkung (Lockwood, 1994; Petraglia et al., 1996; Hack and Fanaroff, 1999).

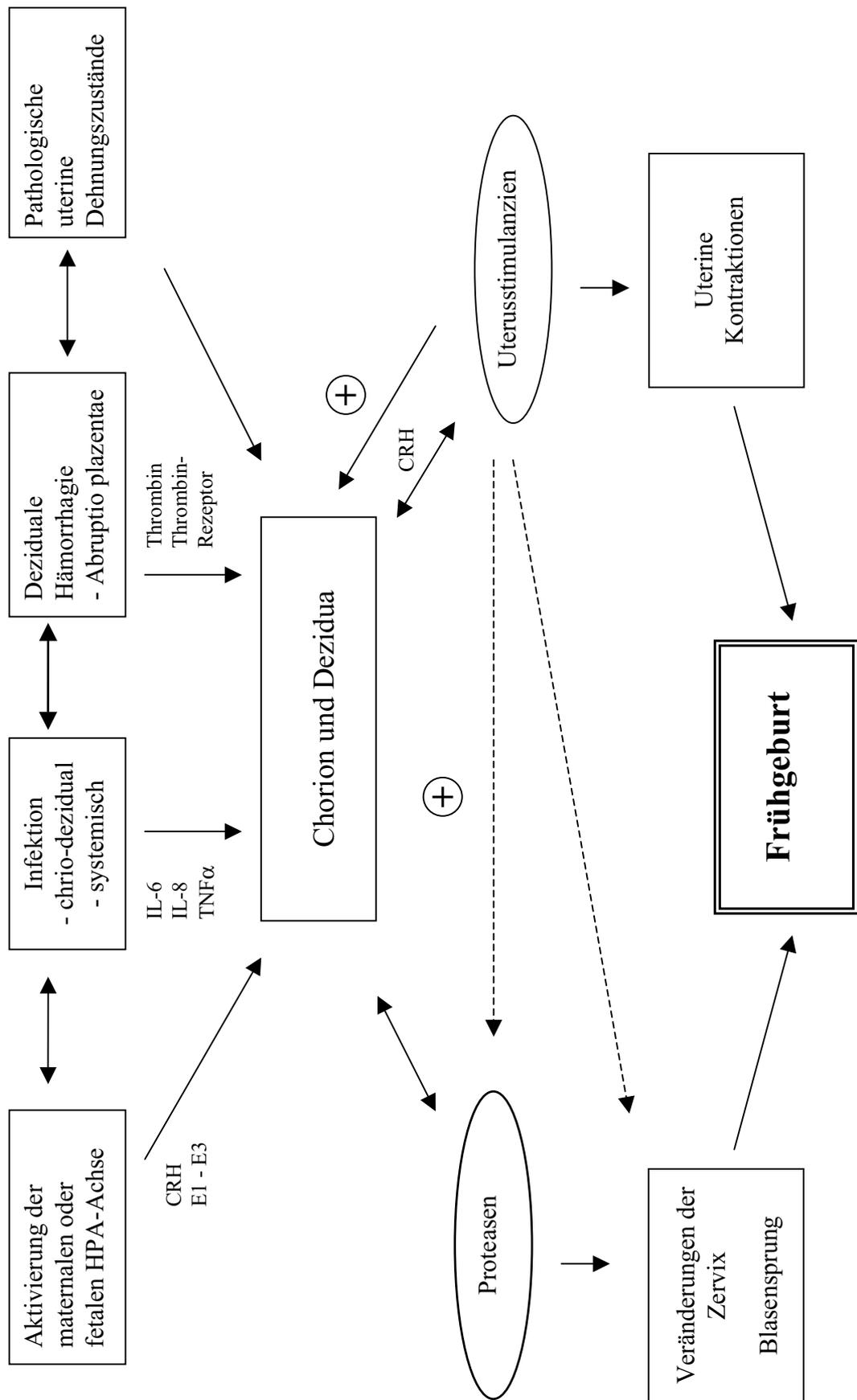


Abbildung 3: Unterschiedliche Ursachen, die in der Auslösung einer Frühgeburt münden können und deren endokrine Interaktionen (Lockwood and Kuczynski, 1999)

Es hat sich in den letzten 20 Jahren gezeigt, dass die Hauptursache von Frühgeburten die Inflammation und Infektion des feto-maternalen Kompartiments ist (Romero et al., 1994b; Goncalves et al., 2002; Romero et al., 2002b). Diese Infektion kann durch verschiedene Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Mycoplasmen) ausgelöst werden und über folgende Wege in die Fruchthöhle und zum Fötus gelangen (Romero et al., 1994b; Goldenberg et al., 2000; Goncalves et al., 2002):

- ascendierend über Vagina und Zervix: während einer aufsteigenden genitalen Infektion (bakterielle Vaginose), die häufig mit einer vaginalen Milieustörung beginnt und lange asymptomatisch verlaufen kann
- hämatogen (transplazentare Infektion) bei Grunderkrankung der Mutter (Malaria, Typhus, Pyelonephritis)
- retrograd über die Peritonealhöhle und Adnexe
- bei invasiven Eingriffen wie Amniozentese, Chorionzottenbiopsie oder Chordozentese.

Durch die ascendierenden Bakterien werden inflammatorische Zytokine (IL-6, IL-8) von Chorion und Amnion freigesetzt und darauf folgend die Synthese und Freisetzung von Prostaglandinen (Prostaglandin E₂). Diese haben einen tonisierenden und kontrahierenden Effekt auf das Myometrium und wirken zusätzlich stimulierend auf die Oxytozinfreisetzung. Dadurch kommt es zu einer Verstärkung der Wehentätigkeit (Romero et al., 1988b; Mitchell et al., 1991b). Neben dem drohenden vorzeitigen Blasensprung, der vorzeitiger Wehentätigkeit und der drohenden Frühgeburt ist nun das Ungeborene durch seine Unreife und zusätzlich die Infektion selbst bedroht (Mazor et al., 1998).

Die durch aufsteigende Keime ausgelöste intrauterine Infektion ist nach Ansicht der Arbeitsgruppe um Romero der häufigste Infektionsweg. Sie nimmt an, dass bei 40% der Frauen mit einer Frühgeburt diese Art der Infektion vorliegt, die lange unerkannt bleibt und häufig erst zu einem späteren Zeitpunkt symptomatisch wird. Folgende Beobachtungen weisen darauf hin, dass vorzeitiger Blasensprung bzw. Frühgeburt durch eine intrauterine Infektion verursacht wird:

- Das histologische Bild einer intrauterinen Infektion an den Eihäuten ist die Chorioamnionitis. Diese tritt häufiger und schwerer auf an Stellen, deren Funktionslosigkeit zum Blasensprung führen kann.

- In den meisten Fällen der kongenitalen Pneumonie konnte eine Entzündung des Amnions nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass bei kongenitalen Infektionen die Erreger dem maternalen unteren Genitaltrakt ähneln.
- Bei Geminigraviditäten zeigte sich die Chorioamnionitis vor allem im Bereich des inneren Muttermundes.

Romero et al. (Romero and Mazor, 1988) unterteilten die ascendierende Infektion in vier Phasen:

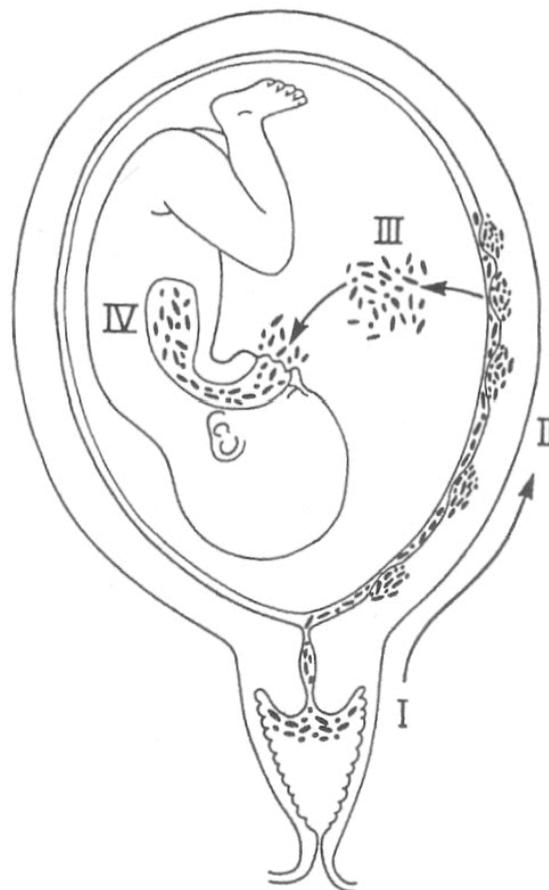


Abbildung 4: Wege der ascendierenden intrauterinen Infektion, römische Zahlen entsprechen den Phasen (I bis IV) im Text (Romero et al., 1994b; Goncalves et al., 2002)

Phase I: Durch die Anwesenheit fakultativ pathogener Keime (z.B. *Neisseria gonorrhoeae*) kommt es zu einer Milieuänderung der Zervix und/oder der Vagina. Die bakterielle Vaginose kann eine Erstmanifestation der Phase eins sein.

Phase II: Haben Mikroorganismen Zugang ins Cavum uteri gefunden, folgt die Infektion der Dezidua (Deziduitis).

Phase III: Kommt es bei lokaler Deziduitis/Chorionitis zur weiteren Ausbreitung der Erreger und zur Besiedelung fetaler Gefäße, liegt eine Choriovaskulitis vor. Einer Amnionitis liegt eine intraamniale Infektion zu Grunde.

Phase IV: Die Infektion des Feten stellt die letzte Phase der ascendierenden Infektion dar. Kongenitale Pneumonien können durch Aspiration des Fruchtwassers entstehen, Otitiden, Konjunktividen und Omphalitiden durch Kontakt mit im Fruchtwasser vorhandenen Mikroorganismen. Gelangen die Erreger in die fetale Blutbahn, liegt eine Sepsis vor. Bei diesen Neugeborenen schwankt die Mortalitätsrate je nach Gestationsalter zwischen 25% und 90% (Placzek et al., 1983; Placzek and Whitelaw, 1983; Whitelaw et al., 1983; Ohlsson and Vearncombe, 1987; Gerdes, 1991).